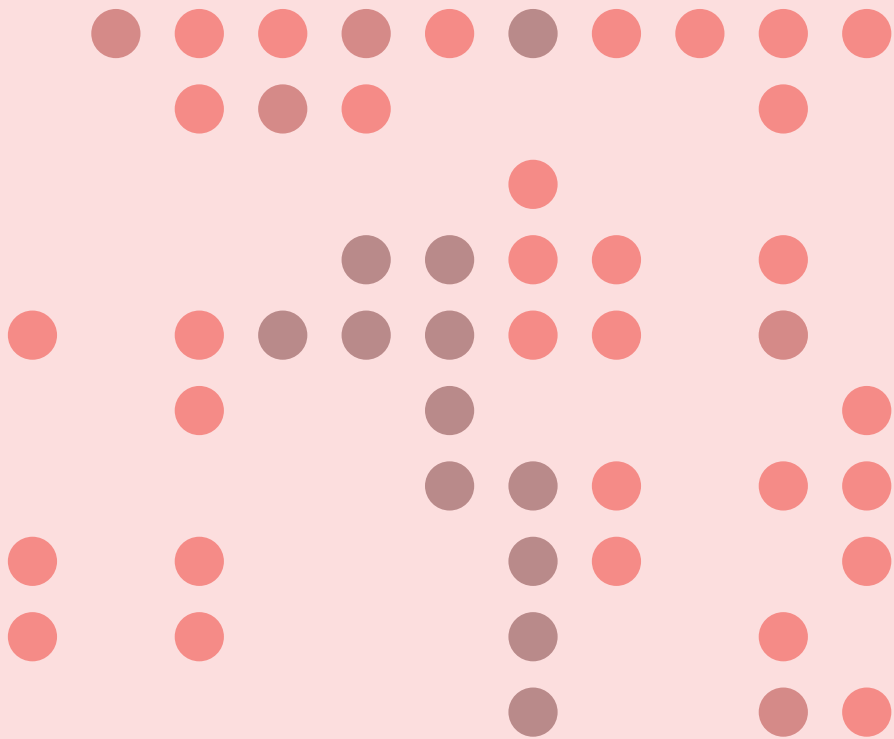


GUÍA DE CONSENSO DE LA HEMATOPOYESIS CLONAL DE POTENCIAL INDETERMINADO **GESMD**

I Edición - Enero de 2022



GRUPO ESPAÑOL DE
SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS



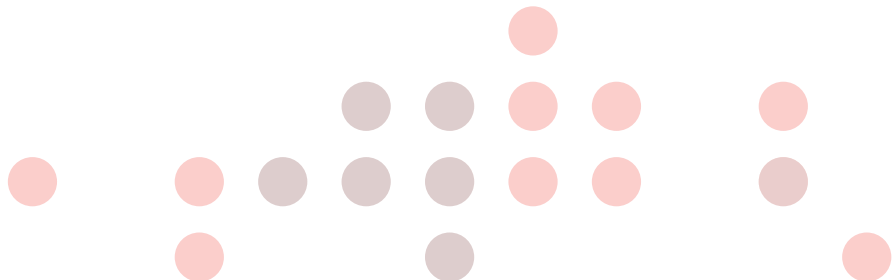
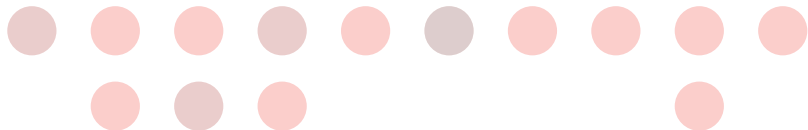
GUÍA DE CONSENSO DE LA HEMATOPOYESIS CLONAL DE POTENCIAL INDETERMINADO

GESMD

I Edición - Enero de 2022



GRUPO ESPAÑOL DE
SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS



Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Declaración de limitación de responsabilidad

Aunque creemos que la información y recomendaciones de esta Guía reflejan de forma veraz la evidencia científica actual, ni los autores del documento, ni el GESMD, ni la SEHH, ni la editorial aceptan ninguna responsabilidad legal por el contenido de estas directrices.

Financiación

El presente trabajo ha sido realizado bajo el amparo del GESMD y financiado por la 4ª beca del GESMD 2020.

Los siguientes autores son investigadores de proyectos financiados:

- María Hernández-Sánchez: CD19/00222
- Sara Borrell: ISCIII y Fondo Social Europeo (FSE)
- Andrés Jerez: PI19/00374 del ISCIII y Fondos FEDER
- Antonieta Molero: PI20/00881 del ISCIII
- María Julia Montoro: PI20/00881 del ISCIII
- Josep Nomdedeu: PI 20/00867 del ISCIII; 2017 SGR 999 AGAUR de la Generalitat de Catalunya
- Laura Palomo: PI20/00531 del ISCIII; ERA-NET TRANSCAN-2 (AECC AC 18/000002; ISCIII)
- Francesc Solé: 2017 SGR 288 GRC, PI20/00531 del ISCIII; ERA-NET TRANSCAN-2 (AECC AC 18/000002; ISCIII)
- Bárbara Tazón: PI20/00881 del ISCIII
- Mónica del Rey: Beca de Investigación de la Fundación Española de Hematología y Hemoterapia
- Sofía Toribio: EDU/601/2020 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo
- Marta Martín-Izquierdo: JCYL-EDU/556/2019
- Leonor Arenillas: PI19/00005 del ISCIII
- Ana Alfonso: Contratos Juan Rodés JR19/00011

Coordinadores generales

- María Julia Montoro. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona
- Andrés Jerez. Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia

Coordinadores de cada capítulo

Presentación y objetivos

- María Julia Montoro. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona
- Andrés Jerez. Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia

Introducción y definición

- Ana Alfonso. Clínica Universidad de Navarra, Pamplona
- Mónica del Rey. Centro de Investigación del Cáncer. Hospital Universitario de Salamanca

Diagnóstico

- Laura Palomo. Vall d'Herbon Institute of Oncology, Barcelona
- Bárbara Tazón. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona
- Josep Nomdedéu. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Implicaciones clínicas y pronósticas

- Francisca Hernández. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada
- Fernando Ramos. Complejo Asistencial Universitario de León

Pruebas diagnósticas complementarias

- Teresa Arquero. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- María Leonor Senent. Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia

Recomendaciones para el seguimiento clínico de los individuos con Chip

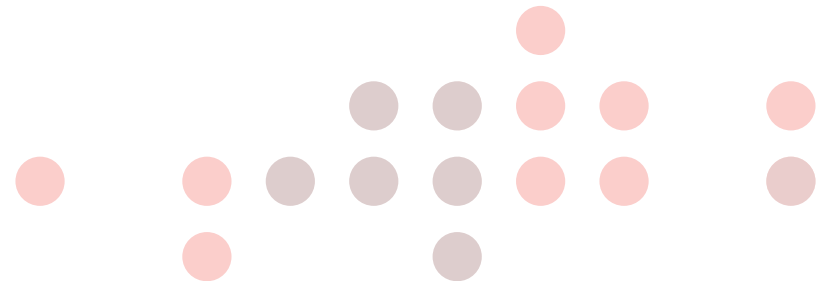
- Francisca Hernández. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada
- Fernando Ramos. Complejo Asistencial Universitario de León

Síndrome de Vexas

- María Julia Montoro. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona
- Andrés Jerez. Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia

Informe diagnóstico

- María Julia Montoro. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona
- Andrés Jerez. Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia
- Francesc Solé. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras, Badalona



1. Abreviaturas	13	• Bases de datos	61
2. Metodología	17	• Otros tipos de bases de datos	64
3. Presentación y objetivos	21	• Algoritmos de predicción	65
4. Introducción y definición	25	• Algoritmos de categorización de variantes	66
• Contexto histórico	26	• Algoritmo de la AMP/ACMG	67
• ¿Es la HC un proceso fisiológico o patológico?	27	• Algoritmo del GESMD	68
• Definición de CHIP y distinción con otras entidades relacionadas	28	• Páginas web o programas de recopilación de información	69
5. Diagnóstico	35	6. Implicaciones clínicas y pronósticas	77
• Introducción y genes descritos en individuos con CHIP	36	• CHIP y enfermedad hematológica	78
• Reguladores epigenéticos	40	• Definición de individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar neoplasias hematológicas	80
• Factores de splicing	43	• CHIP y enfermedad cardiovascular	81
• Genes de reparación del daño en el ADN	44	• Definición de individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular	87
• Genes implicados en vías de señalización	46	• CHIP debido a variación en el número de copias (CNV)	87
• Componentes del complejo de la cohesina	47	7. Pruebas diagnósticas complementarias	95
• Muestra de estudio	48	• Estudios iniciales ante el hallazgo de una hematopoyesis clonal	96
• Métodos de preparación de la muestra	48	• Estudios complementarios tras la confirmación de una CHIP	98
• Estudio de chip mediante un panel de NGS	49	8. Recomendaciones para el seguimiento clínico de los individuos con CHIP	103
• Plataformas y preparación de librerías	51	• Seguimiento de los individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar neoplasias hematológicas.	104
• Profundidad de cobertura, sensibilidad y VAF	54	• Seguimiento de los individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular.	105
• Otras metodologías	55		
• Metodologías en el ámbito asistencial	55		
• Metodologías en el ámbito de investigación	58		
• Interpretación de variantes	60		

- ¿Se debe hacer screening de CHIP? 105

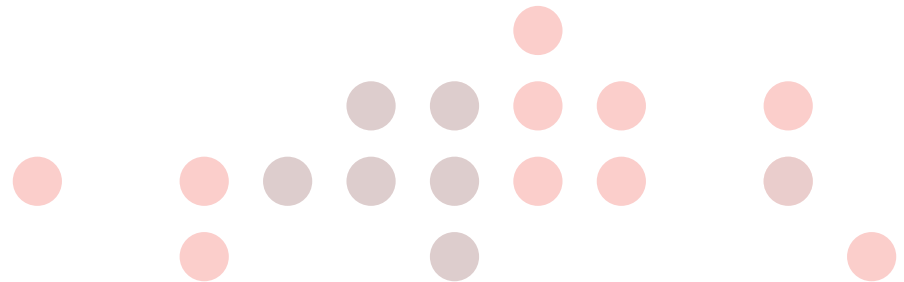
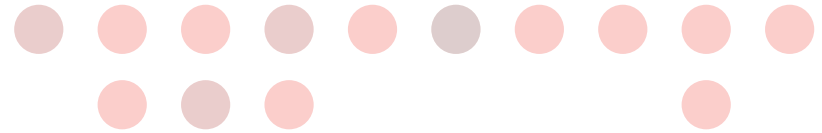
9. Síndrome de Vexas 111

10. Informe diagnóstico 115

- Modelo de informe diagnóstico 115

11. Registro 123

- Cuaderno de recogida de datos (CRD) 124
 - Consentimiento informado (CI) 127
-



Abreviaturas

ARCH: (*Age-related Clonal Hematopoiesis*): Hematopoyesis clonal relacionada con la edad

CCUS: (*Clonal Cytopenia of Unknown Significance*): Citopenia clonal de significado incierto

CHIP: (*Clonal Hematopoyesis of Indeterminate Potential*): Hematopoyesis clonal de potencial indeterminado

CNV: (*Copy Number Variation*): Variación en el número de copias

CV: Cardiovascular

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ddPCR: Droplet Digital PCR

dPCR: PCR Digital

ECV: Enfermedad Cardiovascular

EICR: Enfermedad Injerto Contra Receptor

CV: Cardiovascular

FDA: *Food and Drug Administration*

GESMD: Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos

HR: (*Hazard ratio*): Razón de riesgos

HC: Hematopoyesis Clonal

HTA: Hipertensión Arterial

IAM: Infarto Agudo de Miocardio

ICUS: (*Idiopathic Cytopenia of Unknown Significance*): Citopenia idiopática de significado incierto

IDUS: (*Idiopathic Dysplasia of Unknown Significance*): Displasia idiopática de significado incierto

IL: Interleuquina

Indels: Alteración genética en la cual se produce una inserción o una delección

LMA: Leucemia Mieloide Aguda

NGS: *Next-Generation Sequencing*

NMP: Neoplasia Mieloproliferativa

NMRT: Neoplasia Mieloide Relacionadas con la Terapia

PCR (*Polymerase Chain Reaction*): Reacción en cadena de la polimerasa

qPCR (*Quantitative Polymerase Chain Reaction*): PCR cuantitativa

ARN (*Ribonucleic Acid*): Ácido ribonucleico

SMD: Síndrome Mielodisplásico

SMD/NMP: Neoplasia Mielodisplásica/Mieloproliferativa

SP: Sangre Periférica

SNV (*Single Nucleotide Variant*): Variante que consiste en el cambio de un solo nucleótido respecto al genoma de referencia

RESMD: Registro Español de Síndromes Mielodiplásicos

TAPH: Trasplante Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos

TPH: Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos

Th: Linfocitos T helper

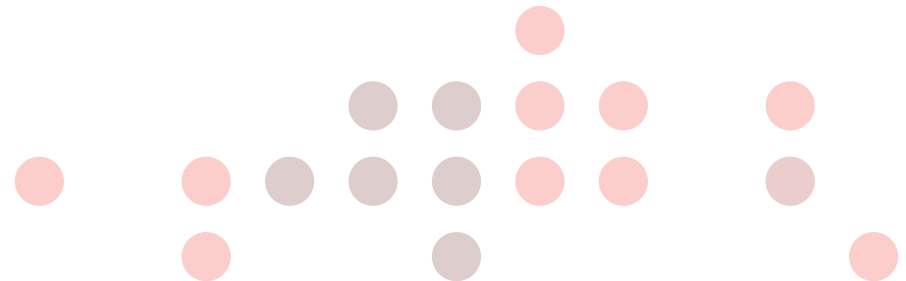
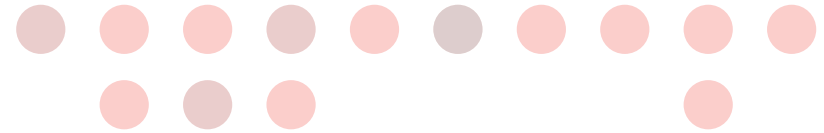
Tregs: Linfocitos T reguladores

VAF (*Variant Allele Frequency*): Frecuencia alélica de la variante

VPP: Valor Predictivo Positivo

WES (*Whole Exome Sequencing*): Secuenciación del exoma

WGS (*Whole Genome Sequencing*): Secuenciación del genoma



Metodología

La redacción de este documento se ha basado en una revisión sistemática de la literatura y se ha empleado el sistema GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation methodology) para graduar la fuerza de las recomendaciones y evaluar la calidad de la evidencia.¹ Se han clasificado las recomendaciones como fuertes (Grado 1) o débiles (Grado 2) y la calidad de la evidencia que apoya la recomendación se ha clasificado en alta (A), moderada (B) y baja (C) (*Tabla 1*). Así pues, una recomendación grado 1A es el máximo nivel de recomendación basado en una evidencia de alta calidad. Debido a la ausencia en estos momentos de estudios que apoyen determinados aspectos de la CHIP, muchas de las recomendaciones de esta Guía se basan en un consenso de expertos.

Este documento representa la primera versión de las recomendaciones españolas para el diagnóstico, seguimiento y manejo de los individuos con una CHIP. La Guía estará disponible en la página web del GESMD y será actualizada regularmente.

Tabla 1. Clasificación de las recomendaciones

Grado de recomendación	Riesgo/beneficio	Calidad de la evidencia	Implicación
1A Recomendación fuerte, alta calidad de la evidencia.	Los beneficios superan claramente los riesgos y viceversa.	Evidencia consistente de ensayos controlados aleatorios bien realizados o evidencia abrumadora de alguna otra forma. Es poco probable que más investigaciones cambien nuestra confianza en la estimación de beneficio y riesgo.	Recomendaciones sólidas que pueden aplicarse a la mayoría de los pacientes en la mayoría de las circunstancias sin reservas. Los médicos deben seguir una recomendación firme a menos que se presente una justificación clara y convincente para un enfoque alternativo.
1B Recomendación fuerte, moderada calidad de la evidencia.	Los beneficios superan claramente los riesgos y viceversa.	Evidencia de ensayos controlados aleatorios con limitaciones importantes (resultados inconsistentes, fallos metodológicos, indirectos o imprecisos), o evidencia muy fuerte de algún otro diseño de investigación. Es probable que la investigación adicional (si se realiza) tenga un impacto en nuestra confianza en la estimación de beneficio y riesgo y puede cambiar la estimación.	Recomendación fuerte y se aplica a la mayoría de los pacientes. Los médicos deben seguir una recomendación firme a menos que se presente una justificación clara y convincente para un enfoque alternativo.
1C Recomendación fuerte, baja calidad de la evidencia.	Los beneficios parecen superar los riesgos y las cargas, o viceversa.	Evidencia procedente de estudios observacionales, experiencia clínica o ensayos randomizados con limitaciones importantes. Cualquier estimación del efecto es incierta.	Recomendación fuerte y se aplica a la mayoría de los pacientes. Sin embargo, parte de la base de pruebas que respalda la recomendación es de baja calidad.

2A Recomendación débil, alta calidad de la evidencia.	Los beneficios son similares a los riesgos.	Evidencia consistente de ensayos controlados aleatorios bien realizados o evidencia abrumadora de alguna otra forma. Es poco probable que la investigación adicional cambie nuestra confianza en la estimación de beneficio y riesgo.	Recomendación débil, la mejor acción puede diferir según las circunstancias o los pacientes o los valores sociales.
2B Recomendación débil, moderada calidad de la evidencia.	Los beneficios son similares a los riesgos, con cierta incertidumbre en las estimaciones de beneficios y riesgos.	Evidencia de ensayos controlados aleatorios con limitaciones importantes (resultados inconsistentes, fallos metodológicos, indirectos o imprecisos), o evidencia muy fuerte de algún otro diseño de investigación. Es probable que la investigación adicional (si se realiza) tenga un impacto en nuestra confianza en la estimación de beneficio y riesgo y puede cambiar la estimación.	Recomendación débil, es probable que enfoques alternativos sean mejores para algunos pacientes en determinadas circunstancias.
2C Recomendación débil, baja calidad de la evidencia.	Incertidumbre en las estimaciones de beneficios y riesgos; los beneficios pueden estar estrechamente equilibrados con los riesgos.		Recomendación muy débil; otras alternativas pueden ser igualmente razonables.

Referencias

1. Grading Guide for recommendations for management of patients.

<https://www.wolterskluwer.com/en/solutions/uptodate/policies-legal/grading-guide>

Presentación y objetivos

Autores: María Julia Montoro, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona;
Andrés Jerez, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia.

El envejecimiento se asocia con la adquisición progresiva de mutaciones en todos los tejidos del organismo, la mayoría de las cuales no presentará ninguna consecuencia funcional.¹ Sin embargo, en ocasiones, la presencia de estas mutaciones o de otras alteraciones genéticas adquiridas puede conferir una ventaja proliferativa a una célula y a toda su progenie dando lugar a un clon. Cuando este fenómeno ocurre a nivel de las células madre hematopoyéticas se denomina hematopoyesis clonal (HC) y se traduce en la presencia de células sanguíneas con la misma alteración en sangre periférica.

La existencia de una HC en individuos sanos ya ha sido descrita en el pasado,^{2,3} pero gracias a la aplicación de las técnicas de secuenciación masiva se ha puesto de manifiesto una frecuencia relevante en la población sana. El impacto en la clínica de la HC viene determinado por el hallazgo, en estudios retrospectivos, de su asociación con un incremento relativo de eventos cardiovasculares, neoplasias hematológicas y mortalidad.⁴⁻⁷ En el 2015, Steensma y colaboradores, con la finalidad de delimitar esta nueva entidad, proponen el término de hematopoyesis clonal de potencial indeterminado o CHIP (de sus siglas en inglés, *Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential*), aplicable a individuos con una HC originada en la pre-

sencia de mutaciones en genes relacionados con neoplasias hematológicas, con una frecuencia alélica de la variante (VAF) $\geq 2\%$ y ausencia de hemopatía maligna. Además, la incorporación del término “potencial indeterminado” refleja, por una parte, la incertidumbre que existe actualmente en cuanto a la repercusión clínica de la CHIP en cada individuo (desde ninguna hasta el desarrollo de una leucemia aguda) y, por otra parte, el desconocimiento en la relación de la CHIP con el resto de sistemas de nuestro organismo (sistema cardiovascular, neurológico o sistema inmune/inflamatorio).⁸

No cabe duda de que el descubrimiento de la CHIP tiene un impacto en numerosos campos: ha permitido un mejor conocimiento de la fisiopatología de los síndromes mielodisplásicos (SMD) y leucemias mieloides agudas (LMA), así como de las enfermedades cardiovasculares, y abre nuevas hipótesis sobre su implicación en la patogenia de enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Todo ello ha permitido que la CHIP se establezca como una nueva entidad precursora y sea objeto de una intensa investigación en varios campos de la Medicina. Sin embargo, existe una falta de estandarización en la definición, la metodología diagnóstica y el seguimiento clínico de los individuos con CHIP.

Os presentamos la **Guía de Consenso de la Hematopoyesis Clonal de Potencial Indeterminado CHIP**, fruto del esfuerzo colaborativo de todos los miembros del grupo de Trabajo de la CHIP del Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos, cuyos objetivos son:

- Presentar una actualización de la información más relevante de la CHIP.
- Ofrecer una herramienta que permita homogeneizar los criterios fundamentales en el diagnóstico y manejo de la CHIP, que resulte en una mejor asistencia a nuestros pacientes y facilite la investigación cooperativa.

Somos conscientes de que la continua mejora de las técnicas diagnósticas y el seguimiento de cohortes más amplias, implica que las definiciones y el manejo sugeridos en este documento sean susceptibles de cambios, así como de la inclusión de nuevos conceptos.

Referencias

1. Blokzijl, F. *et al.* Tissue-specific mutation accumulation in human adult stem cells during life. *Nature* 538, 260–264 (2016).
2. Busque L, Mio R & Mattioli J. Nonrandom X-Inactivation Patterns in Normal Females: Lyonization Ratios Vary With Age. *Blood* 88, 55–65 (1996).
3. Busque, L. *et al.* Recurrent Somatic TET2 Mutations in Normal Elderly Individuals With Clonal Hematopoiesis. *Nat Genet* 44, 1179–1181 (2012).
4. Jaiswal, S. *et al.* Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *New England Journal of Medicine* 371, 2488–2498 (2014).
5. Genovese, G. *et al.* Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. *New England Journal of Medicine* 371, 2477–2487 (2014).
6. Xie, M. *et al.* Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nature Medicine* 20, 1472–1478 (2014).
7. Jaiswal, S. *et al.* Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine* 377, 111–121 (2017).
8. Steensma, D. P. *et al.* Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 126, 9–16 (2015).

Introducción y definición

Autores: Ana Alfonso, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona; Mónica del Rey, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Sofía Toribio, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Marta Martín-Izquierdo, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; María Hernández-Sánchez, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Mar Mallo, Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras, Badalona; Pamela Acha, Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras, Badalona; Laura Palomo, Vall d'Hebron Institute of Oncology, Barcelona; Bernárd López-Andradre, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca; Esperanza Tuset, Institut Català d'Oncologia, Girona; Leonor Arenillas, Hospital del Mar, Barcelona; Ángela Gil, Hospital Universitario de Guadalajara.

Los criterios definitorios de CHIP son:

1. La presencia de al menos una mutación somática detectable en sangre periférica en un gen mutado en las neoplasias hematológicas.
2. Una frecuencia alélica de la mutación (VAF) $\geq 2\%$.
3. La ausencia de una neoplasia hematológica u otro desorden clonal hematopoyético.

Contexto histórico

En 1996, Busque y colaboradores, describieron por primera vez que la HC podía ocurrir con el envejecimiento y en ausencia de enfermedad.¹ Posteriormente, en el año 2012, otros investigadores analizaron datos de *arrays* genómicos de más de 50.000 individuos y encontraron que la frecuencia del mosaicismo cromosómico adquirido en sangre periférica era bajo (< 0,5%) en personas menores de 50 años pero aumentaba de manera significativa (2-3%) después de esa edad.² Ese mismo año, el grupo de Busque, identificó mutaciones en TET2 en un ≈ 5% de mujeres mayores de 65 años.³ Esta fue la primera demostración de la presencia de una mutación responsable de una HC en personas sanas. Dos años más tarde, se publicó el genoma completo de una mujer de 115 años y se identificaron 450 mutaciones somáticas en sus células sanguíneas que, probablemente, se habían ido acumulando a lo largo de su vida. Esta anciana nunca llegó a desarrollar ningún trastorno hematopoyético maligno por lo que los autores describieron estas mutaciones como “pasajeras inofensivas”.⁴ Finalmente en 2014, tres grupos de investigación independientes evaluaron la presencia de mutaciones somáticas relacionadas con el cáncer hematológico mediante la secuenciación del exoma de células sanguíneas de miles de personas sin antecedentes conocidos de hemopatía maligna. Todos ellos coincidieron en que las mutaciones halladas se restringían a un número limitado de genes, mayoritariamente implicados en el desarrollo de neoplasias hematológicas (sobre todo mieloides); que su presencia se relacionaba con la edad, siendo < 1% en individuos < 40 años, pero > 10% en aquellos mayores de 70 años; y que se asociaban a un mayor riesgo de desarrollo de neoplasias mieloides, enfermedad isquémica cardiovascular y mortalidad global.⁵⁻⁷ Desde entonces, se han utilizado varios nombres para referirse a esta entidad: Hematopoyesis clonal (HC) es el término más amplio y hace referencia a la presencia de un clon hematopoyético debido a cualquier mutación (asociadas o no a neoplasias hematológicas) y de cualquier tamaño; Hematopoyesis clonal asociada con la edad (ARCH, *Age-Related Clonal Hematopoiesis*), es un término vagamente definido que alude a la presencia de un clon hematopoyético debido a mutaciones recurrentes y específicas, de cualquier tamaño

(generalmente VAF < 2%) y sin evidencia de neoplasia hematológica; y finalmente, hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP), término acuñado en 2015 por Steensma y que hace referencia exclusivamente a la presencia de clones hematopoyéticos debido a mutaciones en genes relacionados con neoplasias hematológicas, a partir de una determinada VAF ($\geq 2\%$) y en ausencia de otras hemopatías malignas.⁸ La información de estas Guías se limitan al término CHIP.

¿Es la HC un proceso fisiológico o patológico?

Desde la descripción de la CHIP surge el interrogante de si representa una consecuencia normal del envejecimiento del sistema hematopoyético o, por el contrario, un estado preleucémico. Estudios en modelos murinos han demostrado que los dos genes mutados con mayor frecuencia en la CHIP (DNMT3A y TET2) mejoran la autorrenovación de las células madre hematopoyéticas,⁹⁻¹¹ lo que sugiere que la expansión clonal podría representar un mecanismo compensatorio para mantener una hematopoyesis normal en edades avanzadas, cuando la mayoría de las células madre tienen un potencial proliferativo disminuido. Además, técnicas de secuenciación ultrasensibles han permitido detectar una HC en prácticamente todas las personas, independientemente de la edad¹² y, aunque inicialmente las personas con una CHIP tiene un riesgo notablemente mayor de desarrollar un cáncer hematológico, solo una minoría acabarán desarrollándola (riesgo absoluto de 0,5–1% al año).⁵ Todo ello es sugestivo de que la CHIP podría considerarse un proceso fisiológico relacionado con el envejecimiento. En este sentido, parece que es la presencia de determinadas características como son el tamaño del clon (p.ej. VAF > 10%), el número de mutaciones (≥ 2) o la presencia de determinadas mutaciones (p.ej. genes del splicing o de la reparación del ADN),^{5,13,14} así como alteraciones en el microambiente medular o en el sistema inflamatorio,^{15,16} o la existencia de situaciones especiales como la exposición a quimioterapia,^{17,18} más que la mera presencia de una CHIP, las que juegan un papel relevante en el desarrollo y evolución de la hemopatía.

Definición de CHIP y distinción con otras entidades relacionadas

En los últimos 10 años se han descrito múltiples entidades que comparten algunas de las características de SMD, pero que no llegan a cumplir los criterios diagnósticos definitorios de SMD. Es muy importante diferenciarlas de éstos debido a que el riesgo de evolución a LMA varía de una entidad a otra y, por lo tanto, marcará el seguimiento clínico del individuo (Figura 1). Dentro de estas entidades se encuentra la citopenia idiopática de significado incierto (ICUS, *idiopathic cytopenia of unknown significance*), cuando solo se objetiva citopenia/s sin displasia ni clonalidad; la displasia idiopática de significado incierto (IDUS, *idiopathic dysplasia of unknown significance*), cuando solo se objetiva displasia sin citopenia/s ni clonalidad; la citopenia clonal de significado incierto (CCUS, *clonal cytopenia of unknown significance*), cuando se objetiva citopenia/s y clonalidad sin displasia y, finalmente, la CHIP, cuando solo se objetiva clonalidad a partir de una frecuencia alélica de un 2% (Tabla 2).^{8,19-27} A diferencia que en la CHIP, el punto de corte de la VAF en las CCUS está por determinar, y todavía no hay un punto de corte de VAF establecido.

Algunos autores proponen la presencia de al menos una variante con una VAF 20% para diagnosticar una CCUS, puesto que la citopenia debe justificarse exclusivamente por la presencia de un proceso clonal que resulte en una hematopoyesis ineficaz y clones más pequeños no explicarían por sí solos la citopenia.²⁷⁻²⁹ El empleo de una VAF alta, probablemente ayude a diferenciar entre las citopenias debidas exclusivamente a procesos clonales (CCUS) de citopenias de origen secundario (p.ej. insuficiencia renal, déficits nutricionales o tóxicos medulares) que coexisten con pequeños clones CHIP. Además, este punto del 20% se basa en la asociación con un riesgo de progresión a neoplasia mieloide > 95% en 10 años.²⁹ Otros factores asociados a mayor riesgo de progresión de CCUS a neoplasia mieloide en la CCUS incluyen el número de variantes y el tipo de gen afectado.³⁰

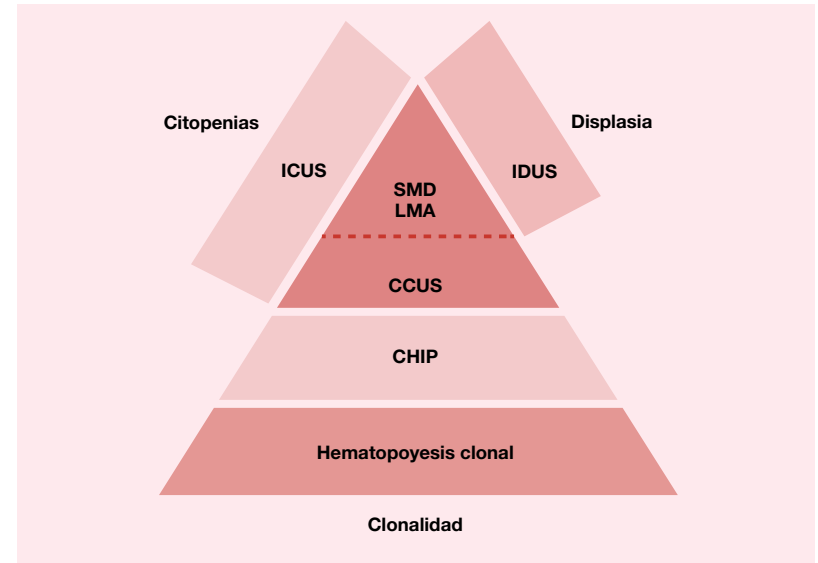


Figura 1. Relación entre citopenia, displasia y clonalidad en SMD y otras patologías relacionadas.

De acuerdo con la evidencia disponible y, sobre todo, la relevancia clínica que han demostrado los criterios definitorios de CHIP propuestos por Steensma en 2015, se considera que un individuo presenta una CHIP si cumple todos los siguientes criterios:

1. La presencia de, al menos, una mutación somática detectable en sangre periférica en un gen mutado en neoplasias hematológicas.*
2. Una frecuencia alélica de la mutación (VAF) $\geq 2\%$.
3. La ausencia de neoplasia hematológica u otro desorden clonal hematológico.

*Es importante destacar, de acuerdo con la definición propuesta por Steensma,⁸ que una variación en el número de copias (CNV, *Copy Number Variation*) resultante de una alteración cromosómica estructural clonal y que afecte a genes implicados en neoplasias hematológicas, también es consistente con una CHIP. Aunque la mayoría de trabajos publicados se han centrado en el estudio de mutaciones de un único nucleótido

(SNV) e inserciones/delecciones (indels) y, por tanto, no reportan CNVs, cada vez hay más evidencia de que también hay casos de CHIP en individuos que presentan estas alteraciones somáticas y, aunque son menos frecuentes que los tipos de variantes comentadas, presentan un impacto clínico similar al de las mutaciones puntuales.³¹

Por otro lado, en el ámbito clínico se puede dar la situación de pacientes a los que se les realiza un aspirado medular por citopenia/s en los que se detectan mutaciones patogénicas en genes asociados a neoplasias hematológicas, con la posterior resolución espontánea de las citopenias que motivaron el estudio. Estos pacientes ya no pueden clasificarse como CCUS (no presentan la citopenia/s persistente) y a pesar de no cumplir estrictamente los criterios propuestos al no haberse estudiado la mutación en sangre periférica, son altamente sugestivos de presentar una CHIP.

Tabla 1. CHIP y otras entidades relacionadas: características y criterios diagnósticos					
	ICUS	IDUS	CHIP	CCUS	SMD
Displasia ^a	-	+	-	-	+
Citopenia/s ^b	+	-	-	+	+
Blastos MO	<5%	<5%	<5%	<5%	<20%
Alteraciones citogenéticas	-	-	+/-	+/-	++
Alteraciones moleculares ^c	-	-	+c	+d	+++
Evolución a SMD	-	-	< 1% anual	> 95% e	

^a Al menos 10% de las células de un linaje (eritroide, granulocítica, megacariocítica) presentan displasia.

^b Citopenia persistente durante al menos 4 meses.

^c VAF \geq 2%.

^d VAF \geq 20%.

^e Los pacientes con CCUS presentan una mayor probabilidad de evolución a neoplasia mieloides que aquellos sin clonalidad (ICUS) (HR 13.9; 95% CI 5.4-35.9); y un riesgo acumulado de progresión a neoplasia mieloides a los 10 años de un 95%.

Abreviaturas:

CCUS, *Clonal Cytopenia of Unknown Significance*; CHIP, *Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential*; ICUS, *Idiopathic Cytopenia of Unknown Significance*; IDUS, *Idiopathic Dysplasia of Unknown Significance*; SMD, *Síndrome Mielodisplásico*.

Referencias

1. Busque L, Mio R, & Mattioli J. Nonrandom X-Inactivation Patterns in Normal Females: Lyonization Ratios Vary With Age. *Blood* 88, 55–65 (1996).
2. Laurie, C. C. *et al.* Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nat. Genet.* (2012) doi:10.1038/ng.2271.
3. Busque, L. *et al.* Recurrent somatic TET2 mutations in normal elderly individuals with clonal hematopoiesis. *Nat. Genet.* (2012) doi:10.1038/ng.2413.
4. Holstege, H. *et al.* Somatic mutations found in the healthy blood compartment of a 115-yr-old woman demonstrate oligoclonal hematopoiesis. *Genome Res.* (2014) doi:10.1101/gr.162131.113.
5. Jaiswal, S. *et al.* Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *N. Engl. J. Med.* 371, 2488–2498 (2014).
6. Genovese, G. *et al.* Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. *N. Engl. J. Med.* 371, 2477–2487 (2014).
7. Xie, M. *et al.* Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat. Med.* 20, 1472–1478 (2014).
8. Steensma, D. P. *et al.* Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 126, 9–16 (2015).

9. Moran-Crusio, K. *et al.* Tet2 Loss Leads to Increased Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal and Myeloid Transformation. *Cancer Cell* (2011) doi:10.1016/j.ccr.2011.06.001.

10. Challen, G. A. *et al.* Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation. *Nat. Genet.* (2012) doi:10.1038/ng.1009.

11. Buscariol, M. *et al.* DNMT3A and TET2 dominate clonal hematopoiesis and demonstrate benign phenotypes and different genetic predispositions. *Blood* (2017) doi:10.1182/blood-2017-04-777029.

12. Young, A. L., Challen, G. A., Birman, B. M. & Druley, T. E. Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults. *Nat. Commun.* (2016) doi:10.1038/ncomms12484.

13. Desai, P. *et al.* Somatic mutations precede acute myeloid leukemia years before diagnosis. *Nat Med.* 24, 1015–1023 (2018).

14. Abelson, S. *et al.* Prediction of acute myeloid leukaemia risk in healthy individuals. *Nature.* 559, 400–404 (2018).

15. Cai, Z. *et al.* Inhibition of Inflammatory Signaling in Tet2 Mutant Preleukemic Cells Mitigates Stress-Induced Abnormalities and Clonal Hematopoiesis. 23, 833-849 (2018).

16. Larisa V Kovtonyuk, LV. *et al.* Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment. *Front. Immunol.* 7:502 (2016).

17. Gillis, NK. *et al.* Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study

18. Takahashi, K. *et al.* Preleukaemic clonal haemopoiesis and risk of therapy-related myeloid neoplasms: a case-control study. *Lancet Oncol* 2017; 18: 100–11.

19. Wimazal, F. *et al.* Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) versus low risk MDS: The diagnostic interface. *Leuk. Res.* (2007) doi:10.1016/j.leukres.2007.03.015.

20. Valent, P. *et al.* Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leukemia Research* (2007) doi:10.1016/j.leukres.2006.11.009.

21. Valent, P. & Horny, H. P. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS: Update and open questions. *European Journal of Clinical Investigation* (2009) doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02151.x.

22. Schroeder, T. *et al.* Distinguishing myelodysplastic syndromes (MDS) from idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS): HUMARA unravels clonality in a subgroup of patients. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 21, 2267–71 (2010).

23. Valent, P. *et al.* Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) and idiopathic dysplasia of uncertain significance (IDUS), and their distinction from low risk MDS. *Leukemia Research* (2012) doi:10.1016/j.leukres.2011.08.016.

24. Malcovati, L. & Cazzola, M. The shadowlands of MDS: Idiopathic cytopenias of undetermined significance (ICUS) and clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). *Hematology* (2015) doi:10.1182/asheducation-2015.1.299.

25. Valent, P. *et al.* Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. *Oncotarget* (2017) doi:10.18632/oncotarget.19008.

26. Valent, P. *et al.* Idiopathic bone marrow dysplasia of unknown significance (IDUS): definition, pathogenesis, follow up, and prognosis. *Am. J. Cancer Res.* (2011).

27. Gondek, L. P. & DeZern, A. E. Assessing clonal haematopoiesis: clinical burdens and benefits of diagnosing myelodysplastic syndrome precursor states. *The Lancet Haematology* vol. 7 (2020).

28. Li, M. *et al.* Clinical, molecular, and prognostic comparisons between CCUS and lower-risk MDS: a study of 187 molecularly annotated patients. *Blood Adv* (2021) 5 (8): 2272–2278.

29. Malcovati, L. *et al.* Clinical significance of somatic mutation in unexplained blood cytopenia. *Blood* (2017) 129 (25): 3371–3378.

30. Galli, A. *et al.* Relationship between clone metrics and clinical outcome in clonal cytopenia. *Blood* (2021) 16;138(11):965-976.

31. Saiki, R. *et al.* Combined landscape of single-nucleotide variants and copy number alterations in clonal hematopoiesis. *Nat Med.* 27, 1239-1249 (2021).

Diagnóstico

Autores: Laura Palomo, Vall d'Hebron Institute of Oncology, Barcelona; Bárbara Tazón, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; Josep Nomdedéu, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona; Iria Vázquez, CIMA LAB Diagnostics Universidad de Navarra, Pamplona; María Moreno Igoa, CIMA LAB Diagnostics Universidad de Navarra, Pamplona; Alberto Valiente, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona; Sofía Toribio, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; María Hernández, Hospital Universitario de Salamanca; Mónica del Rey, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Marta Martín-Izquierdo, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Rocio Salgado, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; Mireia Atance, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; Teresa Arquero, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; María José Corti, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; Antonieta Molero, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; Javier Grau, Institut Català d'Oncologia, Badalona; Esperanza Tuset, Institut Català d'Oncologia, Girona; Elvira Mora, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; María José Larráyo, CIMA LAB Diagnostics Universidad de Navarra, Pamplona; María José Calasanz, CIMA LAB Diagnostics Universidad de Navarra, Pamplona; Andrés Jerez, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia.

- Para la estandarización del estudio de CHIP se deben adoptar unos criterios diagnósticos homogéneos (1A).
- Los genes más frecuentemente mutados en los estudios publicados hasta ahora son los reguladores epigenéticos (DNMT3A, TET2 y ASXL1). Se propone un conjunto de genes y regiones para un análisis completo de CHIP basado en una revisión bibliográfica exhaustiva (1B).
- La técnica que ofrece la mejor relación coste-efectividad es la secuenciación masiva (NGS) dirigida que, además, es la metodología de mayor implantación en el ámbito clínico para el estudio en profundidad de marcadores moleculares implicados en neoplasias hematológicas (1A).
- Aunque en la definición de CHIP se incluye cualquier alteración somática independientemente de su categorización (patogenicidad), se recomienda clasificar y categorizar las alteraciones moleculares (1C). Para tal fin, se proponen numerosas herramientas que permiten una buena categorización de las variantes detectadas en los estudios de NGS.

Introducción y genes descritos en individuos con chip

La detección de una HC vendrá determinada por una serie de factores, incluyendo la profundidad de cobertura de la secuenciación, el número de genes (o regiones) analizados, la sensibilidad de la metodología, la correcta eliminación de los artefactos de secuenciación, etc. Por ello, y dadas las implicaciones clínicas derivadas de la HC, es necesario unificar y estandarizar los criterios utilizados para su definición.

Los primeros estudios de secuenciación llevados a cabo en grandes poblaciones de individuos aparentemente sanos, y que describían el fenómeno de la hematopoyesis clonal asociada a la edad, utilizaban datos de exoma y se focalizaban principalmente en genes driver o iniciadores, previamente asociados a cáncer.^{1,2,3} Fue en estos trabajos donde se observó que la gran mayoría de mutaciones detectadas en sangre periférica, y que daban lugar a una HC, afectaban a genes descritos en neoplasias hematológicas, principalmente de la línea mieloide. Estas mutaciones incluían tanto variantes puntuales (SNVs, de single nucleotide variants) como pequeñas inserciones y deleciones (indels).

Estos estudios detectaban HC en el 2-4% de los individuos estudiados, siendo ésta muy poco frecuente (< 1%) en aquellos individuos menores de 40 años, pero mucho más recurrente a partir de los 70 años ($\geq 10\%$). Estudios posteriores describen un porcentaje mayor (12%) de HC en la población global estudiada a través de datos de genomas completos, donde identificaban la HC en base a la acumulación de mutaciones somáticas en un clon hematopoyético dominante, independientemente del gen o la región del genoma que se viera afectada por dichas mutaciones.⁴

La frecuencia de la HC también varía en función de la naturaleza de la cohorte estudiada. Por ejemplo, estudios llevados a cabo en cohortes de pacientes con cáncer (tumores sólidos) detectan hasta un 25-30% de casos con HC en el total de la serie analizada.^{5,6} Los factores que contribuyen a esta frecuencia mayor no están completamente definidos, pero podrían incluir la edad, el tabaco y la exposición a terapia oncológica.^{5,6} Asimismo,

la HC también es más frecuente (35-50%) en aquellos individuos que presentan ICUS,^{7,8} o en pacientes con anemia aplásica (65-70%).^{9, 10}

De forma similar, la prevalencia de la HC también se puede ver afectada por la sensibilidad de la técnica utilizada y por el punto de corte de la VAF considerada para establecer la clonalidad. El uso de técnicas más sensibles permite detectar clones mucho más pequeños que los observados en los estudios iniciales.^{11,12} De hecho, un estudio llevado a cabo utilizando secuenciación ultra profunda (detección de VAFs de hasta 0,03%) concluyó que, a partir de los 50 años de edad, prácticamente todos los individuos presentan HC.¹¹ Sin embargo, la relevancia biológica y clínica de estos clones tan minoritarios se desconoce, por lo que es importante establecer un punto de corte en función del objetivo del estudio planteado y, sobre todo, para la consideración de la HC en la práctica clínica.

Basándonos en la evidencia disponible y con el objetivo de destacar las consecuencias clínicas de la HC, en esta guía se propone utilizar los criterios de definición de CHIP, término propuesto por Steensma y colaboradores en 2015 y utilizado en la gran mayoría de trabajos llevados a cabo desde entonces¹³ y que se detallan en el capítulo 4.

Teniendo en cuenta que el número de genes recurrentemente mutados en las neoplasias hematológicas es muy extenso y que los principales actores implicados en la CHIP ya han sido identificados, proponemos un panel de genes mínimo a tener en cuenta para estudiar la CHIP (*Tabla 1*).

Tabla 1

Gen	Frecuencia (PS)	Frecuencia (PC)	Regiones (exones)	Tránsito	Hotspots
DNMT3A	1,57%	10-12%	todos	NM_022552.4	R882
TET2	0,46%	3-8%	todos	NM_001127208.2	
ASXL1	0,28%	1-2%	9-13	NM_015338.6	
JAK2	0,15%	<0,5%	12,14	NM_004972.3	V617F
PPM1D	0,14%	1,00%	4-6	NM_003620.4	
TP53	0,13%	0,50%	todos	NM_000546.5	
SF3B1	0,11%	0,50%	10-16	NM_012433.3	K700E, K666N
GNB1	0,07%	<0,5%	5	NM_002074.5	K57
SRSF2	0,06%	<0,5%	1	NM_003016.4	P95
CHEK2	-	<0,5%	todos	NM_007194.4	
CBL	0,04%	<0,1%	8-9	NM_005188.4	
KMT2D	0,04%	<0,1%	todos	NM_003482.3	
GNAS	0,03%	<0,1%	8	NM_000516.6	R201
NRAS	0,03%	<0,1%	2-3	NM_002524.5	G13, Q61
CUX1	0,02%	<0,1%	todos	NM_001913.5	
RAD21	0,02%	<0,1%	todos	NM_006265.3	
SETD2	0,02%	<0,1%	todos	NM_014159.6	
U2AF1	0,02%	<0,1%	2-7	NM_001025204.1	S34F, R156H
BCOR	0,02%	<0,1%	todos	NM_017745.6	
ZRSR2	0,02%	<0,1%	todos	NM_005089.3	
IDH2	0,01%	<0,1%	4	NM_002168.3	R140Q
STAT3	0,01%	<0,1%	19-22	NM_139276.2	D661Y
MYD88	0,01%	<0,1%	3-5	NM_002468.5	L265P
EZH2	0,01%	<0,1%	todos	NM_004456.5	
SF1	0,01%	<0,1%	todos	NM_201995.2	
MPL	0,01%	<0,1%	todos	NM_005373.3	W515L
CREBBP	0,01%	<0,1%	todos	NM_004380.3	
ATM	0,01%	<0,1%	todos	NM_001351834.2	
KIT	0,01%	<0,1%	2, 8-14, 17	NM_000222.2	
PTPN11	0,01%	<0,1%	todos	NM_002834.4	
SETBP1	0,01%	<0,1%	4	NM_015559.3	
SH2B3	0,01%	<0,1%	2-8	NM_005475.3	
IDH1	-	<0,1%	4	NM_005896.3	
KRAS	-	<0,1%	2-3	NM_033360.4	
RUNX1	-	<0,1%	todos	NM_001754.4	

Abreviaturas: PS, Población sana; PC, Población con cáncer (tumores sólidos).

Tabla 1. Listado de genes propuesto para un estudio completo de la CHIP y regiones que se recomiendan analizar (se incluyen aquellas regiones descritas tanto en individuos con CHIP como en neoplasias hematológicas), ordenados según su frecuencia. Los 10 genes encuadrados en verde son aquellos que se recomienda analizar como mínimo en cualquier estudio de CHIP. Los del recuadro naranja se han descrito de forma recurrente, pero con una menor frecuencia, mientras que los del recuadro azul se han descrito en estudios puntuales o con una frecuencia muy baja.

La gran mayoría de los genes recurrentemente mutados en la CHIP se pueden englobar en 3 categorías: reguladores epigenéticos, factores de splicing y genes implicados en la respuesta del daño al ADN. Otros genes detectados con menor frecuencia son aquellos que codifican para componentes de vías de señalización y transducción, factores de transcripción y miembros del complejo de la cohesina.¹⁶ La *Figura 2* muestra la frecuencia de dichos genes en el conjunto de individuos con CHIP. Las mutaciones que afectan a estos genes y que juegan un papel en la CHIP son de tipo iniciador, y suelen promover un aumento muy sutil en el fitness y la capacidad de autorrenovación de las células madre hematopoyéticas, generando una pequeña expansión clonal que, en la mayoría de los casos, se mantendrá en niveles muy bajos. En un reducido número de individuos, otras alteraciones como la adquisición de mutaciones adicionales, contribuirán a una mayor expansión clonal y al desarrollo de una neoplasia en última instancia.

Las mutaciones que podemos detectar en estos genes pueden ser de tipo missense (cambio de aminoácido), nonsense (generación de un codón de parada prematuro que mayoritariamente trunca la proteína), *frameshift* (que alteran la pauta de lectura y mayoritariamente truncan la proteína) o de *splicing* (cuando afectan al procesamiento del ARN).

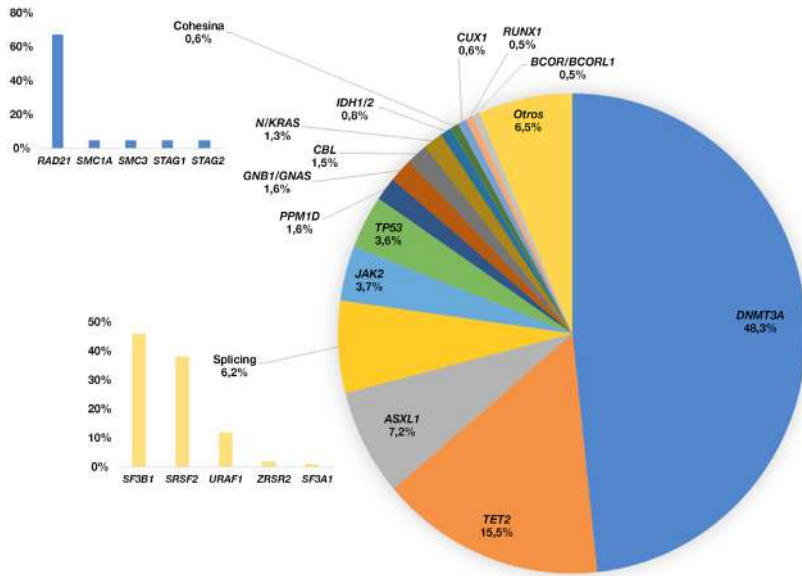


Figura 2. Genes recurrentemente mutados en individuos con CHIP. Modificado de Challen GA, *et al.*¹⁶

Reguladores epigenéticos

Los reguladores epigenéticos son genes implicados en procesos que modifican la expresión del ADN sin alterar su secuencia. Son los genes más frecuentemente mutados en la CHIP (constituyen >70% de las mutaciones detectadas; *Figura 1*) y podemos dividirlos en genes implicados en la metilación del ADN (*DNMT3A*, *TET2*, *IDH1/2*) y genes modificadores de la cromatina y las histonas (*ASXL1*, *EZH2*, *KMT2D*). Se encuentran principalmente afectados por mutaciones truncantes que suelen afectar a toda la región codificante del gen y que conllevan una pérdida de función de la proteína, a excepción de *IDH1/2*, que presentan mutaciones missense puntuales que afectan a posiciones hot-spot. Los reguladores epigenéticos se encuentran recurrentemente mutados en diversas neoplasias hematológicas, sobretodo de naturaleza mieloides (SMD, neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas [SMD/NMP]) y, con menor frecuencia, LMA y neoplasias

mieloproliferativas [NMP]), pero también en algunas neoplasias linfoides como el linfoma difuso de células grandes B, la leucemia aguda linfoblástica T y los linfomas de células T. En concreto, los denominados genes DTA (*DNMT3A*, *TET2* y *ASXL1*) son claramente los actores principales en la CHIP (*Figura 1*).

DNMT3A

El gen *DNMT3A* codifica para un enzima con actividad metiltransferasa y cataliza la adición de un grupo metil en el residuo de citosina de los dinucleótidos CpG, jugando un papel en la regulación de la expresión génica. Es el gen más frecuentemente mutado en la CHIP, detectado en casi el 50% de los casos.^{1,2,3}

Las mutaciones de *DNMT3A* son monoalélicas, se localizan en toda la región codificante del gen y conllevan una pérdida de función. Más de la mitad de las mutaciones son de tipo truncante (*frameshift*, *nonsense*), pero también se detectan con frecuencia mutaciones missense (en su mayoría generan nuevos residuos de cisteína) y de *splicing*.^{1,2} Experimentos funcionales demuestran que la pérdida de la proteína DNMT3A daña la diferenciación de las células madre hematopoyéticas y aumenta la capacidad de autorrenovación de estas células.¹⁴ Modelos murinos con pérdida de función de DNMT3A muestran que las células hematopoyéticas mutadas tienen patrones de metilación alterados en genes de pluripotencia, lo que confiere a la célula una ventaja competitiva respecto a las células no mutadas. De manera similar a lo que pasa en individuos con CHIP, los ratones raramente acaban desarrollando un cáncer y, si lo hacen, es después de un largo periodo de latencia.^{14,15}

El espectro de mutaciones de DNMT3A visto en la CHIP es algo distinto al observado en las neoplasias mieloides, estando mucho menos enriquecido en la variante R882H, que es la más frecuentemente detectada en la LMA (15% de los casos con CHIP).^{5,16} Esta variante tiene un efecto dominante negativo por lo que, aunque el alelo no mutado se sigue expresando, la actividad funcional de la proteína DNMT3A podría

verse reducida a tan solo un 20% de los niveles normales. En cambio, mutaciones en otros dominios de la proteína podrían reducir la actividad a un 50%, contribuyendo a una menor expansión clonal, típica en la CHIP, mientras que los individuos con la variante R882H podrían estar más predispuestos a desarrollar una neoplasia.¹⁷

TET2

El gen *TET2* codifica para un miembro de la familia de proteínas TET, cuya actividad enzimática cataliza la conversión de la 5-metil-citosina a 5-hidroximetil-citosina. Es el segundo gen más recurrente en la CHIP, afectando aproximadamente al 15% de los casos.^{1,2,3} Las mutaciones de *TET2* son similares a las descritas en neoplasias hematológicas, principalmente variantes de tipo *frameshift*, *nonsense*, y de *splicing* en menor frecuencia, que afectan a toda la región codificante del gen y que conllevan una pérdida de función de la proteína.⁵ Estudios funcionales demuestran que la pérdida de *TET2* conlleva un aumento en la capacidad de autorrenovación de las células madre hematopoyéticas y una ventaja competitiva en su crecimiento. De forma paralela a lo que sucede con las mutaciones de *DNMT3A*, los modelos murinos con pérdida de función de *TET2* sugieren que estas mutaciones por sí solas promueven la expansión clonal de las células madre hematopoyéticas, pero no son suficientes para iniciar un proceso neoplásico.^{18,19}

ASXL1

El gen *ASXL1* codifica para una proteína nuclear reguladora de la transcripción y la cromatina, que actúa mediante la interacción con el complejo represivo polycomb (PRC2) y con activadores y represores de la transcripción. Las mutaciones de *ASXL1* se detectan aproximadamente en un 7% de los individuos con CHIP.^{1,2,3}

Similar a lo descrito en neoplasias mieloides, las mutaciones de *ASXL1* detectadas en la CHIP son variantes de tipo *frameshift*, *nonsense*, y de *splicing* en menor frecuencia, que afectan principalmente al último exón del gen, y que generan una proteína truncada con pérdida de función.¹ De forma similar a lo que ocurre con

DNMT3A y *TET2*, se cree que las mutaciones en *ASXL1* probablemente conlleven también un aumento de la capacidad de autorrenovación de las células madre hematopoyéticas, aunque los mecanismos no están claros.¹⁶

Como dato interesante, un estudio HC al llevado a cabo en pacientes con diversos tumores sólidos, detectó una asociación positiva entre individuos fumadores y la presencia de mutaciones en *ASXL1*.⁶

Factores de splicing

El espliceosoma es un gran complejo proteico involucrado en el proceso de splicing, cuya función es eliminar los intrones del pre-ARN mensajero para generar el ARN mensajero maduro durante el proceso de la transcripción genética. Los factores de splicing, que codifican para proteínas de este complejo, se encuentran recurrentemente mutados en las neoplasias mieloides y se asocian a la presencia de mielodisplasia, por lo que son especialmente recurrentes en los SMD y los SMD/NMP. Además, las mutaciones en *SF3B1* también se han descrito en la leucemia linfática crónica.

La prevalencia de mutaciones en factores de splicing en individuos con CHIP es muy inferior en comparación a los reguladores epigenéticos, afectando de forma global al 6% de los casos, aproximadamente (*Figura 1*). Los genes más frecuentemente afectados son *SF3B1* y *SRSF2*, seguidos de *U2AF1*, *ZRSR2* y *SF3A1*.¹⁶ Igual que sucede en las neoplasias hematológicas, las mutaciones descritas en estos genes son mayoritariamente monoalélicas, de tipo missense, se localizan en regiones *hotspot* definidas y generalmente son mutuamente excluyentes.^{1,2,3}

Modelos murinos para algunas de las mutaciones más frecuentes en estos genes no han podido reproducir la expansión clonal observada en humanos, por lo que los mecanismos que dan lugar a esta expansión y contribuyen a la HC se desconocen.²⁰ Estudios de HC en pacientes con cáncer han demostrado que las mutaciones en

SF3B1 y *SRSF2* son las que muestran una mayor asociación con la edad.⁶ Por otro lado, estudios de HC en pacientes con citopenias de significado incierto demostraron que la presencia de mutaciones en factores de splicing se asociaba a un mayor riesgo de desarrollar una neoplasia mieloide.⁸

Genes de reparación del daño en el ADN

La respuesta al daño en el ADN (DDR, de *DNA damage response*) comprende una red compleja de mecanismos y procesos altamente regulados, incluyendo vías de reparación del ADN, procesos de tolerancia al daño del ADN y *checkpoints* del ciclo celular destinados a mantener la integridad genómica. Se han descrito mutaciones recurrentes en individuos con CHIP en algunos genes implicados en la DDR, principalmente *TP53* y *PPM1D* (Figura 1).^{1,2,3}

Además, en pacientes con tumores sólidos también se han descrito, aunque con menor frecuencia, casos con CHIP con mutaciones de *CHEK2*, un gen que codifica para un regulador de un *checkpoint* del ciclo celular.^{5,6}

TP53

El gen *TP53* codifica para una proteína supresora tumoral que también funciona como factor transcripcional y que, en situaciones de estrés celular regula la expresión de genes involucrados en arresto del ciclo celular, apoptosis, senescencia, reparación del ADN y cambios en el metabolismo de la célula. *TP53* se encuentra mutado en el 3-4% de los individuos con CHIP.¹⁶ Es el gen más frecuentemente mutado en cáncer y, en las neoplasias hematológicas, se puede encontrar mutado prácticamente en todas las entidades, tanto mieloides como linfoides, aunque la prevalencia es muy variable. En los individuos con CHIP, así como en las neoplasias hematológicas, la mayoría de mutaciones de *TP53* son de tipo missense y afectan principalmente al dominio de unión al ADN, con numerosos hotspots descritos.^{1,2,3} Las mutaciones alteran la función normal de la proteína p53, afectando así a la supervivencia y la prolifera-

ción celular. Modelos murinos demuestran que las células madre con mutaciones de *TP53* pueden entrar en el ciclo celular, aunque haya daño en el ADN, resultando en una ventaja celular que promueve la expansión clonal.²¹

PPM1D

El gen *PPM1D* codifica para una fosfatasa de la familia de fosfatasas PP2C, que son reguladores negativos de vías de respuesta al estrés y daño celular. En concreto, la expresión de *PPM1D* se induce de forma p53-dependiente en respuesta a diferentes señales de estrés del entorno. La identificación y prevalencia de mutaciones en *PPM1D* en la CHIP (1-2% de los individuos con CHIP) fue inicialmente una sorpresa, puesto que este gen se ha descrito en algunos tumores sólidos, pero no se encuentra recurrentemente mutado en las neoplasias hematológicas, aunque en estudios recientes se han identificado mutaciones en este gen en casos con neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento (NMRT), en concreto LMA.^{1,4,22}

Las mutaciones en *PPM1D* en individuos con CHIP son mayoritariamente mutaciones de tipo *frameshift*, *nonsense* o de *splicing* que afectan al último exón del gen, dando lugar a una proteína truncada, igual que se ha visto en tumores sólidos.^{1,4,5} Son mutaciones que generan una ganancia de función, puesto que la pérdida del dominio C-terminal de PPM1D activa constitutivamente la proteína, lo que resulta en una represión de p53, afectando al *checkpoint* G1 del ciclo celular, que es p53 dependiente, y promoviendo así la proliferación. Como pasa con TP53, modelos murinos con mutaciones en PPM1D demuestran que las células madre con este tipo de mutaciones entran en el ciclo celular independientemente del daño en el ADN.^{24,25}

De forma global, la ventaja proliferativa que se observa en las células madre con mutaciones en genes de DDR (*TP53*, *PPM1D* o *CHEK2*) se hace evidente cuando hay un daño celular, como por ejemplo en el contexto del tratamiento con fármacos citotóxicos.^{6,24} De hecho, se ha visto que la exposición previa a tratamiento con radioterapia

o quimioterapia en pacientes con cáncer se asocia a una mayor probabilidad de tener CHIP, especialmente con mutaciones en estos tres genes.^{5,6} Se ha demostrado que, en pacientes sometidos a tratamiento con radioterapia o quimioterapia citotóxica, los clones CHIP con mutaciones en genes de DDR crecen más rápido en comparación con otros clones CHIP presentes en el mismo paciente, pero portadores de otras mutaciones, por lo que los clones DDR se seleccionan bajo esta presión. En cambio, en pacientes no tratados, clones con mutaciones en genes no-DDR (por ejemplo, *DNMT3A*) muestran una ventaja en el crecimiento en comparación con los clones con mutaciones de DDR.⁶ Otros genes con funciones similares pero mutados con menor frecuencia en individuos con CHIP, como *ATM*, podrían jugar papeles similares.¹⁶

Es importante tener estos datos en cuenta porque la presencia de CHIP en individuos con cáncer es clínicamente relevante, asociándose a un peor pronóstico.⁶ Cabe destacar que los pacientes con tumores sólidos y CHIP tienen un mayor riesgo de desarrollar una NMRT, y esta asociación es particularmente evidente en el caso de mutaciones en *TP53*, altamente prevalentes en las NMRT.^{26,27,28}

Genes implicados en vías de señalización

Las vías de señalización celular son las encargadas de regular la proliferación y la apoptosis celular mediante cascadas de señales, cuyos principales componentes son enzimas de tipo tirosina quinasa. Las mutaciones en los transductores de estas señales dan lugar, generalmente, a una activación constitutiva de la vía correspondiente y un incremento en la proliferación celular. Las mutaciones en genes implicados en vías de señalización son muy prevalentes tanto en tumores sólidos como en neoplasias hematológicas, especialmente mieloides, ya que promueven la proliferación de las células neoplásicas. Quizás por eso son poco frecuentes en individuos con CHIP, donde prevalecen las mutaciones que aumentan la capacidad de autorrenovación de las células madre hematopoyéticas y confieren una ventaja proliferativa mucho más sutil. Sin embargo, cabe destacar que el gen *JAK2* se encuentra entre los genes más fre-

cuentemente mutados en la CHIP (3-4% de los individuos con CHIP). Además, también se han descrito mutaciones menos frecuentes (1-2%) en genes implicados en la vía RAS (*GNB1*, *CBL*, *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*) (Figura 1).¹⁶ Finalmente, otro gen que juega un papel en el crecimiento celular y que se encuentra mutado en una pequeña proporción (1%) de individuos con CHIP es *GNAS*. Las mutaciones que afectan a todos estos genes implicados en vías de señalización son de tipo missense, afectan a hotspots concretos y generan una ganancia de función de la proteína.

JAK2

El gen *JAK2* codifica para una tirosina quinasa de la familia JAK. Estas tirosinas están involucradas en la vía de señalización JAK/STAT mediante la interacción con los dominios citosólicos de los receptores de citoquinas de la vía y *JAK2*, en particular, juega un papel en la señalización vía citoquinas hematopoyéticas involucradas en la mielopoyesis. *JAK2* se encuentra mutado en el 3-4% de los individuos con CHIP,¹⁶ así como en algunas neoplasias mieloides, siendo especialmente prevalente en las NMP Filadelfia negativas.

Como sucede para la mayoría de genes implicados en vías de señalización, las mutaciones de *JAK2* descritas en individuos con CHIP son de tipo missense y afectan a posiciones específicas, en concreto el codón 617 del gen (mutación V617F), que es el mismo que se ve principalmente afectado en las neoplasias mieloides.^{1,2,3} Esta mutación tiene como consecuencia la activación constitutiva de la vía JAK/STAT, promoviendo así la expansión clonal.

Cabe destacar que la CHIP se asocia a un mayor riesgo de tener un accidente cardiovascular y que, en concreto, los individuos con CHIP con mutación de *JAK2* y una VAF > 10% parecen tener un particular riesgo aumentado de sufrir este tipo de eventos.²⁹

Componentes del complejo de la cohesina

El complejo multiproteico de la cohesina está involucrado en la cohesión de las cro-

mátidas hermanas y la reparación post-replicativa del ADN, y está codificado por los genes *RAD21*, *STAG1*, *STAG2*, *SMC1A* y *SMC3*. En conjunto, mutaciones en estos genes se detectan aproximadamente en el 0,6% de los individuos con CHIP (Figura 1).¹⁶ Estos genes se encuentran recurrentemente mutados en una pequeña proporción de neoplasias mieloides (LMA, SMD y SMD/NMP). En estos pacientes, las mutaciones en *STAG2* son las más prevalentes, mientras que, en individuos con CHIP, las pocas mutaciones descritas afectan principalmente al gen *RAD21*.²

Las mutaciones en los genes de la cohesina suelen ser truncantes de tipo *frameshift*, *nonsense* y de *splicing* y no se localizan en una región concreta del gen.² Se desconoce el mecanismo mediante el cual las mutaciones de *RAD21* promueven la expansión clonal en individuos con CHIP, pero modelos murinos con mutaciones de *STAG2* indican que el efecto podría ser parecido al de las mutaciones en reguladores epigenéticos, ya que dan lugar a un aumento en la expresión de genes que promueven la autorrenovación de las células madre hematopoyéticas y una disminución en la expresión de genes que promueven la diferenciación celular.¹⁶

Muestra de estudio

La muestra para el estudio de CHIP será, por definición, la sangre periférica (SP). Hasta el momento, prácticamente todos los estudios de HC han sido realizados en sangre periférica, ya fueran en población sana o con alguna patología no hematológica (tumores sólidos, diabetes, enfermedad cardiovascular, enfermedad psiquiátrica y otras).

Métodos de preparación de la muestra

El estudio molecular se llevará a cabo en ADN procedente de las células totales nucleadas de la sangre periférica. Se recomiendan los siguientes métodos para el procesamiento de la muestra.

Buffy coat: este método consiste en obtener la capa de células leucoplaquetaria mediante centrifugación. Para ello, se centrifuga el tubo de SP total (por ej. 10 minutos a 1.500g, a temperatura ambiente y con el freno desactivado) para obtener 3 capas: el plasma (capa superior amarillenta, aproximadamente un 55% de la SP), el *buffy coat* (capa fina intermedia blanquecina que contiene los leucocitos y las plaquetas, <1% de la SP) y los eritrocitos (capa inferior rojiza, aproximadamente un 45% de la SP). Se recoge con una pipeta la capa intermedia de *buffy coat* y se realiza una lisis eritrocitaria. Finalmente, se centrifuga la muestra y se lava (generalmente con un tampón fosfato salino/PBS) para la obtención de un pellet celular.

Lisis eritrocitaria: este método consiste en realizar una lisis de eritrocitos directamente en la muestra de SP y así obtener un pellet de células totales nucleadas. Existen diferentes soluciones/tampones que se pueden utilizar, la mayoría de los cuales se basan en el uso de la sal de cloruro de amonio, que promueve la rotura de la membrana celular de los eritrocitos. El procesamiento es sencillo y consiste en incubar la SP con una proporción adecuada del tampón y posteriormente centrifugar y lavar (generalmente con un tampón fosfato salino/PBS) para la obtención de un pellet celular.

Una vez obtenido un pellet de células mediante alguno de estos métodos se llevará a cabo una extracción de ADN. En la Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC (GESMD, 2017) se detallan algunos de los métodos más habituales de extracción de ADN.

Estudio de chip mediante un panel de NGS

Para el estudio de la CHIP se puede hacer uso de diferentes técnicas moleculares. Teniendo en cuenta las características de las principales técnicas disponibles (sensibilidad, especificidad, cantidad de información que proporcionan, rendimiento, coste-efectividad, etc.) la secuenciación masiva (NGS, *Next Generation Sequencing*) diri-

gida a un panel de genes conocidos probablemente sea la técnica más adecuada. Por ello, las características de esta técnica se describen con mayor detalle en este capítulo. La NGS hace referencia a aquellas tecnologías de alta capacidad basadas en la secuenciación masiva en paralelo de millones de moléculas de ADN. Las técnicas de NGS de segunda generación son las que se utilizan hoy en día de forma más extensa. Las secuencias o lecturas tienen un tamaño de 50 – 400 pb, por lo que este tipo de tecnologías también se conoce como secuenciación de lecturas cortas.^{30,31} Esta secuenciación proporciona los datos que combinan una mayor precisión con un menor coste, por lo que son ideales para su uso en el ámbito clínico.

Las aplicaciones de la NGS son numerosas y nos permiten obtener información a nivel de ADN (secuenciación de genomas/exomas/paneles, metagenómica, metilación del ADN), de ARN (secuenciación del transcriptoma, perfiles de expresión génica, perfiles de ARN de pequeño tamaño) y de proteína (perfil ribosómico, ChIP (chromatin immunoprecipitation)-Seq). En el ámbito asistencial, la aplicación más utilizada es la secuenciación de ADN mediante paneles de genes dirigidos.

La secuenciación masiva dirigida es una técnica que permite realizar un cribado masivo de los genes más relacionados con la patología de interés de una manera rápida y sencilla.³² Esta estrategia de secuenciación está principalmente enfocada a la detección de mutaciones (SNVs e indels). Sin embargo, según cómo se realice el diseño del panel de genes y según la química utilizada, también puede permitir llevar a cabo un análisis de CNVs. Este tipo de técnicas requiere una cantidad no muy elevada de ADN de partida (50-200 ng aproximadamente), aunque éste debe ser de gran calidad.³³ Esta técnica permite cuantificar la frecuencia de las alteraciones identificadas, por lo que permite medir el tamaño del clon y valorar su posible impacto cualitativo y también cuantitativo. Además, gracias a la selección de los genes o regiones de interés, con esta técnica se obtiene una cobertura más uniforme y completa que las obtenidas con otras técnicas de NGS. En cuanto a la sensibilidad de la técnica, pue-

de ser muy variable y dependerá de la profundidad de cobertura a la que se elija secuenciar. La selección de genes permite un análisis más rápido, económico y fácil de interpretar que el de otras técnicas de secuenciación masiva, como la secuenciación de exomas o de genomas completos.^{32,33,34} No obstante, la selección de los genes a estudio requiere dedicar un mayor esfuerzo al diseño del panel y a la preparación de las muestras, así como una mayor comunicación entre los expertos del laboratorio y la clínica para elegir las regiones de interés.

Plataformas y preparación de librerías

Los métodos de NGS de lecturas cortas se dividen, de forma general, en métodos de secuenciación por ligación (*sequencing by ligation, SBL*) y métodos de secuenciación por síntesis (*sequencing by synthesis, SBS*). A la hora de elegir una plataforma de secuenciación se deben tener en cuenta diversos factores, como el tiempo de cada carrera, el tamaño de la región a secuenciar, la profundidad de cobertura deseada, la longitud de lectura, los requerimientos de tiempo de respuesta y el coste.³⁰ Teniendo en cuenta estos factores, el GESMD recomienda los métodos de SBS de Illumina y de ThermoFisher. Estas plataformas son las más utilizadas en el ámbito clínico y sus principales características (química utilizada, precisión, tasas de error, etc.) se describen con mayor detalle en las Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC (GESMD, 2017).

El material de partida para cualquier plataforma de NGS es una librería de ADN. Una librería es un conjunto de fragmentos de ADN de un tamaño determinado y que tienen ligado, en sus extremos, unos oligonucleótidos denominados adaptadores, cuya secuencia dependerá de la plataforma de secuenciación que se vaya a utilizar. Además de los adaptadores, los fragmentos de las librerías podrán ir también marcados con una secuencia llamada índice (*barcode*), y que será específica de cada muestra. Este índice permite mezclar (multiplexar) diferentes muestras en una misma carrera de un secuenciador, para poder aprovechar al máximo su capacidad.

El proceso de preparación de librerías puede llevarse a cabo mediante diferentes métodos y su elección dependerá de diversos factores, incluyendo: la plataforma de secuenciación, el tamaño de la librería, el tiempo de respuesta diagnóstica y el coste de secuenciación.

En concreto, la secuenciación dirigida de un panel de genes requiere que durante el proceso de preparación de la librería se enriquezca en fragmentos de ADN que correspondan a las regiones de interés. Para ello existen principalmente dos estrategias: los paneles de amplicones (basados en el uso de cebadores, primers, para la amplificación por PCR) y los paneles de captura (basados en el uso de sondas complementarias a las regiones de interés). En la Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC se describen y se comparan con mayor detalle ambas estrategias (GESMD, 2017).

Cuando el objetivo del panel de NGS es la detección de mutaciones a baja frecuencia, como es el caso del estudio de la CHIP, es interesante considerar metodologías que permitan detectar estas mutaciones de forma fiable. La estrategia más extendida, válida tanto para paneles de amplicones como de captura, es el uso o incorporación de identificadores moleculares únicos (*unique molecular barcodes*, UMIs) durante la preparación de las librerías. Los UMIs son oligonucleótidos que se ligan a cada fragmento inicial de ADN, sirviendo de marca o identificador. La composición aleatoria de la secuencia de los UMIs asegura que cada combinación de fragmento-UMI sea única dentro de la librería. Si no se utilizan UMIs, después del enriquecimiento por PCR no se puede distinguir si las múltiples copias de un fragmento son duplicados de PCR o si son duplicados biológicos reales. Durante el análisis de los resultados, la presencia de estos fragmentos sobrerrepresentados puede traducirse en la detección de variantes artefactuales, especialmente cuando se secuencia a una elevada profundidad de cobertura. En cambio, mediante el uso de UMIs, los duplicados de PCR se pueden identificar buscando combinaciones de fragmento-UMI no únicas y pueden eliminarse.³⁵ El uso de esta estrategia puede ayudar a reducir errores y

sesgos cuantitativos, lo que resulta especialmente interesante cuando el objetivo es la detección de variantes con baja frecuencia alélica, como son las variantes que se detectan en los individuos con CHIP.

Alternativamente, se puede utilizar el método bioinformático de agrupamiento de lecturas (*read grouping*) para eliminar falsos positivos. Brevemente, consiste en alinear las lecturas que comienzan y terminan en una misma posición genómica de forma que esas lecturas quedan aunadas en un grupo o cluster. Para validar una variante debe detectarse en varios *clusters*, lo que equivaldría a varios UMIs del método comentado anteriormente, asegurándonos así que la variante se encuentra en duplicados biológicos reales (método registrado de *SOPHiA Genetics*).

Finalmente, a la hora de elegir el panel a secuenciar, se puede escoger entre el uso de un panel prediseñado o comercial, y un panel personalizado o custom. La ventaja principal de los paneles comerciales es que no requieren una etapa de diseño previa y están optimizados, aunque requieren de un pequeño proceso de validación en cada laboratorio. En cambio, los paneles personalizados requieren un trabajo previo en la selección de los genes y las regiones concretas a incluir, y requieren de un proceso de optimización y validación del diseño. Sin embargo, ofrecen mayor flexibilidad, ya que se pueden incluir todas las regiones deseadas y el diseño se puede ir modificando con el tiempo en función de las necesidades. Algunos fabricantes ofrecen la posibilidad de partir de un panel prediseñado y convertirlo en uno personalizado añadiendo regiones extra. Esta opción puede ser especialmente interesante en el caso de CHIP, ya que se puede partir por ejemplo de un panel de genes mioide prediseñado, al que se le pueden añadir otras regiones asociadas a CHIP. En la Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC se detallan diferentes químicas recomendadas por el GESMD, tanto para paneles prediseñados como para paneles personalizados, y se describen algunos recursos informáticos que pueden ser de gran utilidad para el diseño de estos últimos (GESMD, 2017).

Profundidad de cobertura, sensibilidad y VAF

En NGS, la profundidad de cobertura hace referencia al número de lecturas que cubren una posición determinada (una base nucleotídica o locus concreto) en una región secuenciada.

La VAF o frecuencia alélica de la variante, en porcentaje, se define como el número de lecturas que contiene la variante (cobertura de la variante) dividido por el número de lecturas totales que cubren esa misma posición (cobertura de la posición), multiplicado por 100:

$$\text{VAF (\%)} = \text{Cobertura de la variante} / \text{Cobertura de la posición} \times 100$$

Por ello, cuantas más lecturas cubran una posición, más probabilidad tendremos de detectar variantes que se encuentren en una baja frecuencia y que por tanto sólo estén presentes en unas pocas lecturas. Una mayor profundidad de cobertura permitirá una mayor sensibilidad y robustez al detectar mutaciones con VAF baja.

La profundidad de cobertura es un parámetro que decide el usuario, por lo que debe establecerse previamente a la secuenciación. Dependiendo de la capacidad que tenga el secuenciador que utilicemos y del tamaño del panel a secuenciar, podremos elegir mezclar más o menos muestras para asegurarnos de alcanzar la profundidad de lectura deseada. Para realizar los cálculos necesarios, habrá que decidir cuál es la profundidad de cobertura mínima que se desea alcanzar, y que hace referencia a la cobertura mínima que debería conseguirse para la mayoría de las bases de las regiones secuenciadas para cada muestra. En cualquier caso, frecuentemente será necesario reevaluar la profundidad de cobertura tras los resultados de las primeras muestras secuenciadas con un determinado panel de genes. En la Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC (GESMD, 2017) se explican estos conceptos y proceso con mayor detalle.

Para llevar a cabo un estudio de CHIP hay que tener en cuenta que el objetivo será detectar variantes que estén presentes con $\text{VAF} \geq 2\%$, por lo que tendremos que asegurarnos de que la profundidad de cobertura a la que secuenciamos permite llegar a esta sensibilidad.

Para llegar a una VAF del 2% se recomiendan las siguientes coberturas:

	Cobertura de la posición (>90% de las bases deben estar cubiertas a esta profundidad)	Cobertura de la variante
Panel de amplicones	1.250x	25x
Panel de captura	1.000x	10x

Otras metodologías

Como ya se ha mencionado anteriormente, la NGS dirigida a un panel de genes es probablemente la técnica más adecuada para el estudio de la CHIP, aunque existen otras técnicas que también podrían emplearse y que se describen brevemente a continuación. Algunas de ellas son tecnologías ampliamente utilizadas en el ámbito asistencial (*Tabla 2*), y otras más restringidas a la investigación.

Metodologías en el ámbito asistencial

• Secuenciación de Sanger

La secuenciación por electroforesis capilar o de *Sanger* se utiliza fundamentalmente para la secuenciación de mutaciones *hotspot* o regiones frecuentemente mutadas, con la ventaja que no es necesario el conocimiento previo de las mutaciones concretas que se puedan hallar en la zona analizada. El material de partida debe estar bien purificado (ADN sin restos de ARN o fenoles) y la cantidad necesaria varía entre los 40-80 ng por reacción.

Para regiones pequeñas de ADN tiene una buena relación coste-efectividad³⁶ siendo la NGS, en este caso, más costosa económicamente. Sin embargo, esta

técnica resulta muy costosa para la secuenciación de regiones grandes de ADN por lo que, cuando los genes a estudiar contienen muchos exones (como por ejemplo *DNMT3A* o *TET2*) probablemente no proporcionará ya un beneficio en cuanto a coste-efectividad en comparación con la NGS.^{36,37} Además, tampoco permite el análisis de CNVs.

La secuenciación de *Sanger* es una técnica semicuantitativa, ya que no proporciona un valor de VAF concreto, pero permite tener una idea aproximada de la carga mutacional. Sin embargo, su principal limitación es la menor sensibilidad con respecto a otras técnicas de secuenciación (10-20%), que puede resultar en pérdida de detección de variantes presentes en baja proporción.^{36,38} Esta es la principal limitación de la secuenciación de *Sanger* para su uso en estudios de CHIP, donde la población clonal suele suponer una fracción pequeña en el total de células de la muestra y se esperan mutaciones con VAF tan baja como un 2%.

• Secuenciación del exoma (WES)

La secuenciación masiva del exoma completo (WES, de *whole exome sequencing*) es una técnica que permite obtener información de todas las regiones codificantes (exones) del genoma humano, tanto mutaciones puntuales como CNVs.⁴⁰ Aunque en los últimos años se han producido grandes avances, aún hoy en día es una técnica que requiere de una elevada cantidad y calidad en el ADN de partida (200-1000 ng). Además, debido a la gran cantidad de datos que se generan, su análisis puede resultar laborioso, requiriendo más tiempo y personal más especializado que otras técnicas convencionales.^{39,40,41} En cuanto a la sensibilidad, un exoma se suele secuenciar a una profundidad de 50-100x lo que permite detectar variantes con VAF > 10%, aumentar esta sensibilidad conllevará un coste muy elevado.³⁹ Por todas estas razones, la WES no suele aplicarse al estudio de CHIP en el ámbito clínico.

• PCR cuantitativa (qPCR)

La PCR cuantitativa (qPCR, de *quantitative polymerase chain reaction*) es una metodología que presenta una alta sensibilidad y especificidad para la detección de mutaciones.⁴² Además, el flujo de trabajo es sencillo y rápido. El material de partida (ADN o cADN obtenido a partir de ARN), aunque puede proceder de muestra fresca o congelada, debe tener unos valores mínimos de calidad, por lo que es preciso evaluar su pureza. La cantidad mínima de ADN de partida suele ser bajo (llegando a valores como 1 ng) pero dependerá del método utilizado. Esta técnica nos permite no sólo detectar la presencia de mutaciones, sino además cuantificarlas, lo que nos da una medida de la carga tumoral presente en la muestra de estudio (sensibilidad de hasta 0,1%). Las técnicas de qPCR permiten cuantificar de forma absoluta o relativa, según la estrategia empleada, pero no proporcionan un valor de VAF equivalente al que se obtendría mediante técnicas de NGS. Por ello, se debe tener cuidado a la hora de intentar extrapolar o comparar la carga alélica obtenida mediante qPCR a la VAF.

Su principal inconveniente es que únicamente detecta secuencias conocidas, por lo que no permite la identificación de nuevas variantes. Por ello, podremos utilizarla cuando el número de regiones a estudiar sea pequeño y, por ejemplo, para conocer el estado de alteraciones con interés en la CHIP, como los *hotspots* de las mutaciones más frecuentes. Algunos ejemplos podrían ser el estudio de la mutación R882H en *DNMT3A*, V617F en *JAK2*, K700E en *SF3B1* o P95H en *SRSF2*. Sin embargo, dado que los genes principalmente mutados en la CHIP (genes DTA) se caracterizan por la presencia de mutaciones de tipo indel que generalmente afectan a toda la región codificante del gen, esta técnica no será de gran utilidad para su estudio. En cambio, debido a su alta sensibilidad, especificidad, y al tratarse de una técnica coste-efectiva, la qPCR supondrá una muy buena opción para la monitorización de una mutación ya conocida.

Tabla 2. Comparación de las principales características de las técnicas moleculares utilizadas en el ámbito asistencial.

Técnica	Cantidad/calidad ADN de partida	Sensibilidad (límite detección)	Tiempo de respuesta	Coste económico
NGS dirigida	50-200 ng	2-5%	Moderado (2-4 semanas)	Moderado
Secuenciación Sanger	40-80 ng	15-20%	Bajo (4-5 días)	Bajo
WES	200-1000 ng Calidad elevada	2-15%	Alto (1,5-2 meses)	Elevado
qPCR	1-100 ng	1-5%	Bajo (< 24 h)	Bajo

Metodologías en el ámbito de investigación

Existen otras técnicas, restringidas actualmente al ámbito de la investigación, que permiten la detección de mutaciones y/o CNVs y por tanto podrían servir para la identificación de individuos con CHIP. Algunas de ellas (las más extendidas) se resumen a continuación.

En primer lugar, la PCR digital (dPCR) es una técnica robusta que permite la detección y cuantificación absoluta de moléculas de ADN/cADN y que se caracteriza por su gran sensibilidad, pudiendo llegar al 0,001%. Se basa principalmente en realizar un gran número de particiones de la muestra de partida (que estará muy diluida), de forma que ésta esté dividida en moléculas individuales, y llevar a cabo una reacción de PCR en cada una de las particiones. Existen principalmente dos métodos de dPCR, en función del método para llevar a cabo la partición de la muestra de partida: la *droplet* digital PCR (ddPCR) y la dPCR basada en el uso de *chips* microfluídicos.⁴³ En general, la ddPCR permite trabajar con mayor rango de concentración de muestra y permite conseguir un mayor número de particiones, por lo que suele proporcionar una mayor sensibilidad. Al igual que la qPCR, la dPCR únicamente detecta secuencias conocidas, por el contrario, permite una cuantificación absoluta que no requiere de estándares de calibración, por lo que el proceso suele ser más preciso y reproducible. Además, la sensibilidad es superior.⁴³

La secuenciación masiva del genoma completo (WGS, de *whole genome sequencing*), como indica su nombre, está enfocada a secuenciar todo un genoma a partir de una muestra de ADN. La principal ventaja de esta técnica es que permite obtener una gran cantidad y variabilidad de datos. Podremos detectar la presencia de mutaciones puntuales e indels, pero además esta técnica también nos permitirá detectar la presencia de CNVs (ganancias y pérdidas), la presencia de regiones de homocigosidad sin cambio en el número de copias y la presencia de fusiones y reordenamientos.⁴⁰ Es una técnica ideal para el descubrimiento de nuevas alteraciones en el campo del cáncer y en otros ámbitos, ya que no es necesario un conocimiento previo de las regiones a estudiar,³⁰ pero va acompañada de una serie de inconvenientes que hacen que su uso en el ámbito asistencial sea muy difícil: el elevado coste, (secuenciación y almacenamiento de datos), la falta de estandarización en el análisis de datos (especialmente para CNVs y reordenamientos) y la interpretación de resultados, y la sensibilidad (la profundidad a la que se suele secuenciar un genoma completo es baja, 30x, debido a su elevado coste, por lo que será muy difícil detectar alteraciones con VAF <10%).⁴¹

Finalmente, las técnicas de secuenciación del ARN (*RNA sequencing*, RNAseq) se basan en la secuenciación de moléculas de ADN complementario (cADN) y no de ADN genómico, y por tanto nos aportan información directa sobre el ARN. De forma general, el RNAseq nos permite obtener información sobre: la secuencia del ARN (detección de variantes), los transcritos resultantes del proceso de *splicing* alternativo, la modificación postranscripcional, las fusiones génicas, y los cambios de expresión génica. Las principales limitaciones del RNAseq residen en la muestra de partida (requiere ARN de buena calidad y éste se degrada con mayor facilidad que el ADN, por lo que será más difícil obtener un material óptimo) y en el análisis. Este puede resultar muy complejo y requiere de expertos bioinformáticos, ya que el análisis de ARN para la detección de mutaciones no está tan estandarizado como a partir de ADN. Además, hay que tener en cuenta que, al estar secuenciando cADN, los resultados dependerán siempre de si el gen en cuestión, así como el alelo que

contiene la variante, se expresan y no sufren degradación mediante el mecanismo de *nonsense-mediated mRNA decay*.

Interpretación de variantes

Una vez llevado a cabo el estudio molecular en una muestra con el objetivo de evaluar la presencia de CHIP, ya sea por NGS o mediante otra tecnología, será necesario interpretar los resultados de las variantes obtenidas. Vale la pena mencionar que, si el estudio molecular de la CHIP se lleva a cabo mediante NGS de un panel de genes, en la Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC (GESMD, 2017) se describe con detalle el proceso de análisis de datos de NGS.

Para llevar a cabo una correcta interpretación de los resultados, primero necesitaremos obtener toda la información disponible sobre la/s variante/s a interpretar (anotar la variante), para lo que podemos utilizar numerosos recursos disponibles online, principalmente bases de datos clínicas y algoritmos de predicción, descritos con mayor detalle a continuación. En segundo lugar, y a partir de la información recogida, utilizaremos un algoritmo que nos permita clasificar/categorizar dicha variante, para establecer su patogenicidad y así poder llevar a cabo una correcta interpretación en el contexto clínico. La mayoría de algoritmos de categorización permiten clasificar las variantes en función de si son patogénicas, probablemente patogénicas, de significado incierto, probablemente benignas o benignas.

Es importante remarcar que, tanto en los estudios publicados hoy en día en el ámbito de la CHIP como en la definición propuesta por Steensma y colaboradores, la presencia de cualquier alteración adquirida (somática) en sangre en un gen relacionado con neoplasia hematológica, se considera suficiente para establecer la clonalidad que da nombre al fenómeno de CHIP.¹³ Es decir, en ninguno de estos trabajos se indica que la variante detectada tenga que ser necesariamente patogénica. Como pasa con las variantes detectadas en las neoplasias hematológicas, lo más probable es que el

impacto de las distintas clases de variantes no sea el mismo, y por tanto tampoco su relevancia a nivel clínico. Sin embargo, todavía falta evidencia y se necesitan estudios que evalúen el impacto de la patogenicidad de la variante para poder realizar una recomendación. Por ello, desde el GESMD se recomienda categorizar las variantes de acuerdo con los algoritmos propuestos en esta guía y recoger esta información para poder evaluarla con el tiempo.

Bases de datos

• Bases de datos clínicas

Existen multitud de bases de datos que aportan distinta información sobre las variantes genéticas. En este apartado se recoge una serie de bases de datos disponibles a las que podemos recurrir, clasificadas por el tipo de información que aportan (*Tabla 3*), y se resumen aquellas más relevantes para la categorización de variantes somáticas.

• Bases de datos de secuencias de referencia

En las bases de datos de secuencias de referencia podemos encontrar, visualizar y descargar las secuencias de los genomas de referencia completos de distintos organismos, así como una gran variedad de información relacionada: secuencia genómica, número y secuencia de intrones y exones, transcritos, secuencia proteica, etc. Estas bases se van actualizando a medida que nuevos genomas se van completando y, para los genomas existentes, contienen la información de las distintas versiones que se han ido publicando.

Algunas de estas bases de datos, como el *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), combinan una gran variedad de fuentes primarias de datos: alberga un conjunto de bases de datos de secuencia, taxonomía, genomas o mutaciones, entre otras, y además herramientas como BLAST para búsquedas por similitud de secuencia.

• Bases de datos poblacionales

Estas bases de datos nos facilitan la información de la frecuencia de la variante en la

población general; algunas de las bases de datos incluyen también la frecuencia de distintos grupos poblacionales.

Genome AggregationDatabase (gnomAD): es un proyecto que trata de unir y homogenizar datos de exomas y genomas procedentes de una gran cantidad de proyectos de investigación, y hacer accesible dicha información a la comunidad científica. En su primera versión contenía solo datos de exomas y se denominó *Exome Aggregation Consortium* (ExAC). La nueva versión denominada gnomAD, recoge información de la secuenciación de 125.748 exomas y 15.708 genomas de individuos no relacionados en estudios de enfermedad o genética de poblaciones; en total se incluyen 141.456 individuos alineados contra el genoma de referencia GRCh37. En esta base de datos no se incluyen casos pediátricos con patología severa ni sus familiares de primer grado.

dbSNP Short Genetic Variation: la base de datos dbSNP contiene el registro de variantes humanas frecuentes o con implicaciones clínicas de un único nucleótido, microsatélites y pequeñas inserciones y deleciones acompañadas de publicaciones científicas, la frecuencia poblacional, consecuencia molecular y genómica. Estas variantes tienen un código de referencia rs (*Reference SNP o RefSNP*) de acceso estable en las distintas construcciones del genoma y que facilita los estudios de asociación genómicos, ya que proporciona una anotación estable tanto para variantes polimórficas como patogénicas.

• **Bases de datos de patogenicidad: variantes somáticas y germinales**

Este grupo de bases de datos recoge información sobre la asociación o causalidad entre la presencia de una variante y un fenotipo concreto. A grandes rasgos tenemos dos tipos de variantes: las de origen germinal asociadas a patología constitucional o predisposición a ciertas enfermedades y las de origen somático, adquiridas, presentes en patología tumoral.

Tabla 3. Bases de datos utilizadas para la categorización de variantes genéticas

Bases de datos de secuencias de referencia	
Ensembl genome browser	http://www.ensembl.org/index.html
UCSC genome browser	https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables
NCBI Reference Sequence Database	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome
RefSeqGene	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq
Locus Reference Genomic	https://www.lrg-sequence.org
Base de datos poblacionales	
Genome AggregationDatabase (gnomAD)	http://gnomad.broadinstitute.org/
dbSNP Short Genetic Variation	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/
NHLBI Exome Sequencing Project (ESP) Exome Variant Server	http://evs.gs.washington.edu/EVS/
1,000 Genomes Project	http://phase3browser.1000genomes.org/index.html
dbVar	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar
Bases de datos de variantes somáticas y germinales	
Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)	http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic
ClinVar	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar
Human Gene Mutation Database (HGMD)	http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php
Leiden Open Variation Database (LOVD)	http://www.lovd.nl
Intogen	https://www.intogen.org/search
Bases de datos de genes asociados a patología	
Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)	https://www.omim.org/
Bases de datos de Terapias & Ensayos Clínicos	
REEC Registro Español de Ensayos Clínicos	https://reec.aemps.es/reec/public/WEB.html
EU Clinical Trials Register	https://www.clinicaltrialsregister.eu/
Clinical Trials.gov	https://clinicaltrials.gov/ct2/
Personalized cancer therapy, MD Anderson Cancer Center	https://pct.mdanderson.org
Bases de datos de variantes de proyectos	
NIH National Cancer Institute's Genome Data Commons	https://gdc.cancer.gov
The Cancer Genome Atlas (TCGA)	https://cancergenome.nih.gov/
cBioPortal, Memorial Sloan Kettering Cancer Center	http://www.cbioportal.org
International Cancer Genome Consortium (ICGC)	https://dcc.icgc.org
Bases de datos de variantes específicas de gen	
IARC TP53 mutation database (WHO)	http://p53.iarc.fr/TP53GeneVariations.aspx
The TP53 WEB site	http://p53.fr/
Seshat somatic and germline TP53 variants	http://vps338341.ovh.net/
Bases de datos internas	
RESMDmol	https://www.gesmd.es/carrerasresearch/index.php
Propia del LABORATORIO	-

Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC): es una base de datos pública que recopila información sobre las mutaciones somáticas descritas en cáncer. En esta base una misma variante puede tener diferentes códigos COSMIC asociados a diferentes transcritos; o a información que no ha sido debidamente revisada. Para la categorización tendremos en cuenta en primer lugar que la variante haya sido descrita recurrentemente en tumores hematológicos, y en segundo que esté presente en tumores sólidos.

ClinVar: es una base de datos pública que recoge información sobre la relación de variaciones genéticas humanas y sus fenotipos, apoyada por evidencia. Los alelos descritos son alineados a las secuencias de referencia y publicados de acuerdo a la nomenclatura estándar de la Human Genome Variation Society (HGVS). El nivel de confianza en el valor de la variante y sus implicaciones clínicas depende en gran parte del valor de la evidencia aportada, por lo que es importante tener en cuenta la fecha de publicación, la fuente y el método utilizado. Esta base de datos históricamente ha recogido variantes germinales, pero desde hace unos años incluye también variantes de origen somático.

Otros tipos de bases de datos

Tal y como se recoge en la *Tabla 3*, existen muchos otros tipos de bases de datos que pueden consultarse y que pueden ser de utilidad durante el proceso de interpretación de variantes. Entre ellas tenemos las bases de datos de genes asociados a patología, como la de datos de enfermedades mendelianas OMIM, o las bases de datos de terapias y ensayos clínicos, cuyo objetivo es servir de fuente de información en materia de estudios clínicos. Por otro lado, las bases de datos de variantes de proyectos nacen de grandes proyectos de secuenciación que se han llevado a cabo en los últimos años a nivel internacional y que han generado, a partir de los resultados extraídos, recursos online y bases de datos que ponen a disposición de la comunidad y que se pueden consultar de forma gratuita. En cuanto a las bases de datos de variantes específicas de gen, se encuentran por ejemplo las tres principales bases sobre el gen TP53, el más frecuentemente mu-

tado en cáncer, así como información sobre todas aquellas variantes que se han identificado en este gen.

Finalmente, se recomienda que aquellos laboratorios que trabajen con datos moleculares, y especialmente con datos de secuenciación de NGS, creen sus propias bases de datos internas. Estas bases pueden ser útiles para la detección de variantes recurrentes en los pacientes estudiados, así como para identificar artefactos o errores (de secuenciación o de análisis) que pueden aparecer de forma recurrente en la metodología empleada en el laboratorio. Así mismo, el GESMD ha creado una base de datos interna que recopila la información molecular generada a partir de datos de NGS por los grupos del GESMD, denominada RESMDmol.

Algoritmos de predicción

Los algoritmos *in silico* de predicción son herramientas que se utilizan para pronosticar si una alteración en un gen es capaz de afectar la estructura o función de la proteína para la que codifica. Originalmente, la mayoría de estos algoritmos se desarrollaron y validaron para el análisis de variantes germinales. Posteriormente se incorporaron en la interpretación de variantes somáticas, aunque en el contexto de función génica del cáncer la interpretación de las predicciones no es sencilla, especialmente en las mutaciones activadoras. Por ejemplo, la mutación oncogénica activadora V600E en BRAF es considerada neutral por algunos predictores (como *MutationAssessor*), por lo que se recomienda mucha precaución en la interpretación de los *scores* de predicción y no utilizarlos nunca como única evidencia para la clasificación de una variante o en la toma de decisiones clínicas.

Existen multitud de algoritmos de predicción *in silico* para diferentes tipos de alteraciones. En general, estas herramientas de predicción tienen una especificidad moderada (60-80%) con tendencia a sobredimensionar el efecto, y se pueden clasificar en dos grupos: predictores del impacto de una variante de tipo missense y predictores

del impacto de una variante de *splicing* (Tabla 4). Estas herramientas pueden ser especialmente útiles para la categorización de aquellas variantes que no están descritas en las bases de datos clínicas y cuyo impacto se desconoce, ya que pueden sugerir si el efecto sobre la proteína puede ser deletéreo o no, y por tanto de si es más probable que la variante sea o no patogénica.

Tabla 4: Algoritmos computacionales de predicción del impacto funcional de variantes.

	Algoritmo	Dirección WEB
Missense	PolyPhen2	http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2
	SIFT	https://sift.bii.a-star.edu.sg/
	MutationAssessor	http://mutationassessor.org
	MutationTaster	http://www.mutationtaster.org
	PROVEAN	http://provean.jcvi.org/index.php
	Condel	http://bg.upf.edu/blog/2012/12/condel-for-prioritization-of-variants-involved-in-hereditary-diseases-and-transfc-for-cancer
	CoVEC	https://sourceforge.net/projects/covec/files
	CADD	http://cadd.gs.washington.edu
	GERP++	http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/index.html
	PhyloP and PhastCons	http://compgen.bscb.cornell.edu/phast
Splice site	Human Splicing Finder	http://www.umd.be/HSF3
	MaxEntScan	http://hollywood.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_score_seq.html
	NetGene2	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2
	NNSplice	http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html
	GeneSplicer	http://www.cbcb.umd.edu/software/GeneSplicer/gene_spl.shtml

Algoritmos de categorización de variantes

En la era de la NGS, la categorización sistemática de las variantes somáticas sigue siendo un reto para los laboratorios clínicos, ya que actualmente no está estandarizada. Existe la necesidad de desarrollar nuevas herramientas de interpretación que apoyen la toma de decisiones a partir de la evidencia científica y clínica.

Tabla 5. Criterios de inclusión con evidencia clínica y/o experimental para cada categoría de la AMP/ACMG.⁴⁴

Cat.	Terapia	Diagnóstico & Pronóstico
A	1. Biomarcadores que predicen una respuesta o resistencia a terapias aprobadas por la FDA para un tipo de tumor específico 2. Biomarcadores incluidos en guías profesionales que predicen respuesta o resistencia a terapias para un tipo de tumor específico.	Biomarcadores incluidos en guías profesionales de diagnóstico/pronóstico para un tipo de tumor específico.
B	Biomarcadores que predicen una respuesta o resistencia a terapias para un tipo de tumor específico en base a estudios sólidos con consenso entre expertos en el campo.	Biomarcadores de significado diagnóstico/pronóstico para un tipo de tumor específico en base a estudios sólidos con consenso entre expertos en el campo.
C	1. Biomarcadores que predicen una respuesta o resistencia a terapias aprobadas por la FDA o sociedades profesionales para un tipo de tumor diferente. 2. Biomarcadores que sirven como criterio de inclusión para ensayos clínicos.	Biomarcadores de significado diagnóstico/pronóstico en base a los resultados de múltiples pequeños estudios.
D	Biomarcadores que muestran significado terapéutico plausible en base a estudios preclínicos.	Biomarcadores que pueden ayudar en el diagnóstico/pronóstico de enfermedad por sí mismos o junto con otros biomarcadores en base a pequeños estudios o a unos pocos casos.

Abreviaturas: Cat, categoría; FDA, Food and Drug Administration.

Algoritmo de la AMP/ACMG

En un esfuerzo por unificar criterios de interpretación e informes de resultados moleculares, un grupo multidisciplinar (AMP con representación de la ACMG, ASCO y CAP) estableció en 2017 una serie de recomendaciones para clasificar, anotar, interpretar e informar variantes somáticas. Así, este grupo propone que la interpretación de las variantes (biomarcadores) debe realizarse en base a su impacto clínico, incluyendo las implicaciones terapéuticas, pronósticas, diagnósticas y preventivas.⁴⁴ Se con-

sideran biomarcadores aquellas variantes que afectan al cuidado clínico del paciente. La evidencia empleada para la categorización de una variante puede tener mayor o menor peso en base a su significado a la hora de tomar decisiones clínicas. Este grupo establece 4 clases (*tiers*) según la evidencia experimental y clínica (niveles A, B, C y D).

Estos niveles de evidencia pueden asignarse a las variantes genómicas para determinar el significado de su impacto clínico. Este grupo propone categorizar las variantes de línea somática en 4 clases (I, II, III, IV) en base a su significado clínico (Figura 2).

Los profesionales de diagnóstico molecular también recurren a otro tipo de recursos, como pueden ser el tipo de mutación o las predicciones *in silico*, como apoyo para la clasificación efectiva de una variante particular. Es importante contemplar además la información obtenida a partir de estas fuentes, siendo ésta tratada con atención y juzgada por cada profesional para la categorización basada en evidencia de las variantes encontradas.

Algoritmo del GESMD

En la Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en SMD y LMMC se propone un sistema de categorización de variantes muy parecido al de la AMP/ACMG, donde se establecen 5 clases funcionales. Esta categorización fue actualizada y publicada en 2020.⁴⁵ De acuerdo con este sistema, las variantes se categorizan en patogénica, probablemente patogénica, de significado incierto, probablemente benigna, y benigna, en base a los siguientes criterios:

- Presencia recurrente en bases de datos o en la literatura, que indiquen la patogenicidad o la recurrencia de la variante identificada.
- Tejido y/o histología del tumor en la que se ha descrito la variante.
- Relación causal o accionabilidad del gen afectado por la variante identificada en la patología a estudio.
- Algoritmos de predicción y estudios funcionales.

Tier I Variantes relevantes en la clínica. En diagnóstico, pronóstico o tratamiento.	Tier II Variantes potencialmente relevantes en la clínica. En diagnóstico, pronóstico o tratamiento.	Tier III Variantes con relevancia incierta en la clínica.	Tier IV Variantes benignas o probablemente benignas.
Grado de evidencia A. Tratamiento dirigido aprobado por la FDA. Incluido en Guías Clínicas.	Grado de evidencia C. Tratamiento dirigido aprobado por la FDA para otro tipo de tumores o en investigación clínica.	No ha sido descrita en frecuencia significativa en las poblaciones de datos de población sana o en registros de variantes en cáncer.	Descrita en frecuencia significativa en las bases de datos de población sana.
Grado de Evidencia B. Estudios con suficiente potencia estadística con consenso entre los expertos en el campo.	Grado de Evidencia D. Estudios preclínicos o casos comunicados sin consenso.	No existe evidencia científica publicada convincente de sus asociación con cáncer.	No existe evidencia científica publicada convincente de sus asociación con cáncer

Figura 2. Categorización de variantes en base a la evidencia clínica según los criterios AMP/ACMG. Las variantes somáticas se clasifican en 4 clases (*tiers*). Las variantes de clase I son las de significado clínico más sólido, las de clase II son de posible significado clínico, las de clase III son las variantes de significado incierto y las variantes de clase IV son benignas o probablemente benignas. FDA: Food and Drug Administration. Modificado de Li, et al .⁴⁴

Páginas web o programas de recopilación de información

Por último, se describe una serie de páginas *web* o programas que, sin ser bases de datos propiamente dichas, recopilan gran cantidad de información de muchas de las bases de datos y algoritmos anteriores (Tabla 6). En definitiva, facilitan y agilizan mucho la búsqueda de información sobre una variante.

VarSome, The Human Genomic Variant Search Engine: una de las herramientas más utilizadas es la versión libre de VarSome que, además de aportar una clasificación para las variantes, proporciona información adicional y enlaces a páginas que recogen información de interés, como pueden ser referencias bibliográficas relacionadas, bases de datos poblacionales y mutacionales, algoritmos de predicción, categorización de acuerdo con el algoritmo AMP/ACMG,⁴⁶ etc. VarSome contempla una versión de pago (VarSome Clinical) para el análisis completo de datos de NGS. Presenta dos

espacios diferenciados de análisis para la categorización de variantes germinales y somáticas.

Tabla 6. Lista de web o programas de recopilación de información.

Nombre	Dirección WEB	Tipo
My Cancer Genome	http://www.mycancergenome.org	WEB de acceso libre
VarSome	https://varsome.com/	WEB de acceso libre (parte de la información mediante pago)
Franklin Genoox	https://franklin.genoox.com/clinical-db/home	
Genetic Variant Interpretation Tool	http://www.medschool.umaryland.edu/Genetic_Variant_Interpretation_Tool1.html/	
InterVar	http://wintervar.wglab.org/	
VIC	https://github.com/HGLab/VIC/	
Variant Interpreter	https://variantinterpreter.informatics.illumina.com/home	
Sophia DDM		Software corporativo de SOPHiA Genetics de pago
Cartagenia		Software corporativo de Agilent Technologies de pago
Alamut	https://www.interactive-biosoftware.com/	Software corporativo de Interactive-biosoftware de pago

Franklin Genoox: otro programa online de interés, también basado en la guía de interpretación de variantes de la AMP/ACMG de 2015.⁴⁶ Se trata de una herramienta similar a la de VarSome, con la posibilidad de subir archivos vcf de forma gratuita actualmente. Una de las ventajas que ofrece este programa es que incluye un apartado con información sobre evidencia clínica de las variantes somáticas.

InterVar: herramienta informática que se desarrolló para la interpretación del significado clínico de variantes germinales y utiliza 28 criterios recomendados por la guía AMP/

ACMG de 2015,⁴⁶ 18 de los cuales se generan de manera automática mientras que los otros 10 se ajustan de forma manual.

VIC, Variant Interpretation for Cancer: utilizando procedimientos similares a InterVar, se desarrolló esta herramienta para la interpretación de variantes somáticas en cáncer en base a la guía AMP/ASCO/CAP de 2017 y clasifica las variantes en 4 categorías: (1) marcado significado clínico, (2) potencial significado clínico, (3) significado clínico desconocido, y (4) benigna o probablemente benigna.⁴⁷

Referencias

1. Genovese G, *et al.* Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med.* 2014 Dec 25;371(26):2477-87.
2. Jaiswal S, *et al.* Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med.* 2014 Dec 25;371(26):2488-98.
3. Xie M, *et al.* Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med.* 2014 Dec;20(12):1472-8.
4. Zink F, *et al.* Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly. *Blood.* 2017 Aug 10;130(6):742-752.
5. Coombs CC, *et al.* Therapy-Related Clonal Hematopoiesis in Patients with Non-hematologic Cancers Is Common and Associated with Adverse Clinical Outcomes. *Cell Stem Cell.* 2017 Sep 7;21(3):374-382.e4.
6. Bolton KL, *et al.* Managing Clonal Hematopoiesis in Patients With Solid Tumors. *J Clin Oncol.* 2019 Jan 1;37(1):7-11.
7. Kwok B, *et al.* MDS-associated somatic mutations and clonal hematopoiesis are common in idiopathic cytopenias of undetermined significance. *Blood.* 2015 Nov 19;126(21):2355-61.
8. Malcovati L, *et al.* Clinical significance of somatic mutation in unexplained blood cytopenia. *Blood.* 2017 Jun 22;129(25):3371-3378.
9. Babushok DV, *et al.* Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia. *N Engl J Med.* 2015 Oct 22;373(17):1673.

10. Yoshizato T, *et al.* Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia. *N Engl J Med.* 2015 Jul 2;373(1):35-47.
11. Young AL, *et al.* Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults. *Nat Commun.* 2016 Aug 22;7:12484.
12. Acuna-Hidalgo R, *et al.* Ultra-sensitive Sequencing Identifies High Prevalence of Clonal Hematopoiesis-Associated Mutations throughout Adult Life. *Am J Hum Genet.* 2017 Jul 6;101(1):50-64.
13. Steensma DP, *et al.* Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2015 Jul 2;126(1):9-16.
14. Challen GA, *et al.* Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation. *Nat Genet.* 2011 Dec 4;44(1):23-31.
15. Jeong M, *et al.* Large conserved domains of low DNA methylation maintained by Dnmt3a. *Nat Genet.* 2014 Jan;46(1):17-23.
16. Challen GA, Goodell MA. Clonal hematopoiesis: mechanisms driving dominance of stem cell clones. *Blood.* 2020 Oct 1;136(14):1590-1598.
17. Watson CJ, *et al.* The evolutionary dynamics and fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Science.* 2020 Mar 27;367(6485):1449-1454.
18. Koh KP, *et al.* Tet1 and Tet2 regulate 5-hydroxymethylcytosine production and cell lineage specification in mouse embryonic stem cells. *Cell Stem Cell.* 2011 Feb 4;8(2):200-13.
19. Moran-Crusio K, *et al.* Tet2 loss leads to increased hematopoietic stem cell self-renewal and myeloid transformation. *Cancer Cell.* 2011 Jul 12;20(1):11-24.
20. Jaiswal S, Ebert BL. Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science.* 2019 Nov 1;366(6465):eaan4673.
21. Bondar T, Medzhitov R. p53-mediated hematopoietic stem and progenitor cell competition. *Cell Stem Cell.* 2010 Apr 2;6(4):309-22.
22. Wong TN, *et al.* Rapid expansion of preexisting nonleukemic hematopoietic clones frequently follows induction therapy for de novo AML. *Blood.* 2016 Feb 18;127(7):893-7.
23. Akbari MR, *et al.* PPM1D mutations in circulating white blood cells and the risk for ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2014 Jan;106(1):dj323.
24. Hsu JI, *et al.* PPM1D Mutations Drive Clonal Hematopoiesis in Response to Cytotoxic Chemotherapy. *Cell Stem Cell.* 2018 Nov 1;23(5):700-713.e6.
25. Kahn JD, *et al.* PPM1D-truncating mutations confer resistance to chemotherapy and sensitivity to PPM1D inhibition in hematopoietic cells. *Blood.* 2018 Sep 13;132(11):1095-1105.
26. Wong TN, *et al.* Role of TP53 mutations in the origin and evolution of therapy-related acute myeloid leukaemia. *Nature.* 2015 Feb 26;518(7540):552-555.
27. Gillis NK, *et al.* Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study. *Lancet Oncol.* 2017 Jan;18(1):112-121.
28. Takahashi K, *et al.* Preleukaemic clonal haemopoiesis and risk of therapy-related myeloid neoplasms: a case-control study. *Lancet Oncol.* 2017 Jan;18(1):100-111.
29. Jaiswal S, *et al.* Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017 Jul 13;377(2):111-121.
30. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010 Jan;11(1):31-46.
31. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* 2016 17(6):333.
32. Mamanova L, *et al.* Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat Methods.* 2010 Feb;7(2):111-8.
33. Guillet M, *et al.* Targeted next generation sequencing as a tool for precision medicine. *BMC Med Genomics.* 2019 Jun 3;12(1):81.
34. Bastida JM, *et al.* Molecular Diagnosis of Inherited Coagulation and Bleeding Disorders. *Semin Thromb Hemost.* 2019 Oct;45(7):695-707.
35. Bewicke-Copley F, Arjun Kumar E, Palladino G, Korfi K, Wang J. Applications and analysis of targeted genomic sequencing in cancer studies. *Comput Struct Biotechnol J.* 2019 Nov 7;17:1348-1359.
36. Myllykangas *et al.* Targeted deep resequencing of the human cancer genome using next-generation technologies. *Biotechnol Genet Eng Rev.* 2010; 27:135-158.
37. Klee EW, Hoppman-Chaney NL and Ferber MJ. Expanding DNA diagnostic panel testing: is more better? *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2011;11(7), 703-9.
38. Shendure J, Hanlee J. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotech.* 2008; 26:1135-45.
39. Rennett H, *et al.* Development and validation of a whole-exome sequencing test for simultaneous detection of point mutations, indels and copy-number alterations for precision cancer care. *NPJ Genom Med.* 2016;1:16019.
40. Pareek CS, Smoczynski R, Tretyn A. Sequencing technologies and genome sequencing. *J Appl Genet.* 2011 Nov;52(4):413-35.
41. Sims D, Sudbery I, Ilott NE, Heger A, Ponting CP. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nat Rev Genet.* 2014 Feb;15(2):121-32.

42. Mauricio J. Molecular Biology in Clinical Diagnosis. Rev Med Clin Las Condes. 2015;26(6);788-93.

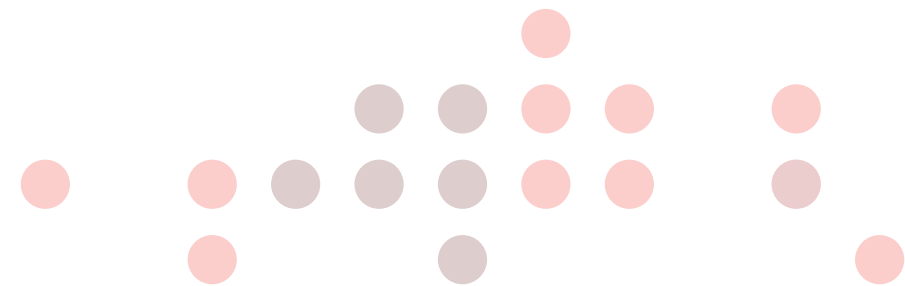
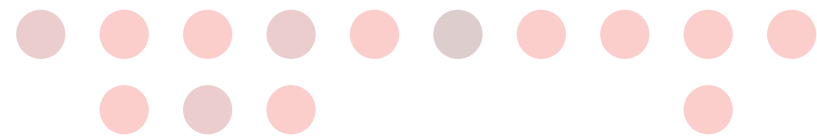
43. Kanagal-Shamanna R. Digital PCR: Principles and Applications. Methods Mol Biol. 2016; 1392:43-50.

44. Li MM, *et al.* Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. J Mol Diagn. 2017 Jan;19(1):4-23.

45. Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD). Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en síndromes mielodisplásicos y leucemia mielomonocítica crónica. Palomo L, *et al* Spanish Guidelines for the use of targeted deep sequencing in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. Br J Haematol. 2020 Mar;188(5):605-622.

46. Richards S, *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015 May;17(5):405-24.

47. He MM *et al.* Variant Interpretation for Cancer (VIC): a computational tool for assessing clinical impacts of somatic variants. Genome Med 2019 Aug 23;11(1):53.



Implicaciones clínicas y pronósticas

Autores: Francisca Hernández, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada; Fernando Ramos, Complejo Asistencial Universitario de León; Joaquín Sánchez García, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba; Ignacio Iglesias Garriz, Complejo Asistencial Universitario de León; José Falantes González, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla; José Antonio Páramo, Clínica Universidad de Navarra; Alejandro Contento Gonzalo, Hospital Universitario Regional de Málaga; Antonieta Molero, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; Elvira Mora, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Ángela Gil, Hospital Universitario de Guadalajara; Ana Alfonso, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona; Andrés Jerez, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia; Julia Montoro, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

- La presencia de CHIP confiere un riesgo aumentado de neoplasias hematopoyéticas en la población general, sobre todo mieloides (1B).
Se han establecido 2 categorías de riesgo (alto y bajo) atendiendo a unas determinadas características (1C).
- La presencia de CHIP confiere un riesgo aumentado de ECV isquémica en la población general (1B).
Se han establecido 2 categorías de riesgo (alto y bajo) atendiendo a unas determinadas características (1C).
- Los pacientes con neoplasias no mieloides y CHIP tienen un riesgo aumentado de NMRT (1B).

CHIP y enfermedad hematológica

La presencia de CHIP aumenta el riesgo de enfermedades hematológicas malignas. En las principales series publicadas, con aproximadamente 30.000 participantes, se observó que la presencia de CHIP se asoció a un riesgo incrementado de desarrollar una neoplasia hematológica, tanto de estirpe mielóide como linfóide.¹⁻³ Aunque el riesgo relativo de hemopatía es alto (entre 4 y 15 veces más, según la serie), el riesgo absoluto es de 0.5%–1% por año, similar al riesgo de transformación de una gammopatía monoclonal de significado incierto a mieloma múltiple o de una linfocitosis B monoclonal a leucemia linfática crónica. Varios estudios han mostrado que el riesgo de desarrollar la hemopatía maligna viene determinado por el tamaño del clon (medido por la VAF), el número de mutaciones y la presencia de mutaciones en genes específicos. Así pues, dos estudios que compararon el perfil mutacional de individuos sanos que posteriormente desarrollaron una LMA con controles de la misma edad y sexo que no desarrollaron LMA, concluyeron que la presencia de mutaciones en genes del splicing (*SRSF2*, *SF3B1* y *U2AF1*), *TP53* e *IDH1/2*, clones de gran tamaño (VAF \geq 10%) y una mayor complejidad clonal (> 1 mutación patogénica) presentaron un riesgo significativamente mayor de evolución a LMA.⁴⁻⁵ En la misma línea, un estudio realizado en pacientes con citopenia clonal (CCUS) mostró que aquellos con mutaciones con una VAF \geq 10% o portadores de más de 1 mutación, tenían un valor predictivo positivo (VPP) para un diagnóstico de neoplasia mielóide de 0.86 y 0.88, respectivamente. Además, la presencia de mutaciones en genes del *splicing* y de patrones de concurrencia que involucraban a los genes *TET2*, *DNMT3* o *ASXL1*, presentaron un VPP para el diagnóstico de neoplasia mielóide próximos a 1. Finalmente, en los pacientes con un diagnóstico no concluyente de hemopatía, la presencia de una CHIP se asoció a una alta probabilidad de desarrollar una neoplasia mielóide durante el seguimiento (HR=13.9; CI 95% 5.4-35.9; probabilidad acumulada de progresión entre los que presentan una HC y los que no a los 5 y 10 años de 82% vs 9% y de 95% vs 9%, respectivamente; P <0.001).⁶

CHIP en pacientes con neoplasias sólidas y tratamiento citotóxico

La prevalencia de HC en pacientes con tumores sólidos en el momento del diagnóstico es superior al de la población general, aproximadamente un 30%,⁷ y es especialmente elevada en aquellos que acaban desarrollando una NMRT (31% vs 71% en pacientes que no desarrollaron una NMRT comparando con los que sí la desarrollaron).^{8,9} Además, la presencia de CHIP en pacientes con tumores sólidos previa al inicio de la quimioterapia incrementa entre 5 y 15 veces el riesgo de desarrollar NMRT en los 10 años siguientes y este riesgo es mayor en presencia de mutaciones *driver* consideradas de riesgo y cuando la carga mutacional VAF es elevada.^{7,9} Cabe destacar que la presencia de mutaciones en *TP53* y *PPMD1*, ambos genes implicados en la reparación del daño en el ADN, son especialmente frecuentes en este contexto clínico, lo que sugiere que los clones portadores de estos genes prosperan con la presión selectiva inducida por el tratamiento con agentes citotóxicos.^{7,8} Los factores que contribuyen a una mayor frecuencia de CHIP en pacientes con tumores sólidos son la exposición previa a quimio-radioterapia y tabaco.⁷ De la misma manera que en la población general, la presencia de CHIP en pacientes con tumores sólidos se ha asociado a una mayor mortalidad. Sin embargo, este peor pronóstico parece que no se justifica por una mayor mortalidad debido a la neoplasia hematológica secundaria, si no por la progresión del tumor primario.⁷

CHIP y trasplante de progenitores hematopoyéticos

Se desconoce el impacto clínico real de la CHIP en el contexto del trasplante de progenitores hematopoyéticos. Debido al riesgo elevado de CHIP en los pacientes sometidos a quimioterapia, los pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) pueden presentar CHIP en su producto de aféresis. Este fenómeno se ha observado en aproximadamente un 30% de los pacientes con linfoma no *Hodgkin* sometidos a TAPH, siendo los genes más frecuentemente mutados *TET2*, *TP53* y *PPM1D*, y supone un riesgo aumentado de desarrollar una NMRT a lo largo de 10 años (14% en portadores vs 4% en no

portadores de CHIP) y de una mortalidad global superior (61% en portadores vs 30% en no portadores de CHIP).¹⁰ Respecto al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, existen datos contradictorios. Hasta la fecha existe solo un estudio que ha comparado el impacto de la CHIP en los receptores de donantes con y sin CHIP. Este estudio encontró un mayor riesgo de enfermedad del injerto contra receptor crónica y, por lo tanto, un riesgo inferior de recaída, pero no de infección, citopenias o supervivencia global.¹¹ Por otra parte, dos *abstracts* publicados recientemente, concluyen resultados opuestos: mientras en uno se observó un mayor riesgo de EICH aguda pero no crónica,¹² en el otro, no se encontró ningún impacto de la CHIP en el trasplante.¹³ Finalmente, un análisis realizado en un solo centro en más de 500 trasplantes consecutivos, observó que los recipientes de donantes con CHIP presentaban un riesgo aumentado de citopenias post-trasplante.¹⁴ Curiosamente, la prevalencia de CHIP en donantes sanos es mayor en familiares de pacientes con neoplasias mieloides (19%) que linfoides (6%), lo que sugiere la existencia de una posible predisposición hereditaria al desarrollo de la CHIP.¹⁵

Definición de individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar neoplasias hematológicas

Como se comenta previamente, aunque la presencia de CHIP confiere un mayor riesgo global de hemopatía maligna, su valor predictivo es bajo y la mayoría de individuos no la desarrollarán. Por ello, es importante conocer qué características de la CHIP confieren un riesgo incrementado de desarrollar una neoplasia hematológica. Así pues, se considera una CHIP de alto riesgo para desarrollar hemopatías malignas la que presente cualquiera de las siguientes características:

- Cualquier mutación asociada a CHIP con una VAF >10%.
- Presencia de ≥ 2 mutaciones asociadas a CHIP (independientemente de la VAF*).
- Mutaciones en los genes *TP53*, *IDH1/2* y genes del *splicing*.

*Siempre que sea $\geq 2\%$.

Aquellos individuos que no presentan ninguna de estas características se consideran individuos con una CHIP de bajo riesgo para desarrollar neoplasias hematológicas.

CHIP y enfermedad cardiovascular

La presencia de CHIP aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV). Jaiswal *et al.*², vincularon por primera vez la CHIP con la ateromatosis y sus consecuencias a partir de los datos de seguimiento de una población de más de 17.000 personas, obtenida por la fusión de 22 cohortes prospectivas recogidas con otros fines. Dicho estudio mostró que, entre las 3.353 personas que habían padecido una cardiopatía isquémica o un ACV isquémico, el riesgo relativo era aproximadamente el doble (2.0 y 2.6, respectivamente) en los que tenían CHIP. El hallazgo fue espectacular, a pesar de que la HR detectada era mucho menor que la de desarrollar una neoplasia hematopoyética (HR 11.1 en la muestra global). El ajuste multivariante solo permitió controlar por el hábito tabáquico, los niveles séricos de colesterol total y los de HDL colesterol, en un pequeño grupo de pacientes. Aún así, el vínculo entre ambos fenómenos fue inesperado, muy atractivo desde el punto de vista intelectual y con un gran impacto clínico potencial, lo que ha motivado hasta hoy más de 1.400 citaciones y multitud de artículos de revisión, tomas de posición y editoriales¹⁶⁻⁴⁵ y ha supuesto un segundo impulso para una nueva disciplina, la llamada “Cardio-Oncología”, que nació a partir de la necesidad de predecir y prevenir las consecuencias cardiológicas de los tratamientos oncológicos^{29,46,47}. El origen hematológico de la CHIP y la participación de alteraciones hematopoyéticas en la génesis de fenómenos trombóticos ha acercado dicha disciplina a la Hematología, con lo que podríamos llamar “Cardio-Oncohematología”.

Posteriormente, en un estudio de casos y controles anidado en una cohorte de 8.255 personas (4.726 pacientes y 3.529 controles) procedente de 4 estudios previos (2 de ellos retrospectivos y los otros 2 prospectivos), Jaiswal y colaboradores⁴⁸ confirmaron sus hallazgos previos al poner de manifiesto una HR mayor de infarto agudo

de miocardio (IAM) y calcificación de las arterias coronarias entre los portadores de CHIP, aunque la presencia de mutaciones en el gen *DNMT3A* solo pudo asociarse a un aumento de riesgo de IAM en 1 de los 4 grupos analizados y el aumento de riesgo de calcificación coronaria solo se observó en aquellos con VAF >10%. El aumento de riesgo de IAM y otros eventos trombóticos también se ha observado en los pacientes con SMD que presentan mutaciones en los genes *JAK2* y *TP53*.⁴⁹

La ateromatosis es una enfermedad que afecta a los vasos de tamaño grande y mediano y cuya patogenia ha sufrido un cambio radical en las últimas décadas. De ser una aparente acumulación pasiva de lípidos en la pared arterial, se ha transformado en un proceso en el que el daño endotelial conduce a procesos proliferativos subendoteliales con gran protagonismo de células de origen monocitario y ulterior acumulación de lípidos, en la que el inflammasoma ha adquirido un papel fundamental.^{50,51} El hecho de que los monocitos tengan un origen hematopoyético subyace al aparente vínculo entre la CHIP y la enfermedad cardiovascular, con el envejecimiento del individuo como común denominador.⁵²⁻⁵⁴

Estudios epidemiológicos

Los estudios epidemiológicos descritos más arriba y otros posteriores⁵⁵⁻⁵⁸ han puesto de manifiesto un aparente aumento de riesgo de muerte de origen cardiovascular, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca de origen isquémico, accidentes cerebrovasculares y estenosis valvular aórtica degenerativa calcificada, así como de empeoramiento de su pronóstico, en los pacientes con CHIP. Casi todos ellos se basan en análisis retrospectivos de cohortes prospectivas bien caracterizadas de pacientes con patología cardiovascular, o de personas sanas que habían sido seguidas por motivos epidemiológicos o de salud pública.

Dorsheimer y colaboradores,⁵⁵ analizaron una cohorte prospectiva de 200 pacientes con insuficiencia cardiaca de origen isquémico en clase funcional II-III de la

NYHA, entre los que detectaron un 18.5% de casos con CHIP (definida como VAF ≥ 2%). Aunque los pacientes con CHIP tenían una edad superior y mayor frecuencia de HTA que los que tenían la conción wild-type, el riesgo relativo de muerte, ajustado por edad e hipertensión arterial, era de 2.11 (IC 95% 1.05-4.24) entre los que presentaban CHIP por mutación en *DNMT3A* o *TET2*. La HR de muerte en pacientes con múltiples eventos de insuficiencia cardiaca, ajustada por edad e hipertensión arterial, era de 2.09 (IC 95% 1.10-3.95). También comprobó que la supervivencia global y la supervivencia libre de evento eran mayores en aquellos con una VAF <1% y que existía relación directa entre la VAF y el riesgo (*Figura 3*).

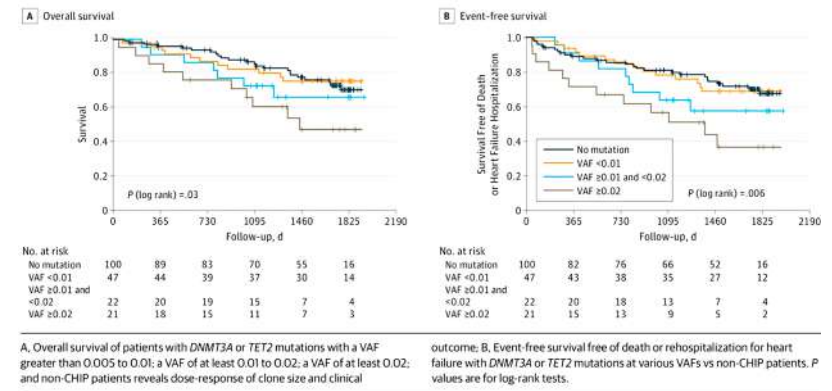


Figura 3. Tomado de *Dorsheimer*, 2019.

En apoyo del papel que el aumento de expresión del gen de la IL6 podría tener como paso intermedio para el aumento del riesgo cardiovascular a través de la activación del inflammasoma en los pacientes con CHIP, *Bick* y colaboradores⁵⁶ han descrito recientemente a través del estudio del exoma de una cohorte prospectiva de 35.416 individuos con muestras almacenadas en el biobanco del Reino Unido, que los pacientes que presentan de forma concomitante CHIP con muta-

ción de los genes *DNMT3A* o *TET2* y la mutación inactivadora *IL6R p.Asp358Ala* en el gen del receptor de la IL6, presentan una atenuación del riesgo que se observa en los pacientes *wild-type*, lo que sugiere que el control farmacológico de la actividad de IL6 podría reducir el riesgo cardiovascular de las personas con CHIP por mutación en los genes antes mencionados. Los datos de este trabajo son concordantes con los hallazgos de Busque y colaboradores⁵⁷ que han descrito recientemente un aumento de los niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad en los 427 sujetos con CHIP (22.6%) procedentes de una cohorte de 1.887 sujetos mayores de 70 años con muestras almacenadas en el biobanco del Instituto del Corazón de Montreal de los cuales 1.359 tenían historia de cardiopatía isquémica.

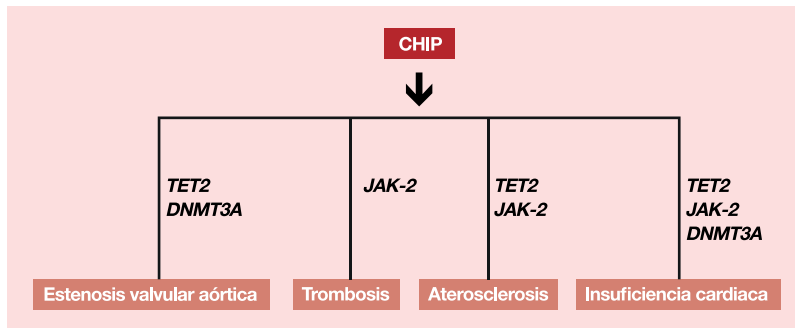


Figura 4. Genes asociados a CHIP implicados en la patología cardiovascular. Cortesía del Dr. J.A. Páramo.

Otro trastorno cardiovascular en el que la inflamación crónica tiene un papel relevante es la estenosis valvular aórtica de origen degenerativo. En un grupo de 279 pacientes del Hospital Universitario de Frankfurt con estenosis severa y sometidos a procedimientos de recambio valvular por vía femoral, Mas-Peiro y colaboradores⁵⁸ han comu-

nicado recientemente la presencia de CHIP en 93 de ellos (33.3%). La supervivencia a 8 meses de los pacientes con una intervención exitosa fue peor en los que tenían una CHIP en los genes *DNMT3A* o *TET2* que en los que no la tenían, incluso si se prescindía de los eventos que tuvieron lugar en los primeros 30 días de la intervención.

Por último, es bien conocida la asociación entre la menopausia precoz/prematura y la enfermedad cardiovascular. Recientemente se ha descrito la asociación entre la presencia de CHIP y el desarrollo de menopausia prematura (antes de los 40 años). Las pacientes con CHIP tienen un OR de menopausia natural prematura de 1,73, que aumenta a 1,91 en aquellas con una VAF igual o superior al 10%. En el análisis de genes específicos, la asociación solo fue estadísticamente significativa con las mutaciones de *DNMT3A*.⁵⁹ A partir de estos datos, la menopausia natural prematura podría ser considerada un factor de riesgo/marcador de CHIP y de ECV asociada a CHIP.

Estudios experimentales

La aplicación simple de los criterios epidemiológicos de causalidad conduce a concluir que la evidencia epidemiológica disponible no es suficiente para establecer una relación causal entre CHIP y enfermedad cardiovascular, ya que la ausencia de estudios de intervención no permite excluir la posibilidad de que existan diversos tipos de sesgo. Por esta razón, se han efectuado diversos estudios experimentales^{48,59-64} que pretenden aportar una base científica a los hallazgos epidemiológicos. Entre ellos debemos destacar el estudio pionero de *Jaiswal* y colaboradores,⁴⁸ que complementaron su estudio epidemiológico con un trabajo efectuado en ratones predispuestos a la aterosclerosis (por ser deficientes en el receptor de LDL colesterol) a los que el trasplante hematopoyético de una pequeña proporción de progenitores carentes del gen *TET2* provocó un aumento de la acumulación de macrófagos en las placas de ateroma y la consiguiente aceleración de la aterosclerosis. Posteriormente Fuster y colaboradores⁶⁰ reprodujeron los hallazgos y confirmaron que la aceleración de la aterosclerosis estaba mediada por un aumento de secreción

de IL1 β con participación del inflamasoma NLRP3 y que la inhibición de dicha vía tenía en ellos un potente efecto protector. Este modelo, incluyendo la participación de la IL1 β activada por la vía citada, ha sido reproducido también por Sano y colaboradores,⁶¹ tomando como diana en vez de las placas de ateroma un modelo de insuficiencia cardíaca provocada por constricción aórtica, o ligadura de la arteria descendente anterior.

Mediante técnicas de CRISPR con la utilización de vectores lentivirales, se ha demostrado que los mecanismos por los que las mutaciones de *TET2* y *DNMT3A* provocan un aumento de la inflamación son distintos: mientras que la inactivación de *TET2* provoca una elevación de IL1 β , IL6 y CCL5, la pérdida de función de *DNMT3A* conduce a un aumento de expresión de CXCL1, CXCL2, IL6 y CCL5.⁶² El efecto de las mutaciones de *TET2* sobre la función cardíaca también ha sido demostrado recientemente por otros dos grupos de investigación independientes.^{63,64}

El mecanismo por el cual las mutaciones en *JAK2* provocan un aumento de los fenómenos aterotrombóticos tiene también relación con el aumento de los fenómenos inflamatorios locales en la placa de ateroma, en este caso mediados por un aumento de la acumulación local de hierro,⁶⁶ que conduce a la ulceración de la placa y su siguiente inestabilidad.

Como síntesis final, recomendamos al lector interesado la excelente revisión sobre la relación entre la CHIP y la enfermedad cardiovascular publicada recientemente por Min y colaboradores.⁴⁵ Podemos concluir que existe una evidencia epidemiológica y experimental importante que, aunque no lo prueba de forma definitiva, apoya la existencia de un vínculo etiológico entre la CHIP y la enfermedad cardiovascular (Figura 4). La participación de la HC estaría probablemente vinculada a la pérdida de función del gen *TET2*, que conduciría a una activación del inflamasoma, o bien al aumento de función del gen *JAK2*, que facilitaría la trombosis mediante la acu-

mulación de hierro en la placa de ateroma, mientras que la existencia de mutaciones en *DNMT3A* provocaría un aumento de la relación entre los linfocitos Th17 y los Treg, que acentuaría los procesos inflamatorios locales. En el caso de los otros genes involucrados, la implicación patogénica todavía no tiene una argumentación clara. La activación del inflamasoma podría modularse clínicamente con agentes dirigidos a IL6 o IL1 β (p.ej. canakinumab), lo que abre interesantes perspectivas terapéuticas.

Definición de individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular

Con todo lo anterior, se consideran individuos con CHIP de alto riesgo para desarrollar ECV aquellos con cualquiera de las siguientes características:

- Presencia de variantes patogénicas y recurrentes en el gen *JAK2* (cualquier VAF*).
- Cualquier mutación asociada a CHIP con una VAF >10%

*Siempre que sea $\geq 2\%$.

Aquellos individuos que no cumplan ninguna de estas características, se consideran individuos con una CHIP de bajo riesgo para desarrollar ECV.

CHIP debido a variación en el número de copias (CNV)

Tal y como se comenta en la introducción de estas guías, de acuerdo con la definición propuesta por Steensma y colaboradores, la presencia de una CNV que afecte a uno o más genes implicados en neoplasias hematológicas, también es consistente con una CHIP.⁶⁶ Aunque las implicaciones de este tipo de alteraciones no han sido tan ampliamente estudiadas como las de las mutaciones (SNV/*indels*), sí hay cierta evidencia de su relevancia clínica. Recientemente se publicó un análisis llevado a cabo en un total de 11.234 individuos (10.623 seleccionados al azar sin historia previa de cáncer y 611 seleccionados por haber desarrollado una neoplasia hematológica con los años) con datos mutacionales y de SNP-arrays (información de CNVs y regiones con pérdidas de

heterocigosidad o LOHs).⁶⁷ En este estudio se describió la presencia de mutaciones (VAF > 0,5%) en el 27% de los individuos y de CNVs/LOHs (fracción celular > 0,2%) en el 20% de los casos. De forma global, un 41% de la cohorte tenía HC, es decir, al menos un tipo de alteración (40% de los casos seleccionados al azar y 56% de los casos seleccionados por desarrollar una neoplasia hematológica), y un 7% de la cohorte (16% de los casos con HC) presentaron ambos tipos de alteraciones (mutaciones y CNV/LOH), y tanto el número total de alteraciones como el tamaño del clon se asociaron a alteraciones en el hemograma y a una mayor mortalidad por neoplasia hematológica. En una pequeña fracción de los individuos (1%), además, se pudo demostrar la presencia de estos dos tipos de alteraciones que afectaban al mismo locus y que se detectaban en el mismo clon, incluyendo mutaciones de DNMT3A en clones con LOH de 2p, mutaciones de *TET2* con LOH de 4q, mutaciones de *JAK2* con LOH de 9p y mutaciones de *TP53* con del(17p) o LOH de 17p. La coocurrencia de estos eventos se asoció a una mayor mortalidad por neoplasia hematológica. En cuanto a la mortalidad por eventos cardiovasculares, la presencia de mutaciones sí se asoció a una mayor mortalidad, mientras que las CNVs/LOHs no tuvieron ningún efecto.

Bibliografía

1. Genovese G, *et al.* Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med.* 2014 Dec 25;371(26):2477-87.
2. Jaiswal S, *et al.* Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med.* 2014 Dec 25;371(26):2488-98.
3. Xie M, *et al.* Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med.* 2014 Dec;20(12):1472-8.
4. Abelson, S. *et al.* Prediction of acute myeloid leukaemia risk in healthy individuals. *Nature.* 559, 400–404 (2018).
5. Desai P, Mencia-Trinchant N, Savenkov O, *et al.* Somatic mutations precede acute myeloid leukemia years before diagnosis. *Nat Med.* 2018;24(7):1015–1023
6. Malcovati L, Galli A, Travaglino E, *et al.* Clinical significance of somatic mutation in unexplained blood cytopenia. *Blood* 129:3371-3378, 2017
7. Catherine C Coombs , Ahmet Zehir , Sean M Devlin , *et al.* Therapy-Related Clonal Hematopoiesis in Patients with Non-hematologic Cancers Is Common and Associated with Adverse Clinical Outcomes. *Cell Stem Cell.* 2017 Sep 7;21(3):374-382.e4
8. Gillis NK, Ball M, Zhang Q, *et al.* Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study. *Lancet Oncol.* 2017 Jan;18(1):112-121. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30627-1. Epub 2016 Dec 4. PMID: 27927582
9. Takahashi K, Wang F, Kantarjian H, *et al.* Preleukaemic clonal haemopoiesis and risk of therapy-related myeloid neoplasms: A case-control study. *Lancet Oncol.* 18:100-111, 2017.
10. Gibson CJ, Lindsley RC, Tchekmedyian V, *et al.* Clonal Hematopoiesis Associated With Adverse Outcomes After Autologous Stem-Cell Transplantation for Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2017 May 10;35(14):1598-1605. doi: 10.1200/JCO.2016.71.6712. Epub 2017 Jan 9. PMID: 28068180
11. Frick M, Chan W, Arends CM, *et al.* Role of Donor Clonal Hematopoiesis in Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol.* 2019 Feb 10;37(5):375-385. doi: 10.1200/JCO.2018.79.2184. Epub 2018 Nov 7. PMID: 30403573 Clinical Trial.
12. Oran B, Champlin RE, Wang F, *et al.* Donor clonal hematopoiesis increases risk of acute graft versus host disease after matched related transplantation in AML and MDS patients. *Blood.* 2019;134(1).
13. Kim KH. No impact of donor's age-related clonal hematopoiesis (ARCH) observed on graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: result from bar-coded error corrected sequencing in 33 gene mutations on 372 pairs of donor and recipient. *Blood.* 2019;134(1).
14. Gibson CJ, Kennedy JA, Nikiforow S, *et al.* Donor-engrafted CHIP is common among stem cell transplant recipients with unexplained cytopenias. *Blood.* 2017;130(1):91-94.

15. Buscarlet M, Provost S, Zada YF, *et al.* DNMT3A and TET2 dominate clonal hematopoiesis and demonstrate benign phenotypes and different genetic predispositions. *Blood*. 2017;130(6):753-762.
16. Dragoljevic D, Westerterp M, Veiga CB, Nagareddy P, Murphy AJ. Disordered hematopoiesis and cardiovascular disease: a focus on myelopoiesis. *Clin Sci (Lond)*. 2018;132(17):1889-1899. doi: 10.1042/CS20180111.
17. Ebert BL, Libby P. Clonal Hematopoiesis Confers Predisposition to Both Cardiovascular Disease and Cancer: A Newly Recognized Link Between Two Major Killers. *Ann Intern Med*. 2018 Jul 17;169(2):116-117. doi: 10.7326/M18-0737.
18. Fuster JJ, Walsh K. Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis: Unexpected Potential New Drivers of Age-Related Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2018;122(3):523-532. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312115.
19. Libby P, Ebert BL. CHIP (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential): Potent and Newly Recognized Contributor to Cardiovascular Risk. *Circulation*. 2018;138(7):666-668. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034392.
20. Calvillo-Argüelles O, Jaiswal S, Shlush LI, Moslehi JJ, Schimmer A, Barac A, Thavandiranathan P. Connections Between Clonal Hematopoiesis, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Review. *JAMA Cardiol*. 2019;4(4):380-387. doi: 10.1001/jamacardio.2019.0302.
21. Haybar H, Shahrabi S, Ghanavat M, Khodadi E. Clonal hematopoiesis: Genes and underlying mechanisms in cardiovascular disease development. *J Cell Physiol*. 2019;234(6):8396-8401. doi: 10.1002/jcp.27752.
22. Libby P, Molinaro R, Sellar Rob S, Ebert Benjamin L. Jak-ing Up the Plaque's Lipid Core... and Even More. *Circulation Research* 2018;123: 1180-1182.
23. Natarajan P, Jaiswal S, Kathiresan S. Clonal Hematopoiesis: Somatic Mutations in Blood Cells and Atherosclerosis. *Circ Genom Precis Med*. 2018;11(7):e001926. doi: 10.1161/CIRCGEN.118.001926.
24. Páramo Fernández JA. Atherosclerosis and clonal hematopoiesis: A new risk factor. *Clin Investig Arterioscler*. 2018;30(3):133-136. doi: 10.1016/j.arteri.2018.03.001.
25. Páramo Fernandez JA. Is clonal hematopoiesis a new risk factor for cardiovascular diseases?: Clinical and experimental evidences. *Med Clin (Barc)*. 2018;151(5):207-209. doi: 10.1016/j.medcli.2018.04.007.
26. Sano S, Wang Y, Walsh K. Clonal Hematopoiesis and Its Impact on Cardiovascular Disease. *Circ J*. 2018;83(1):2-11. doi:10.1253/circj.CJ-18-0871.
27. Steensma DP. Clinical consequences of clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018;2018(1):264-269. doi: 10.1182/asheducation-2018.1.264.
28. Khetarpal SA, Qamar A, Bick AG, Fuster JJ, Kathiresan S, Jaiswal S, Natarajan P. Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential Reshapes Age-Related CVD: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(4):578-586. doi: 10.1016/j.jacc.2019.05.045.
29. Libby P, Kobold S. Inflammation: a common contributor to cancer, aging, and cardiovascular diseases-expanding the concept of cardio-oncology. *Cardiovasc Res* 2019;115:824-829.
30. Libby P, Sidlow R, Lin AE, Gupta D, Jones LW, Moslehi J *et al.* Clonal Hematopoiesis: Crossroads of Aging, Cardiovascular Disease, and Cancer: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(4):567-577. doi: 10.1016/j.jacc.2019.06.007.
31. Libby P, Jaiswal S, Lin AE, Ebert BL. CHIPping Away at the Pathogenesis of Heart Failure. *JAMA Cardiol*. 2019;4(1):5-6. doi: 10.1001/jamacardio.2018.4039.
32. Lim GB. Clonal haematopoiesis predicts poor prognosis in heart failure. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16(3):132. doi: 10.1038/s41569-019-0156-7.
33. Patel AP, Natarajan P. Completing the genetic spectrum influencing coronary artery disease: from germline to somatic variation. *Cardiovasc Res*. 2019;115(5):830-843. doi: 10.1093/cvr/cvz032.
34. Amorós-Pérez M, Fuster JJ. Clonal hematopoiesis driven by somatic mutations: A new player in atherosclerotic cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2020;297:120-126. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.02.008.
35. Bazeley P, Morales R, Tang WHW. Evidence of Clonal Hematopoiesis and Risk of Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2020. doi: 10.1007/s11897-020-00476-w.
36. Evans MA, Sano S, Walsh K. Cardiovascular Disease, Aging, and Clonal Hematopoiesis. *Annu Rev Pathol*. 2020;15:419-438. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032544.
37. Ferrone CK, Blydt-Hansen M, Rauh MJ. Age-Associated TET2 Mutations: Common Drivers of Myeloid Dysfunction, Cancer and Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(2):626. doi: 10.3390/ijms21020626.
38. Jaiswal S, Libby P. Clonal haematopoiesis: connecting ageing and inflammation in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(3):137-144. doi: 10.1038/s41569-019-0247-5.
39. Jung C, Evans MA, Walsh K. Genetics of age-related clonal hematopoiesis and atherosclerotic cardiovascular disease. *Curr Opin Cardiol*. 2020;35(3):219-225. doi: 10.1097/HCO.0000000000000726.
40. Kumar P, Kopecky SL, Yang EH, Oren O. Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential and Cardiovascular Disease. *Curr Oncol Rep*. 2020;22(9):87. doi: 10.1007/s11912-020-00955-2.
41. Papa V, Marracino L, Fortini F, Rizzo P, Campo G, Vaccarezza M, Vieceli Dalla Sega F. Translating Evidence from Clonal Hematopoiesis to Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2020;9(8):E2480. doi: 10.3390/jcm9082480.

42. Pardali E, Dimmeler S, Zeiher AM, Rieger MA. Clonal hematopoiesis, aging, and cardiovascular diseases. *Exp Hematol.* 2020;83:95-104. doi:10.1016/j.exphem.2019.12.006.
43. Veninga A, De Simone I, Heemskerck JWM, Cate HT, van der Meijden PEJ. Clonal hematopoietic mutations linked to platelet traits and the risk of thrombosis or bleeding. *Haematologica.* 2020;105(8):2020-2031. doi: 10.3324/haematol.2019.235994.
44. Poller WC, Nahrendorf M, Swirski FK. Hematopoiesis and Cardiovascular Disease. *Circ Res.* 2020;126(8):1061-1085. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.315895.
45. Min KD, Kour A, Sano S, Walsh K. The role of clonal haematopoiesis in cardiovascular diseases: epidemiology and experimental studies. *J Intern Med.* 2020. doi: 10.1111/joim.13130. Epub ahead of print.
46. Sidlow R, Lin AE, Gupta D, Bolton KL, Steensma DP, Levine RL *et al.* The Clinical Challenge of Clonal Hematopoiesis, a Newly Recognized Cardiovascular Risk Factor. *JAMA Cardiol.* 2020. doi: 10.1001/jamacardio.2020.1271. Epub ahead of print.
47. Bolton KL, Zehir A, Ptashkin RN, Patel M, Gupta D, Sidlow R *et al.* The Clinical Management of Clonal Hematopoiesis: Creation of a Clonal Hematopoiesis Clinic. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2020;34(2):357-367. doi: 10.1016/j.hoc.2019.11.006.
48. Jaiswal S, Natarajan P, Silver AJ, Gibson CJ, Bick AG, Shvartz E *et al.* Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017;377(2):111-121. doi: 10.1056/NEJMoa1701719.
49. Naqvi K, Sasaki K, Montalban-Bravo G, Alfonso Pierola A, Yilmaz M, Short N *et al.* Clonal hematopoiesis of indeterminate potential-associated mutations and risk of comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome. *Cancer.* 2019;125(13):2233-2241. doi: 10.1002/cncr.32056.
50. Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, Gregson J, Willeit P, Gorman DN *et al.* IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta- analysis of 82 studies. *Lancet* 2012;379:1205-13.
51. Swerdlow DI, Holmes MV, Kuchenbaecker KB, Engmann JE, Shah T, Sofat R *et al.* The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet* 2012;379:1214- 24.
52. Libby P. Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy: Biological Basis of CANTOS and Beyond. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2278-2289.
53. Murphy AJ, Tall AR. Disordered haematopoiesis and athero-thrombosis. *Eur Heart J.* 2016;37(14):1113-21. doi: 10.1093/eurheartj/ehv718.
54. Aviv A, Levy D. Hemothelium, Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential, and Atherosclerosis. *Circulation* 2019;139:7-9.
55. Dorsheimer L, Assmus B, Rasper T, Ortman CA, Ecke A, Abou-El-Ardat K *et al.* Association of Mutations Contributing to Clonal Hematopoiesis With Prognosis in Chronic Ischemic Heart Failure. *JAMA Cardiol.* 2019;4(1):25-33. doi: 10.1001/jamacardio.2018.3965.
56. Bick AG, Pirruccello JP, Griffin GK, Gupta N, Gabriel S, Saleheen D *et al.* Genetic Interleukin 6 Signaling Deficiency Attenuates Cardiovascular Risk in Clonal Hematopoiesis. *Circulation.* 2020;141(2):124-131. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044362.
57. Busque L, Sun M, Buscarlet M, Ayachi S, Feroz Zada Y, Provost S *et al.* High-sensitivity C-reactive protein is associated with clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Blood Adv.* 2020;4(11):2430-2438. doi:10.1182/bloodadvances.2019000770.
58. Mas-Peiro S, Hoffmann J, Fichtlscherer S, Dorsheimer L, Rieger MA, Dimmeler S *et al.* Clonal haematopoiesis in patients with degenerative aortic valve stenosis undergoing transcatheter aortic valve implantation. *Eur Heart J.* 2020;41(8):933-939. doi: 10.1093/eurheartj/ehz591.
59. Honigberg MC, Zekavat SM, Niroula A, Griffin GK, Bick AG, Pirruccello JP *et al.*; NHLBI Transomics for Precision Medicine Program, Natarajan P. Premature Menopause, Clonal Hematopoiesis, and Coronary Artery Disease in Postmenopausal Women. *Circulation.* 2021;143(5):410-423. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.051775.
60. Fuster JJ, MacLauchlan S, Zuriaga MA, Polackal MN, Ostriker AC, Chakraborty R *et al.* Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science.* 2017;355(6327):842-847. doi:10.1126/science.aag1381.
61. Sano S, Oshima K, Wang Y, MacLauchlan S, Katanasaka Y, Sano M *et al.* Tet2-Mediated Clonal Hematopoiesis Accelerates Heart Failure Through a Mechanism Involving the IL-1 β /NLRP3 Inflammasome. *J Am Coll Cardiol.* 2018;71(8):875-886. doi: 10.1016/j.jacc.2017.12.037.
62. Sano S, Oshima K, Wang Y, Katanasaka Y, Sano M, Walsh K. CRISPR-Mediated Gene Editing to Assess the Roles of Tet2 and Dnmt3a in Clonal Hematopoiesis and Cardiovascular Disease. *Circ Res.* 2018;123(3):335-341. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313225.
63. Miura-Yura E, Kour A, Evans MA, Zuriaga MA, Hirschi KK, Fuster JJ *et al.* Tet2-mediated clonal hematopoiesis in nonconditioned mice accelerates age-associated cardiac dysfunction. *JCI Insight.* 2020;5(6):e135204. doi:10.1172/jci.insight.135204.
64. Wang Y, Sano S, Yura Y, Ke Z, Sano M, Oshima K *et al.* Tet2-mediated clonal hematopoiesis in nonconditioned mice accelerates age-associated cardiac dysfunction. *JCI Insight.* 2020;5(6):e135204. doi: 10.1172/jci.insight.135204.
65. Wang W, Liu W, Fidler T, Wang Y, Tang Y, Woods B *et al.* Macrophage Inflammation, Erythrophagocytosis, and Accelerated Atherosclerosis in Jak2 V617F Mice. *Circ Res.* 2018;123(11):e35-e47. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313283.
66. Steensma, D. P. *et al.* Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 126, 9-16 (2015).
67. Ryunosuke Saiki, Yukihide Momozawa, Yasuhito Nannya, Masahiro M. Nakagawa, Yotaro Ochi, *et al.* Combined landscape of single-nucleotide variants and copy number alterations in clonal hematopoiesis. *Nature Medicine* volume 27, pages1239-1249 (2021).

Pruebas diagnósticas complementarias

Autores: Teresa Arquero, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; María Leonor Senent, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Elvira Mora, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Marta Martín-Izquierdo, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Iria Vázquez, CIMA LAB Diagnostics Universidad de Navarra, Pamplona; Mireia Atance, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; Leonor Arenillas, Hospital del Mar, Barcelona; Ana Vicente, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Irene Luna, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Esperanza Such, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Marian Ibáñez, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Antonieta Molero, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; María Hernández-Sánchez, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Sofía Toribio, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; María Julia Montoro, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

- Ante el hallazgo de una HC se debe confirmar si cumple criterios de CHIP (grado de recomendación 1C).
- Se recomienda realizar una valoración del riesgo cardiovascular por un especialista en todos los pacientes con recién diagnóstico de CHIP (grado de recomendación 1C).

Como ya se ha mencionado con anterioridad, el incremento de estudios genéticos ha hecho que el diagnóstico de una HC sea cada vez más frecuente en la práctica diaria. Ante el hallazgo de una HC se recomienda confirmar, mediante la realización de una anamnesis exhaustiva y pruebas complementarias, si cumple los criterios diagnósticos de una CHIP.¹⁻⁴ En ausencia de unas guías basadas en la evidencia, los objetivos de los dos próximos capítulos (capítulos 7 y 8) han sido establecer las pruebas diagnósticas que permitan un diagnóstico de certeza de CHIP, los estudios complementarios necesarios una vez diagnosticada la CHIP y el seguimiento clínico de estos sujetos, a partir de los datos publicados más sólidos hasta el momento y de la experiencia de determinados centros.^{5,6}

Estudios iniciales ante el hallazgo de una hematopoyesis clonal

Se considera imprescindible realizar en todos los individuos (independientemente del contexto clínico):

Historia clínica y exploración física

Es necesario recoger en la historia clínica la exposición a tóxicos (incluyendo el tabaco), metales pesados o productos químicos; también se debe recoger la exposición a radioterapia o el tratamiento con quimioterapia, inmunosupresores y/o inmunomoduladores. Se debe investigar antecedentes familiares de enfermedades hematológicas benignas o malignas, así como de enfermedades neoplásicas no hematológicas. La exploración física debe reseñar la existencia de visceromegalias y/ o adenopatías.

Estudio en sangre periférica

La mayoría de estos estudios van dirigidos a descartar causas secundarias de mielodisplasia.

- **Hemograma** completo que incluya: recuento absoluto de leucocitos y plaquetas. Recuento absoluto y relativo de neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, basófilos y monocitos. Cifra de hemoglobina y de hematocrito. Parámetros de serie eritroide: VCM, HCM,

CHCM, ADE y recuento de reticulocitos (no es infrecuente en la CHIP encontrar un aumento del volumen corpuscular medio o de la amplitud de la distribución eritrocitaria).^{1,7,8}

- **Frotis de sangre periférica** sin anticoagulante o < 2 horas con EDTA, teñido con la tinción panóptica tipo May-Grünwald Giemsa, en el que se realizará:
 - Fórmula leucocitaria manual sobre 200 células nucleadas.
 - Valoración de rasgos de mielodisplasia (diseritropoyesis, disgranulopoyesis distrombopoyesis) y la presencia de linfocitos atípicos.⁹⁻¹²
- **Bioquímica básica** que incluya función renal, hepática y niveles de LDH.
- **Función tiroidea:** TSH y T4.
- **Niveles de vitamina B12, ácido fólico y perfil férrico** (sideremia, transferrina, ferritina, índice de saturación de la transferrina, y si es necesario, receptor soluble de la transferrina).
- **Proteinograma** e inmunolectroforesis sérica.
- **Serología de VHB, VHC y VIH.**
- **Perfil básico de autoinmunidad:** factor reumatoide y anticuerpos antinucleares.

En algunos casos, además, puede ser necesario:

- **Citometría de flujo** en el caso de linfocitosis, neutropenia, monocitopenia o linfocitos atípicos en el frotis.
- **Exclusión de hemoglobinuria paroxística nocturna** en el caso de anemia y signos de hemólisis.
- **Exclusión de mutación germinal** en los casos en que la VAF > 30% en los genes de predisposición de línea germinal (*RUNX1*, *GATA2*, *DDX41*, *TP53*, *ETV6*, *CEBPA* y *ANKR26*) o en aquellos casos en que existan criterios clínicos de cáncer hereditario.¹³
- **Estudio de médula ósea.** La necesidad de realizar un estudio medular al diagnóstico vendrá determinado por la existencia de citopenia/s no justificadas, alteraciones morfológicas en el frotis de sangre periférica y la presencia de una CHIP clasificada como alto riesgo de desarrollar una neoplasia hematológica (remitirse al capítulo 6).^{2,6,8,14} La decisión de realizar un aspirado o una biopsia vendrá determinado por la

sospecha diagnóstica. En este sentido, aunque el mayor riesgo es el de progresión a SMD o LMA, también se han descrito linfomas, mielomas y neoplasias mieloproliferativas. Durante el seguimiento, se recomienda repetir el estudio medular siempre que aparezcan nuevas citopenias, se observe un empeoramiento de las mismas o un incremento de la VAF.

Si todo lo anterior confirma que el hemograma es normal (o que la citopenia está justificada por causas secundarias), que no existe una hemopatía maligna, que la VAF $\geq 2\%$ y que el gen mutado es un gen recurrente en las neoplasias hematológicas, se confirma el diagnóstico de CHIP.

Es importante remarcar que la presencia de CHIP por sí sola no es sinónimo de enfermedad y que, además, no existe ninguna intervención activa que modifique la CHIP. Por ello, se debe individualizar en cada caso el riesgo/beneficio de confirmar la presencia de una CHIP.

Estudios complementarios tras la confirmación de una CHIP

Evaluación del riesgo cardiovascular

Cada vez parece más evidente que la presencia de CHIP se debe considerar un factor de riesgo independiente para el desarrollo, progresión y peor pronóstico de la ECV.¹⁵⁻²² Por ello, se recomienda realizar una evaluación del riesgo cardiovascular por un cardio-oncohematólogo en todos los portadores, especialmente en los que presenten otros factores de riesgo CV y aquellos que han recibido o vayan a recibir tratamiento citotóxico.²³⁻²⁸ De manera general y en base a las Guías Americanas de Prevención Primaria de Enfermedad Cardiovascular,²⁹ se recomienda realizar estudio del colesterol HDL y LDL, triglicéridos, niveles de hemoglobina glicosilada HbA1, tensión arterial sistólica y diastólica, frecuencia cardiaca e índice de masa corporal. También es importante conocer la presencia de una patología cardiovascular previa, la historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz, el hábito tabaquico y la actividad física. Es posible que en algunos casos sea necesario realizar pruebas de imagen como un ecocardiograma, *ecodoppler* de carótidas o un TAC de arterias coronarias.

Es probable que en un futuro, a medida que se conozca la relación de la CHIP con otros sistemas de nuestro organismo, sea necesario la valoración de estos sujetos por más especialistas.

Tabla 1. Pruebas diagnósticas para el diagnóstico de certeza de CHIP y estudios complementarios una vez diagnosticada la CHIP.

Pruebas complementarias	Imprescindibles	A valorar
Confirmación CHIP /Diagnóstico Diferencial	Historia clínica y Exploración física. <ul style="list-style-type: none"> • Hemograma. • Frotis de sp. • Bioquímica básica: función renal, hepática, LDH. • Función tiroidea: TSH y T4. • Niveles de vitamina B12, ácido fólico y perfil férrico (sideremia, transferrina, ferritina, índice de saturación de la transferrina). • Proteinograma e inmunolectroforesis sérica. • Serología de VHB, VHC y VIH. • Perfil básico de autoinmunidad: FR y ANA. Inmunofenotipo en sp si procede.	Estudio de mutación germinal: si VAF>30% o en aquellos casos en que exista una historia familiar clara de neoplasias. BMO si: <ul style="list-style-type: none"> • Dudas diagnósticas. • Diagnóstico diferencial con SMD. • Presencia de citopenias leves o alteraciones morfológicas en el frotis. • Presencia de 2 o más mutaciones. • Presencia de variantes de alto riesgo de progresión como por ejemplo variantes en TP53 con VAF >10%.
Tras confirmación CHIP	Valoración del Riesgo Cardiovascular: <ul style="list-style-type: none"> • FRCV: obesidad, sedentarismo, tabaco, patología inflamatoria crónica o historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz. • Análítica: Colesterol HDL y LDL, triglicéridos, HbA1. • Constantes: TAS/TAD, FC e IMC. 	Manejo Multidisciplinar <ul style="list-style-type: none"> • ECG • Ecocordio-TT • <i>Ecodopler</i> de carótidas • AngioTAC de coronarias • Otras

Bibliografia

1. David P Steensma, MD. www.uptodate.com©2020
2. Steensma DP. Clinical consequences of clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Blood Adv* 2018; 2:3404-102
3. Mili Jain & Anil Tripathi (2017); ICUS/CCUS/CHIP: basics & beyond, Expert Review of Hematology, DOI: 10.1080/17474086.2017.1371588
4. Alexander J. Silver, Siddhartha Jaiswal. Clonal hematopoiesis: Pre-cancer PLUS. *Advances in Cancer Research*. Vol 14. ISSN 0065-230X
5. Gondek L P; DeZern AE. Assessing clonal haematopoiesis: clinical burdens and benefits of diagnosing myelodysplastic syndrome precursor states. *LancetHaematol*. 2020 January; 7(1): e73–e81. doi:10.1016/S2352-3026(19)30211-X.
6. Steensma DP. Clinical implications of clonal hematopoiesis. *Mayo Clin Proc* 2018; 93:1122-30.
7. Cazzola M. Myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med* 2020; 383:1358-74
8. Malcovati L, Galli A, Travaglini E, Ambaglio I, Rizzo E, Molteni E, et al. Clinical significance of somatic mutation in unexplained blood cytopenia. *Blood* 2017; 129:3371-8.
9. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserrjan RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 2015; 126:9-16
10. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (Eds): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC: Lyon 2017
11. Florensa L: Guías Españolas SMD y LMMC, 2ª ed (2020).
12. Valent P, Orazi A, Steensma DP, Ebert BL, Haase D, Malcovati L, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. *Oncotarget* 2017;8: 73483- 500.
13. West AH, Godley LA, Churpek JE. Familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia syndromes: a review and utility for translational investigations. *Ann N Y Acad Sci*. 2014 Mar;1310(1):111-8.
14. Bolton KL, Zehir A, Ptashkin RN, Patel M, Gupta D, Sidlow R, et al. The Clinical Management of Clonal Hematopoiesis: Creation of a Clonal Hematopoiesis Clinic. *HematolOncolClin North Am*. 2020 Apr;34(2):357–67
15. Jaiswal S, Natarajan P, Ebert BL. Clonal hematopoiesis and atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2017; 377:1401–1402.31.
16. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014;371:2488–2498.
17. Jaiswal S Natarajan P, Silver AJ, et al. Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017;377:111–121.
18. Dorsheimer L, Assmus B, Rasper T, et al. Association of mutations contributing to clonal hematopoiesis with prognosis in chronic ischemic heart failure. *JAMA Cardiol*. 2019;4:25–33.
19. Evans MA, Sano S, Walsh K. Cardiovascular Disease, Aging, and Clonal Hematopoiesis. *Annu Rev PatholMech Dis*. 2020 Jan 24;15(1):419–38.
20. Natarajan P, Jaiswal S, Kathiresan S. Clonal Hematopoiesis. *CircGenomPrecis Med*. 2018 Jul;11(7):787
21. Pardali E, Dimmeler S, Zeiher AM, Rieger MA. Clonal hematopoiesis, aging, and cardiovascular diseases. *Experimental Hematology*. 2020 Mar;83:95–104.
22. Jaiswal S, Libby P. Clonal haematopoiesis: connecting ageing and inflammation in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Mar;17(3):137–44.
23. Bolton KL, Gillis NK, Coombs CC, Takahashi K, Zehir A, Bejar R, et al. Managing Clonal Hematopoiesis in Patients With Solid Tumors. *JCO*. 2019 Jan 1;37(1):7–11.
24. Papa V, Marracino L, Fortini F, Rizzo P, Campo G, Vaccarezza M, VieceliDalla Sega F. Translating Evidence from Clonal Hematopoiesis to Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2020 Aug 2;9(8):2480. doi: 10.3390/jcm9082480. PMID: 32748835; PMCID: PMC7465104.
25. Swisher EM, Harrell MI, Norquist BM, et al. Somatic Mosaic Mutations in PPM1D and TP53 in the Blood of Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol*. 2016;2(3):370–372.
26. Hsu JI, Dayaram T, Tovy A, et al. PPM1D Mutations Drive Clonal Hematopoiesis in Response to Cytotoxic Chemotherapy. *Cell Stem Cell*. 2018;23(5):700–713.e6. doi:10.1016/j.stem.2018.10.004
27. Nawas MT, Schetelig J, Damm F, Levine RL, Perales MA, Giralt SA, VanDenBrink MR, Arcila ME, Zehir A, Papaemmanuil E, Klussmeier A, Schmidt AH, Maiwald S, Bolton KL, Tamari R. The clinical implications of clonal hematopoiesis in hematopoietic cell transplantation. *Blood Rev*. 2021 Mar;46:100744.
28. Boettcher S, Wilk CM, Singer J, Beier F, Burcklen E, Beisel C, Ventura Ferreira MS, Gourri E, Gassner C, Frey BM, Schanz U, Skoda RC, Ebert BL, Brummendorf TH, Beerewinkel N, Manz MG. Clonal hematopoiesis in donors and long-term survivors of related allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2020 Apr 30;135(18):1548-1559.
29. Arnett DK, Khera A, Blumenthal RS. 2019 ACC/AHA guideline on the primary prevention of cardiovascular disease: part 1, lifestyle and behavioral factors. *JAMA Cardiol* 2019.

Recomendaciones para el seguimiento clínico de los individuos con CHIP

Autores: Francisca Hernández, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada; Fernando Ramos, Complejo Asistencial Universitario de León; Ana Alfonso, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona; Ignacio Iglesias Garriz, Complejo Asistencial Universitario de León; María Leonor Senent, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Teresa Arquero, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; Josep Nomdedeu, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona; Laura Palomo, Vall d'Hebron Institute of Oncology, Barcelona; Mónica del Rey, Centro de Investigación del Cáncer, Hospital Universitario de Salamanca; Francesc Solé, Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras, Badalona; Bárbara Tazón, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; María Julia Montoro, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; Andrés Jerez, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia.

- El seguimiento clínico debe ser en función del grupo de riesgo de la CHIP.
- En la CHIP de alto riesgo se recomienda un estudio medular basal y la monitorización molecular (grado de recomendación 2C).
- En la CHIP de bajo riesgo es suficiente con un hemograma anual (grado de recomendación 2C).
- Se recomienda hacer un estudio medular cuando se produzca un aumento de la VAF, aparición de nuevas mutaciones o profundización de las citopenias, independientemente del riesgo inicial (grado de recomendación 1C).
- En todos los pacientes con CHIP (alto y bajo riesgo) se debe evaluar el riesgo CV por un especialista e intevenir si se considera necesario (grado de recomendación 1C).

Debido a las implicaciones diagnósticas, clínicas y pronósticas de la CHIP, así como el rápido avance en el conocimiento de esta entidad, se aconseja que estos sujetos sean controlados en centros que dispongan de unidades multidisciplinarias especializadas que incluyan un hematólogo, biólogo molecular, cardiólogo, internista y un psicooncólogo.

En el capítulo 6 se detallan los criterios de una CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar neoplasias hematológicas y ECV.

Seguimiento de los individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar neoplasias hematológicas

Las recomendaciones para el seguimiento de los sujetos con CHIP de alto riesgo de desarrollar neoplasia hematológicas son:

- La realización de un estudio medular basal con la finalidad de descartar una neoplasia hematológica oculta, o bien, disponer de una médula inicial con la que poder comparar con estudios posteriores.
- La monitorización semestral del hemograma. Ante un empeoramiento de las citopenias de etiología no filiada se debe realizar un nuevo estudio medular.
- La monitorización anual de la carga mutacional. Ante un aumento significativo de la VAF o la incorporación de nuevas mutaciones se debería valorar caso a caso la realización de un nuevo estudio medular. Por otra parte, es importante realizar el seguimiento de la carga mutacional con la misma técnica con la que se detectó.

Las recomendaciones para el seguimiento de los sujetos con CHIP de bajo riesgo de desarrollar neoplasia hematológicas son:

- Monitorización anual del hemograma. Ante un empeoramiento de las citopenias de etiología no filiada se debe realizar un estudio medular.
- No se recomienda realizar un estudio medular basal ni la monitorización de la carga mutacional.

Seguimiento de los individuos con CHIP de alto y bajo riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular

En el momento actual, la CHIP no está incluida en los índices pronósticos de riesgo cardiovascular ni en las guías clínicas. Asimismo, no existe ninguna estrategia que haya demostrado disminuir el riesgo de ECV en las personas con CHIP y el uso de antiagregantes u otros antiinflamatorios como prevención primaria no está establecido. Es especialmente controvertido el uso de aspirina a bajas dosis en los casos de CHIP con mutación en *JAK2* V617F, en el contexto de un riesgo incrementado de ECV respecto otras mutaciones CHIP y su uso como tromboprolifaxis en las neoplasias mieloproliferativas. Sin embargo, no existe ningún estudio al respecto y, por lo tanto, no es posible realizar una recomendación general del uso de aspirina en individuos con una CHIP debida a mutaciones en *JAK2*.

Por todo lo anterior, se recomienda realizar una estrategia de prevención mediante la evaluación individualizada del riesgo cardiovascular en todos los pacientes con CHIP (independientemente de si se trata de una CHIP de alto o bajo riesgo) por un especialista y establecer pautas de prevención cardiovascular dirigidas a mitigar un incremento del riesgo.¹

¿Se debe hacer screening de CHIP?

No se recomienda realizar screening de CHIP de forma generalizada fuera de estudios de investigación ya que no existe, por el momento, ninguna estrategia terapéutica que haya demostrado disminuir el riesgo de desarrollar las enfermedades a las que predispone ser portador de una CHIP (neoplasias hematológicas y ECV). Es bien conocido que los pacientes con cáncer sólido tienen un mayor riesgo de ECV y de NMRT por el cáncer en sí mismo y por el tratamiento antineoplásico, lo que se podría justificar por una mayor prevalencia de CHIP en esta población.^{2,3} Por ello, puede considerarse hacer *screening* de mutaciones CHIP en aquellos pacientes con neoplasias sólidas con una supervivencia esperada >5 años. Igualmente, puesto que

cada vez es más evidente que la CHIP es un factor de riesgo CV independiente,⁴ se puede valorar el estudio de CHIP en aquellos individuos jóvenes con ECV de etiología desconocida y/o sin factores de riesgo conocidos.

Un tema controvertido es el de analizar la presencia de CHIP en los donantes de progenitores hematopoyéticos y en los pacientes que van a ser sometidos a un TAPH. El donante puede transferir una HC al receptor a través del trasplante de progenitores hematopoyéticos y, por lo tanto, en base a los estudios en la población general, es presumible la presencia de un mayor número de complicaciones hematológicas, como la leucemia derivada del donante y no hematológicas, como la ECV. Sin embargo, en el momento actual, no se aconseja realizar un *screening* en estos casos por las siguientes razones:

- Científicas: no se conoce el impacto real de la CHIP en el contexto del trasplante hematopoyético. En este sentido, se han descrito mutaciones en DNMT3A procedentes del donante en cinco de seis pacientes trasplantados con citopenia persistente de causa no justificada.⁵ Sin embargo, otro estudio retrospectivo comparó los efectos de la CHIP en el postrasplante de pacientes trasplantados de donantes con CHIP y demostró una mayor enfermedad injerto contra receptor (EICR) crónica y un menor riesgo de recaída, sin tener un impacto en el riesgo de infecciones, citopenias o supervivencia global.⁶ Es importante tener en cuenta que ninguno de estos estudios analizó el impacto de las variables biológicas que podrían influir en los resultados. Por otra parte, otros dos estudios publicados recientemente reportan resultados contradictorios, uno muestra un mayor riesgo de EICR aguda pero no crónica,⁷ mientras que el otro no muestra ningún impacto de la CHIP en la EICR.⁸ El desarrollo de una leucemia derivada del donante es una de las complicaciones más temidas. Sin embargo, se trata de una complicación muy rara (<1%) y tardía.^{9,10} Por otra parte, se desconoce si los receptores de una HC presentan un mayor riesgo de transformación a LMA y ECV que el descrito en la población normal.

- Técnicas: No existe una estandarización internacional en la definición ni la metodología diagnóstica de la CHIP, ni tampoco una estructura sanitaria que pueda afrontar las consecuencias de este hallazgo (consejo genético, pruebas complementarias y seguimiento clínico).

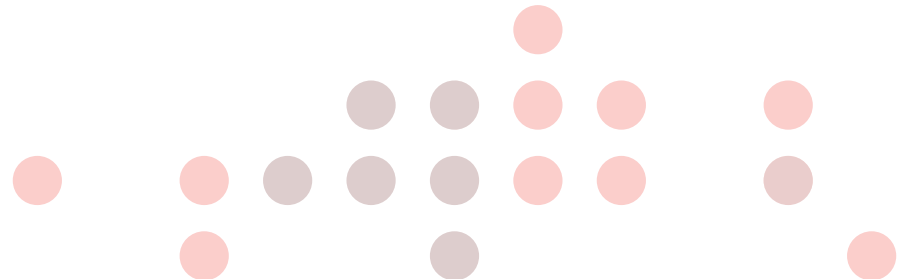
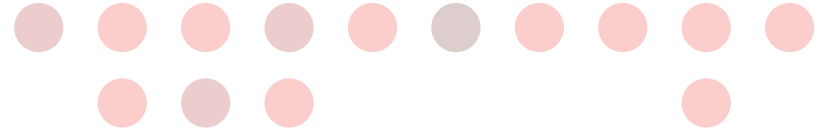
- Éticas: la ausencia de intervención (por ahora no existe ningún tratamiento que mejore o elimine el clon), así como las implicaciones psicológicas que puede suponer este diagnóstico en los individuos sanos.

Se debe informar previamente a la realización del estudio de CHIP sobre las consecuencias conocidas de ser portador, así como de la posibilidad de otras desconocidas en estos momentos, y de la falta de evidencia de intervenciones terapéuticas en el caso de un resultado positivo. Es muy recomendable que estos individuos sean valorados por un psico-oncólogo.

- Se podría considerar realizar un *screening* de CHIP en pacientes con neoplasias no mieloides con una supervivencia esperada prolongada y en aquellos con ECV sin factores de riesgo conocidos (2C).
- No se recomienda hacer un *screening* de CHIP en los donantes de progenitores hematopoyéticos ni en los pacientes que van a ser sometidos a un trasplante hematopoyético autólogo (2C).

Bibliografia

1. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M et al; ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227-3337. doi: 10.1093/eurheartj/ehab484.
2. Matthias Totzeck , Martin Schuler , Martin Stuschke , Gerd Heusch, Tienush Rassaf. Cardio-oncology - strategies for management of cancer-therapy related cardiovascular disease. *Int J Cardiol*. 2019;1;280:163-175.
3. Morton LM, Dores GM, Tucker MA, et al. Evolving risk of therapy-related acute myeloid leukemia following cancer chemotherapy among adults in the United States, 1975-2008. *Blood*. 2013;121(15):2996-3004.
4. Jaiswal, S. et al. Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med*. 377, 111–121 (2017).
5. Gibson CJ, Kennedy JA, Nikiforow S, et al. Donor-engrafted CHIP is common among stem cell transplant recipients with unexplained cytopenias. *Blood*. 2017;130(1):91-94.
6. Frick M, Chan W, Arends CM, et al. Role of donor clonal hematopoiesis in allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2019;37(5):375-385.
7. Oran B, Champlin RE, Wang F, et al. Donor clonal hematopoiesis increases risk of acute graft versus host disease after matched related transplantation in AML and MDS patients. *Blood*. 2019;134(1).
8. Kim KH. No impact of donor's age-related clonal hematopoiesis (ARCH) observed on graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: result from bar-coded error corrected sequencing in 33 gene mutations on 372 pairs of donor and recipient. *Blood*. 2019;134(1).
9. M Kato T Yamashita , R Suzuki et al., Donor cell-derived hematological malignancy: a survey by the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Leukemia* (2016) 30, 1742–1792.
10. Lukasz P Gondek , Gang Zheng, Gabriel Ghiaur. Donor cell leukemia arising from clonal hematopoiesis after bone marrow transplantation. *Leukemia* (2016) 30(9):1916-1920.



Síndrome de Vexas

Autores: María Julia Montoro, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona;
Andrés Jerez, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia.

Debido a la reciente descripción de esta entidad, a que es una consecuencia de una HC y a que también se relaciona con neoplasias hematológicas (principalmente SMD), se ha incluido este síndrome en el presente documento. A continuación, se resaltan los aspectos más importantes del síndrome de VEXAS.

El síndrome de VEXAS (acrónimo que proviene de las palabras en inglés: *vacuoles, E1 enzyme, X-linked, autoinflammatory, somatic*) se describe por primera vez en el año 2020 cuando Beck y colaboradores¹, con el fin de identificar mutaciones en genes relacionados con la vía de la ubiquitinación-proteasoma (vía conocida por estar implicada en varias enfermedades autoinflamatorias),² analizan el exoma de sangre periférica de 2560 adultos con enfermedades autoinflamatorias sin diagnosticar y detectan en 25 hombres la presencia de variantes somáticas patogénicas en heterocigosis en el gen *UBA1* (en el codón p.Met41) en los progenitores hematopoyéticos. Este gen se localiza en el cromosoma X y codifica la enzima activadora del modificador similar a la ubiquitina 1 (enzima fundamental para el inicio de la ubiquitinización citoplasmática, proceso mediante el cual las proteínas mal plegadas se degradan por la vía del proteosoma). Mutaciones en p.Met41 resultan en una depleción de la isoforma citoplasmática de *UBA1* y, como consecuencia, conllevan a un descenso de la ubiquitinación y una activación de la respuesta inmune innata. Cabe destacar que, a pesar de que la mutación de *UBA1* tiene lugar a

nivel de los progenitores hematopoyéticos, en sangre periférica se encuentra restringida a la línea mielo-monocitaria, no encontrándose en los linfocitos maduros, lo que sugiere que las células mieloides con la mutación sobreviven y maduran mientras que los linfocitos *UBA1* mutados son seleccionados negativamente en la médula ósea.

Clínicamente se caracteriza por la aparición de síndromes autoinflamatorios en hombres entre la quinta y la séptima década de la vida (mediana de edad de 64 años) como el síndrome de Sweet, policondritis recidivantes, poliarteritis nodosa, arteritis de células gigantes o fiebre recurrente, que además son refractarios al tratamiento inmunosupresor con glucocorticoides o fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad. A nivel analítico presentan una anemia macrocítica (96-100% de los casos)^{1,3} con elevación de los reactantes de fase aguda (proteína C reactiva y factor de necrosis tumoral), interleukina-6 e interferón- γ , y en medula ósea es frecuente observar rasgos displásicos siendo la vacuolización en los precursores mieloides y eritroides lo más característico. Además, también es frecuente (un 44% de los casos) la presencia de eventos tromboticos venosos, probablemente debido a la formación espontánea de trampas extracelulares de neutrófilos o NETs (neutrophil extracellular traps) por parte de los neutrófilos *UBA1* mutados.¹

La asociación entre enfermedades autoinmunes y neoplasias mieloides está bien descrita en la literatura sin que se conozca completamente la causa.^{4,5} En este sentido, el síndrome de VEXAS establece una conexión para la coocurrencia de estas dos entidades tan heterogéneas. Así pues, un 25-55% de los pacientes con VEXAS presentan un SMD.^{1,6,7} Sin embargo, *UBA1* no es un gen que se encuentre recurrentemente mutado en los SMD y se desconoce si representa un nuevo *driver* para el desarrollo de neoplasias mieloides. Otra hipótesis sería que la coincidencia de estas 2 entidades podría ser debida a la selección de clones en un microambiente inflamatorio. Finalmente, se desconoce el perfil molecular de los pacientes con VEXAS. Se han reportado dos casos con mutaciones en *DNMT3A* con VAFs de 43% y 44%,

respectivamente, otro con una mutación en *CSF1R* con una VAF del 3% y otro paciente con una mutación en *GNA11* con una VAF del 3%.³ Una mejor caracterización molecular del síndrome de VEXAS podría contribuir a un mejor conocimiento del rol de la inflamación en la fisiopatología de los SMD.

Estos pacientes se caracterizan por un pronóstico desfavorable con un mortalidad de un 40% debido a la progresiva disregulación inmune y fallo medular.¹ Además, como ya se ha comentado anteriormente, presentan una respuesta pobre al tratamiento inmunosupresor convencional y, debido a la naturaleza clonal de la enfermedad, a la progresiva hiperinflamación y a la predisposición a neoplasias hematológicas, se debe considerar el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en casos seleccionados.

Bibliografía

1. David B Beck , Marcela A Ferrada , Keith A Sikora, et al. Somatic Mutations in *UBA1* and Severe Adult-Onset Autoinflammatory Disease. *N Engl J Med.* 2020 31;383(27):2628-2638.
2. Aksentjevich I, Zhou Q. NF- κ B pathway in autoinflammatory diseases: dysregulation of protein modifications by ubiquitin defines a new category of autoinflammatory diseases. *Front Immunol* 2017; 8:399.
3. Ifeyinwa Emmanuela Obiorah, David B. Beck, Weixin Wang et al. Myelodysplasia and Bone Marrow Manifestations of Somatic *UBA1* Mutated Autoinflammatory Disease. *Blood* (2020) 136 (Supplement 1): 20–21.
4. Huijun Huang, Wenjun Zhang, Wenyu Cai, et al. VEXAS syndrome in myelodysplastic syndrome with autoimmune disorder. *Exp Hematol Oncol.* 2021 10:23
5. Komrokji RS, Kulasekararaj A, Al Ali NH, et al. Autoimmune diseases and myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* (2016) 91:280–283
6. Julia Montoro, Laura Gallur, Brayan Merchán, et al. Autoimmune disorders are common in myelodysplastic syndrome patients and confer an adverse impact on outcomes. *Annals of Hematology* (2018) 97:1349–1356.
7. Bourbon E, Heiblig M, Gerfaud Valentin M, et al. Therapeutic options in VEXAS syndrome: insights from a retrospective series. *Blood.* 2021;137(26):3682-3684.
8. Poulter JA, Collins JC, Cargo C, et al. Novel somatic mutations in *UBA1* as a cause of VEXAS syndrome. *Blood.* 2021;137(26):3676-3681.

Informe diagnóstico

Autores: María Julia Montoro, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona;
Andrés Jerez, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia;
Francesc Solé, Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras, Badalona

Modelo de informe diagnóstico

A continuación, el grupo de trabajo detalla una propuesta de informe del estudio de mutaciones mediante panel de NGS.

En cursiva y en gris se indican aquellas partes del informe que deberían rellenarse en cada laboratorio según la metodología específica utilizada.

Datos de la muestra

Centro de procedencia		
Solicitante		
Nombre:		
NHC:		
Antecedentes patológicos:		
Muestra		
Fecha:		
Código/ID:		Tipo:

Consentimiento informado

Fecha de emisión del informe:		
Informe realizado por: Dr.		Informe revisado por: Dr.
Firma:		Firma:
Unidad/Servicio:		Unidad/Servicio:

Anexo

• Genes y regiones incluidas en el panel

En el panel se incluyen los siguientes genes y regiones (a continuación, incluir una donde se detallen los genes incluidos en el panel, así como las regiones estudiadas, ya sea toda la región codificante, solo algunos exones o hotspots concretos, y también si se analizan regiones flanqueantes).

• Categorización de las variantes

Especificar el sistema de categorización que se haya empleado para categorizar las variantes, ya sea el algoritmo de la AMP/ACMG o el algoritmo del GESMD.

• Limitaciones

No pueden ser identificadas mediante esta prueba:

- Hay regiones codificantes de los genes analizados que pueden no haberse cubierto al 100%.
- *Esta tecnología no permite identificar translocaciones ni variaciones en el número de copias (CNV).*
- No se incluyen variantes en el ADN no codificante, pseudogenes, regiones repetitivas, o alteraciones epigenéticas.
- Hay regiones del genoma cuyas características hace que no sea posible determinar con exactitud los cambios en la secuencia (ej. regiones homopoliméricas >8 nucleótidos).
- La presencia de variantes poco frecuentes en la secuencia de ADN podría impedir la obtención de un número suficiente de secuencias amplificadas, dificultando la obtención de un resultado fiable para esa región del genoma.
- Ninguna variante se considera por debajo de 10/25 lecturas (especificar el número de lecturas mínimo que se haya empleado como criterio mínimo para reportar una variante), por tanto, pueden existir variantes reales en la muestra que no se hayan comunicado por estar bajo el umbral de sensibilidad que se ha establecido.

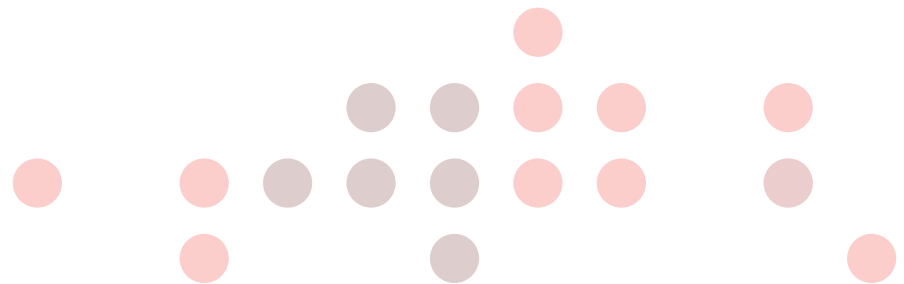
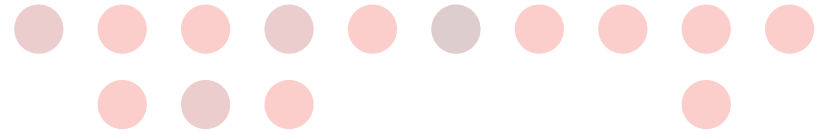
Consideraciones: el estudio se ha realizado con ADN procedente de muestra sangre periférica, por lo que no se han realizado estudios específicos para descartar o confirmar alteraciones germinales potencialmente hereditarias. Si se sospecha una enfermedad hereditaria, su médico debe referirle a una consulta de consejo genético.

• Cláusula de exención de responsabilidad diagnóstica

Los servicios de asistencia al diagnóstico genético con secuenciación masiva de

ADN están destinados exclusivamente a profesionales de la salud cualificados para su interpretación. Los resultados obtenidos mediante estos estudios y la información que se pueda derivar de los mismos no pueden ser considerados en ningún caso como sustitutivos del consejo diagnóstico o tratamiento médico de un profesional especializado, ni constituyen por sí mismos una consulta médica. Los resultados obtenidos mediante determinaciones analíticas basadas en secuenciación masiva de ADN han de ser interpretadas, junto con otros datos clínicos, dentro del contexto general de una consulta médica que ha de estar dirigida por profesionales especialistas en diagnóstico genético y/o clínico. El (*nombre centro*) no se hace responsable del uso que haga el contratante de sus servicios ni de los resultados obtenidos mediante sus análisis de estudios, así como tampoco de las eventuales consecuencias perjudiciales derivadas de este uso, haciendo expresa reserva de ejercer las acciones legales oportunas en el supuesto de un uso indebido de los citados estudios y análisis.

Los datos obtenidos en este estudio son confidenciales y se regulan según la ley de protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, revisada el 6 de marzo de 2011).



Registro

Cuaderno de recogida de datos (CRD)

Se ha creado un Registro de Español de CHIP (RECHIP) que se incluye dentro del Registro Español de SMD donde se recogen los datos clínicos y biológicos de la CHIP. A continuación se detallan los datos solicitados para completar el CRD.

CRD

Nuevo paciente

NIP:

NHC: número historia clínica del centro

Sexo: Hombre/Mujer

Fecha nacimiento: dd/mm/aaaa

Peso: kilogramos

Altura: cm

IMC: kg/m2

Antecedentes patológicos antes de la CHIP

Fumador: Sí / No

Exfumador: n° cigarros/día:

Fumador: n° cigarros/día:

HTA: Sí / No

Diabetes: Sí / No

Insulinodependiente: Sí / No

Dislipemia: Sí / No

Enfermedad cardiovascular: Sí / No

En caso de respuesta afirmativa:

Infarto agudo de miocardio

Enfermedad coronaria

Esclerosis valvular aórtica

Insuficiencia cardíaca

Fibrilación auricular

Accidente cerebrovascular: Sí / No

En caso de respuesta afirmativa:

Isquémico Hemorrágico

Trombosis periférica arterial/venosa:

Sí / No

Antecedentes de neoplasia 1: Sí / No

• Fecha de diagnóstico: dd/mm/aaaa

Tipo de neoplasia:

cerebral

cabeza y cuello

pulmón

mama

cardíaca

gástrica

colon

recto

anal

renal

suprarrenal

próstata

testicular

pene

ovario

vagina

ósea

melanoma

neuroendocrina

linfoma B

linfoma T

mieloma

• Quimioterapia: Sí / No

Fecha inicio: dd/mm/aa

Cisplatino: Sí / No

Etopósido: Sí / No

Antraciclinas: Sí / No

• Radioterapia: Sí / No

Fecha inicio: dd/mm/aa

Dosis de Grays:

Antecedentes de neoplasia 2:

Sí / No

• Fecha de diagnóstico: dd/mm/aaaa

Tipo de neoplasia:

cerebral

cabeza y cuello

pulmón

mama

cardíaca

gástrica

colon

recto

anal

renal

suprarrenal

próstata

testicular

pene

ovario

vagina

ósea

melanoma

neuroendocrina

linfoma B

linfoma T

mieloma

CRD

• Quimioterapia: Sí / No

Fecha inicio: dd/mm/aa

Cisplatino: Sí / No

Etopósido: Sí / No

Antraciclinas: Sí / No

• Radioterapia: Sí / No

Dosis de Grays:

Fecha inicio: dd/mm/aa

Antecedentes de neoplasia 3: Sí / No

• Fecha de diagnóstico: dd/mm/aaaa

Tipo de neoplasia:

cerebral

cabeza y cuello

pulmón

mama

cardíaca

gástrica

colon

recto

anal

renal

suprarrenal

próstata

testicular

pene

ovario

vagina

ósea

melanoma

neuroendocrina

linfoma B

linfoma T

mieloma

• Quimioterapia: Sí / No

Fecha inicio: dd/mm/aa

Cisplatino: Sí / No

Etopósido: Sí / No

Antraciclinas: Sí / No

• Radioterapia: Sí / No

Dosis de Grays:

Fecha inicio: dd/mm/aa

Datos analíticos al diagnóstico de la CHIP

Fecha diagnóstico CHIP: dd/mm/aa

Hb g/L:

VCM fL:

ADE %:

Leucocitos x109/L:

Neutrófilos x109/L:

Monocitos x109/L:

Plaquetas x109/L:

PCR mg/dL:

Colesterol total: mg/dL

Colesterol-LDL: mg/dL

Triglicéridos mg/dl:

HbA1C %:

Datos genéticos de la CHIP

Gen 1:

Región 1:

Descripción de la variante 1:

Tipo de variante 1:

VAF % 1:

Gen 2:

Región 2:

Descripción de la variante 2:

Tipo de variante 2:

VAF %2:

Gen 3:

Región 3:

Descripción de la variante 3:

Tipo de variante 3:

VAF % 3:

Gen 4:

Región 4:

Descripción de la variante 4:

Tipo de variante 4:

VAF % 4:

CRD

Evolución después del diagnóstico de CHIP

Enfermedad cardiovascular: Sí / No

En caso de respuesta afirmativa:

- Infarto agudo de miocardio
- Enfermedad coronaria
- Esclerosis valvular aórtica
- Insuficiencia cardíaca
- Fibrilación auricular

Accidente cerebrovascular: Sí / No

En caso de respuesta afirmativa:

- Isquémico
- Hemorrágico

Trombosis periférica arterial/venosa:

Sí / No

Neoplasia 1: Sí / No

• Fecha de diagnóstico: dd/mm/aaaa

Tipo de neoplasia:

- cerebral cabeza y cuello
- pulmón mama
- cardíaca gástrica
- colon recto
- anal renal
- suprarrenal próstata
- testicular pene
- ovario vagina
- ósea melanoma
- neuroendocrina
- enfermedad hematológica

linfoma B

linfoma T

mieloma

leucemia linfoblástica B

Leucemia linfoblástica T

neoplasia mieloproliferativa

neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa

leucemia mieloide aguda

síndrome mielodisplásico*

Neoplasia 2: Sí / No

• Fecha de diagnóstico: dd/mm/aaaa

Tipo de neoplasia:

- cerebral cabeza y cuello
- pulmón mama
- cardíaca gástrica

- colon recto
- anal renal
- suprarrenal próstata
- testicular pene
- ovario vagina
- ósea melanoma
- neuroendocrina
- enfermedad hematológica

linfoma B

linfoma T

mieloma

leucemia linfoblástica B

Leucemia linfoblástica T

neoplasia mieloproliferativa

neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa

leucemia mieloide aguda

síndrome mielodisplásico*

*En estos casos se creará un NIP que una con la base de SMD.

Otros problemas de salud:

- enfermedad autoinmune
- enfermedad inflamatoria crónica
- demencia
- otros:

Estado actual

Fecha de estado: dd/mm/aa

Estado: vivo / muerto / pérdida de seguimiento

Causa muerte:

- cerebrovascular
- cardíaca isquémica
- pulmonar
- renal
- hepática
- neoplasia sólida
- neoplasia hematológica
- infección
- psiquiátrico
- accidente tráfico/doméstico
- desconocido
- otros:

CONSENTIMIENTO INFORMADO (CI) PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL REGISTRO ESPAÑOL DE CHIP (RECHIP)

Descripción, justificación y objetivos del estudio

El Registro Español de CHIP (RECHIP) es un proyecto de investigación que se lleva a cabo en más de 120 hospitales españoles para contribuir a una mejora del conocimiento de este grupo de enfermedades. El RECHIP ha sido diseñado por profesionales sanitarios pertenecientes en la actualidad al Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD), una sociedad científica sin ánimo de lucro, integrada por hematólogos y otros profesionales sanitarios relacionados con estas enfermedades. La propiedad y la custodia de los datos registrados, siempre de forma anónima, es competencia del GESMD, que únicamente comparte estos datos de forma controlada con otros grupos de investigación tanto nacionales como internacionales.

La participación en este estudio no supone la realización de exploraciones adicionales ni visitas fuera de lo habitual, ni modificaciones en el plan de tratamiento previsto para usted y consiste en la introducción anónima de los datos referentes a su enfermedad en un archivo informático, sin que exista ninguna referencia a sus datos personales que pueda servir para identificarle. El GESMD, y los grupos con los que éste colabora, emplearán esos datos únicamente con fines científicos y de investigación médica, para contribuir al avance del conocimiento en los síndromes mielodisplásicos, y en definitiva, para mejorar las posibilidades de tratamiento de las personas con su misma enfermedad.

Si usted es seleccionado para su inclusión en este registro, se le pedirá su autorización, lo que se recogerá mediante la firma de este documento, del cual conservará una copia.

La participación en este proyecto es totalmente voluntaria. En el caso de que usted decida no participar, ni el tratamiento ni otros cuidados que se proporcionen se verán afectados. De la misma forma usted es libre de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que ello suponga ningún cambio en sus cuidados ni en la relación con su médico habitual.

CI

Los datos que serán almacenados son características demográficas básicas (como la edad o el sexo) y datos de su enfermedad (tipo de CHIP, fecha de diagnóstico, resultados de diversos análisis, tratamientos recibidos, etc). Además, muchos de los datos se actualizarán de forma periódica.

Promotor del estudio

El promotor del estudio es el GESMD, representado a nivel local por los investigadores de su hospital.

Candidatos al estudio

Personas que presenten cualquier mutación CHIP y que otorguen su consentimiento de forma escrita o mediante sus representantes legales.

Anonimato y confidencialidad

Sus datos personales sólo serán conocidos por el equipo médico que le atiende en su centro hospitalario. No se registrará ningún dato personal que pudiera permitir a personas ajenas conocer su identidad. Los datos anónimos pueden ser compartidos con otros grupos de trabajo con la misma finalidad investigadora.

Beneficios esperables

No existe ningún beneficio personal derivado de la aceptación o rechazo a ser incluido en el RESMD. Sin embargo, el estudio de los datos recogidos en el RESMD puede mejorar la atención médica que reciban en el futuro otras personas con enfermedades similares a la suya.

Posibles perjuicios

La inclusión o no en el RESMD no modificará la atención médica que reciba, por lo que no existe ningún posible perjuicio derivado de la aceptación o rechazo a ser incluido en el RESMD.

Compensación económica

No existe ninguna compensación directa por la participación en este estudio.

Seguro médico

El RESMD no ha contratado para usted ningún seguro, ya que no existen ventajas ni inconvenientes para usted por la participación en este estudio.

CI

Posibilidad de rechazo a la participación y retirada del estudio

El rechazo a ser incluido en el RESMD puede ser ejercido en cualquier momento, tanto antes de su registro como posteriormente, sin que ello condicione la atención que reciba.

No está previsto que ningún participante en el RESMD reciba personalmente información sobre los resultados de los estudios que se hagan con datos almacenados en el registro. Sin embargo, las conclusiones de los estudios estarán disponibles para toda la comunidad científica, tanto a nivel nacional como internacional, mediante su comunicación en congresos médicos y su publicación en revistas biomédicas, con el fin de contribuir a mejorar el conocimiento y el cuidado de las personas que como usted presentan una CHIP.

Registro Español de CHIP (RECHIP)

Consentimiento informado

Yo, he sido informado/a por , miembro del equipo de investigación del RECHIP sobre la posibilidad de participar en el Registro mencionado, mediante la recogida anónima de los datos sobre mi CHIP, que se unirán a los de otras personas con CHIP en un registro nacional cuya finalidad es mejorar el conocimiento y la atención de las personas con CHIP.

Accedo a participar en este estudio bajo los siguientes supuestos:

1. Que mi participación es voluntaria.
2. Que se preservará en todo momento mi anonimato.
3. Que puedo renunciar en cualquier momento a participar en el estudio sin que ello suponga ningún tipo de cambio en la atención médica que recibo.
4. Que los datos sólo serán usados para la finalidad inicial con la que fueron solicitados.

También he sido informado de que en caso de duda puedo llamar al teléfono , extensión , preguntando por el Dr.

.....
Fecha, nombre y firma del paciente o representante legal

.....
Fecha, nombre y firma del investigador

Registro Español de CHIP (RECHIP)

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Revoco el consentimiento prestado en fecha de de 20 y no deseo proseguir la donación voluntaria que doy con esta fecha por finalizada

En a de de 20

Fdo.:

Don/Dña
DNI

Fdo.:

Don/Dña
DNI

NOTA:

El consentimiento informado será recogido y custodiado en los centros de origen de los pacientes.

© 2022 GESMD

Reservados todos los derechos.

El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo la fotocopia o grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni por ningún medio, sin la previa autorización del propietario del Copyright.

ISBN: 978-84-09-45156-2

Diseño y edición:



M FAR

**MARKETING FARMACÉUTICO &
INVESTIGACIÓN CLÍNICA, S.L.**

Balmes 243, Escalera A 5^ª1^a

08006 Barcelona

Tel.: (34) 93 434 44 12

Fax: (34) 93 253 11 68

El contenido de este manual es el resultado de la libre opinión científica de los miembros del Grupo de Trabajo que la suscriben.



GRUPO ESPAÑOL DE
SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

