

Síndromes mielodisplásicos: recomendaciones sobre el estudio de secuenciación masiva

Myelodysplastic syndromes: recommendations for next-generation sequencing

M.^a Carmen Chillón-Santos^{1*}, Mireia Atance-Pasarissas², Concepción Fernández-Rodríguez³, Carlos García-Ballesteros⁴, Teresa González-Martínez⁵, Antonio Jiménez-Velasco⁶, M.^a José Larrayoz-Ilundáin⁷, Iván Martín-Castillo⁸, Laura Palomo-Sanchís⁹, Marta Pratcorona-Canela¹⁰, Iria Vázquez-Urío⁷, Lurdes Zamora-Plana¹¹, M.^a Teresa Gómez-Casares¹², Ruth Stuckey¹², Carolina Martínez-Laperche¹³, Mónica López-Guerra^{14,15}, Rosa Ayala-Díaz¹⁶ y Eva Barragán-González¹⁷

¹Unidad de Biología Molecular/HLA, Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca; ²Laboratorio de Citogenética Hematológica, Servicio de Hematología, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; ³Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Servicio de Patología, Hospital del Mar, Barcelona; ⁴Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Hematología, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia; ⁵Laboratorio de Citogenética, Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca; ⁶Laboratorio de Genética Molecular, Servicio de Hematología, Hospital Regional Universitario de Málaga, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), Málaga; ⁷Laboratorio de Enfermedades Hematológicas, CIMA LAB Diagnostics, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona; ⁸Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Valencia, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia; ⁹Hematología Experimental, Institut d'Oncologia Vall d'Hebron (VHIO), Barcelona; ¹⁰Servicio de Hematología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona; ¹¹Unidad de Biología Molecular, Servicio Laboratorio de Hematología, Institut Català d'Oncologia (ICO)-Hospital Germans Trias i Pujol, Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras (IJC), Badalona; ¹²Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas; ¹³Servicio de Hematología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid; ¹⁴Sección de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic, Barcelona; ¹⁵Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC); ¹⁶Servicio de Hematología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid; ¹⁷Unidad de Biología Molecular, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia. España

Resumen

Introducción: La integración de tecnologías y conocimientos del laboratorio y la clínica es clave para un diagnóstico preciso de las neoplasias hematológicas. En la última década, la secuenciación masiva (NGS) ha permitido caracterizar el perfil molecular de estas enfermedades, identificando mutaciones, variaciones en el número de copias y genes de fusión recurrentes. Este avance ha impulsado la actualización de las recomendaciones para el diagnóstico y manejo de los pacientes con neoplasias hematológicas. Las clasificaciones recientes de la World Health Organization (WHO), la International Consensus Classification (ICC) y la European LeukemiaNet (ELN) destacan la relevancia de los datos genéticos, incorporándolos en sus algoritmos diagnósticos y de estratificación del riesgo. En este contexto, la implementación de paneles dirigidos de NGS se recomienda por su capacidad para analizar múltiples alteraciones genéticas. **Objetivo:** Aunque NGS está disponible en muchos laboratorios, su uso no está estandarizado y no hay consenso sobre el método ni los genes que evaluar en cada enfermedad. **Material y métodos:** El Grupo de Biología Molecular en Hematología (GBMH), en colaboración con un panel de expertos, elaboró esta guía consensuada. **Resultados:** Se recogen los genes de interés según su relevancia clínica y evidencia científica. **Conclusiones:** Esta guía busca orientar a los profesionales sobre el uso de paneles dirigidos de NGS en los síndromes mielodisplásicos.

Palabras clave: Síndrome mielodisplásico. Secuenciación masiva (NGS). Guías de consenso.

*Correspondencia:

M.^a Carmen Chillón-Santos
E-mail: mcchillon@saludcastillayleon.es

Fecha de recepción: 29-01-2025

Fecha de aceptación: 17-06-2025

DOI: 10.24875/SANGRE.25000002

Disponible en internet: 09-10-2025

Sangre. 2025;44(3):67-76

www.revistasangre.com

0036-4355 / © 2025 Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Publicado por Permanyer. Éste es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Abstract

Introduction: The integration of laboratory and clinical technologies and knowledge is key to an accurate diagnosis of hematologic neoplasms. Over the past decade, next-generation sequencing (NGS) has enabled the molecular characterization of these diseases, identifying mutations, copy number variations, and recurrent fusion genes. This advancement has driven the update of recommendations for the diagnosis and management of patients with hematologic neoplasms. Recent classifications by the World Health Organization (WHO), the International Consensus Classification (ICC), and the European LeukemiaNet (ELN) highlight the relevance of genetic data, incorporating them into their diagnostic and risk stratification algorithms. In this context, the implementation of targeted NGS panels is recommended for their ability to simultaneously analyze multiple genetic alterations. **Objective:** Although NGS is available in many laboratories, its use is not yet standardized, and there is no clear consensus on the methodology or the genes to be evaluated for each pathology. **Material and methods:** The Molecular Biology Group in Hematology (GBMH), in collaboration with a panel of experts, developed this consensus guide. **Results:** Genes of interest were compiled based on their clinical relevance and scientific evidence. **Conclusions:** This guide aims to assist professionals in the use of targeted NGS panels in myelodysplastic syndrome.

Keywords: Myelodysplastic syndrome. Next generation sequencing (NGS). Consensus guidelines.

Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de neoplasias de las células progenitoras hematopoyéticas que se caracterizan por la presencia de alteraciones morfológicas (mielodisplasia), citopenias en sangre periférica y una hematopoyesis ineficaz producida por alteraciones en la diferenciación. Además, los SMD presentan un riesgo aumentado de progresión a leucemia mieloide aguda (LMA)¹. La mediana de edad al diagnóstico es de 70 años, con una incidencia de 4 casos por cada 100.000 habitantes por año en la población general, aunque este número asciende a 40-50 casos por cada 100.000 en los mayores de 70 años. Los SMD en niños son muy poco frecuentes y representan el 9% de todas las hemopatías pediátricas malignas².

El diagnóstico de SMD se basa en tres criterios: citopenias persistentes sin otra explicación, displasia morfológica significativa y evidencia citogenética o molecular de hematopoyesis clonal. Las alteraciones citogenéticas recurrentes se detectan en el 40-70% de los SMD y en la gran mayoría de los SMD secundarios a terapia. Las más frecuentes son alteraciones en el número de copias cromosómicas (CNV, variaciones del número de copias o *copy number variations*) como la del(5q), la monosomía 7 o del(7q), la trisomía 8 y la del(20q). En presencia de una citopenia inexplicable, incluso en ausencia de displasia, determinadas alteraciones se consideran como un hallazgo suficiente para el diagnóstico de SMD –excepto la trisomía 8, del(20q) y la monosomía Y–¹.

La aplicación de las técnicas genómicas de alto rendimiento, como los *single nucleotide polymorphism* (SNP)/*comparative genome hybridization* (CGH) arrays o la secuenciación masiva (NGS, *next generation*

sequencing), al estudio de los SMD ha permitido identificar mutaciones y CNV que afectan a varios mecanismos moleculares y que podrían contribuir a la patogénesis de la enfermedad. En los SMD, el análisis mediante NGS es una herramienta útil para mejorar el diagnóstico, predecir el pronóstico y orientar la elección del tratamiento, ya que casi el 80% de los pacientes presenta una o más mutaciones somáticas.

Las mutaciones más frecuentes aparecen en genes de *splicing* del ARN mensajero (*SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*), en genes de metilación del ADN (*DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*), en genes de modificación de histonas (*ASXL1*, *EZH2*) y en factores de transcripción (*RUNX1*, *BCOR*)³. A pesar de que muchos de los genes afectados se comparten con la LMA, los SMD se caracterizan por tener menor frecuencia de mutaciones en receptores tirosina cinasa, genes de la vía RAS y los genes *NPM1*, *CEBPA* e *IDH1/2*, mientras que muestran mayor incidencia de mutaciones en reguladores epigenéticos y factores de *splicing*⁴. A diferencia de otras enfermedades hematológicas, como las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMP) con mutaciones específicas en los genes *JAK2*, *CALR* y *MPL*, no hay ninguna mutación que sea dominante y específica de los SMD ni de la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC).

Un aspecto importante que tener en cuenta cuando se aplica la NGS al diagnóstico de los SMD es la hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP, *clonal hematopoiesis of indeterminate potential*), ya que es un hallazgo muy frecuente en adultos mayores sin enfermedad hematológica (hasta un 60% de los mayores de 80 años) y se caracteriza por la presencia de mutaciones que afectan generalmente a

modificadores epigenéticos (*DNMT3A*, *TET2* o *ASXL1*)⁵. Las recientes revisiones publicadas en 2022 de la clasificación de la World Health Organization (WHO) para las neoplasias mieloides, la WHO Classification y la International Consensus Classification (ICC)^{6,7}, definen la CHIP como la hematopoyesis clonal caracterizada por la presencia de mutaciones en genes relacionados con neoplasias mieloides con una frecuencia alélica (VAF, *variant allele frequency*) $\geq 2\%$ en individuos sin una neoplasia hematológica ni citopenias. Cuando la CHIP se detecta en presencia de una o más citopenias inexplicadas, estaremos ante una citopenia clonal de significado incierto (CCUS, *clonal cytopenia of undetermined significance*)^{6,7}.

Además, los estudios de NGS han demostrado la presencia de variantes germinales potencialmente predisponentes a neoplasias mieloides, por lo que la cuarta revisión de la clasificación de la WHO de 2016 ya incluyó una nueva categoría: neoplasias mieloides con predisposición germinal, clasificadas en tres grupos, según hayan presentado o no trastornos plaquetarios preexistentes o disfunciones orgánicas¹. Estos subgrupos se han mantenido en las recientes revisiones publicadas en 2022, que han destacado el valor de los estudios moleculares en la día a día clínico.

Por otra parte, estas nuevas clasificaciones han reconocido el valor diagnóstico de las alteraciones genéticas somáticas y proponen criterios específicos, como es el caso de las mutaciones en *SF3B1* o las mutaciones en *TP53*, que definen entidades nosológicas distintas dentro de los SMD. Igualmente, el nuevo *Molecular International Prognostic Scoring System* (IPSS-M) combina parámetros clínicos convencionales con mutaciones en genes clave para mejorar la estratificación del riesgo en los SMD⁸. Respecto al valor de las mutaciones como marcadores predictivos de respuesta, se han asociado las alteraciones en genes implicados en la epigenética con una mejor respuesta al tratamiento con agentes hipometilantes⁹ y a la inversa, las mutaciones en *TP53* se han asociado con una respuesta disminuida al tratamiento con lenalidomida¹⁰. Sin embargo, las capacidades predictivas de estas mutaciones son limitadas.

Aspectos metodológicos relevantes en los síndromes mielodisplásicos

Tipo de muestra

Los estudios de NGS se realizan preferentemente sobre el material genético (ADN o ARN) extraído de

una muestra de aspirado de médula ósea. Sin embargo, dado que el SMD afecta a toda la hematopoyesis, también es muy útil emplear la sangre periférica, como demuestran numerosos estudios, con resultados comparables en la gran mayoría de los casos, aunque probablemente pueda existir menor sensibilidad para variantes con poca VAF.

Momento del estudio

Se debe realizar: 1) al diagnóstico de los SMD y de la LMMC, si es necesario para su correcta clasificación o si se necesita perfilar su pronóstico para decidir una actitud terapéutica intensiva, y 2) en la progresión de la enfermedad (siempre que se mantengan los supuestos anteriores).

Estudios que hay que realizar

Para el diagnóstico de los SMD, además de los análisis citomorfológicos y de citogenética convencional complementados por hibridación *in situ* fluorescente (FISH), se realizan estudios mediante paneles dirigidos de NGS que permitan la identificación de mutaciones, reordenamientos cromosómicos y CNV. La muestra de partida será diferente según el estudio que se vaya a realizar: para el análisis de SNV o variantes puntuales, indels y CNV se emplea ADN; en cambio, para el estudio de reordenamientos y genes de fusión, la muestra será normalmente ARN, ya que las translocaciones pueden implicar a varios *partners* o bien presentar diferentes puntos de corte a lo largo de regiones muy amplias, aunque se están validando algunos paneles para la detección de reordenamientos en ADN.

Estudios para realizar mediante el empleo de paneles de NGS en los síndromes mielodisplásicos

A pesar de que el perfil genómico se ha convertido en una herramienta casi indispensable en el diagnóstico de las neoplasias hematológicas, en el caso de los SMD es difícil definir un listado de genes obligatorios/recomendables para el diagnóstico diferencial y el manejo de los pacientes. Y aunque la detección de una mutación conductora o *driver* permite establecer el carácter neoplásico de la enfermedad, siguen siendo las citopenias y la displasia morfológica las que permiten establecer el diagnóstico de SMD. En las recientes clasificaciones de 2022, además de mantenerse la categoría de SMD con delección aislada de 5q y bajo

porcentaje de blastos (SMD-5q), se han añadido las alteraciones en dos genes, *SF3B1* y *TP53*, que junto con los SMD-5q formarían parte de los SMD con alteraciones genéticas definitorias de clase:

- SMD con bajo porcentaje de blastos y mutaciones en *SF3B1*, una entidad con un fenotipo específico y un pronóstico relativamente bueno que puede responder a luspatercept, y que reemplaza la entidad anterior definida morfológicamente como SMD con sideroblastos en anillo (SA).
- SMD con inactivación bialélica de *TP53*, entidad de muy alto riesgo con un pronóstico muy desfavorable y una alta probabilidad de transformación leucémica^{6,7}. La inactivación bialélica (o estado *multi-hit*) de *TP53* se ha incluido en el IPSS-M, junto con las mutaciones en *FLT3* (duplicaciones internas en tándem [ITD] y mutaciones puntuales en el dominio tirosina cinasa [TKD]), además de las duplicaciones parciales en tándem (PTD) en *KMT2A* (*MLL*-PTD)^{11,12}, como los principales predictores genéticos de mal pronóstico en los SMD⁸.

Por tanto, el Grupo de Biología Molecular en Hematología (GBMH) ha seleccionado y consensuado los genes que es necesario estudiar en los SMD (Tabla 1) para ayudar en el diagnóstico, estratificar el riesgo y orientar la terapia, debido a su impacto clínico demostrado en trabajos publicados y a su recomendación por grupos de expertos internacionales en el diagnóstico y el tratamiento de los SMD.

Se ha considerado que son de estudio obligado o altamente recomendado para la identificación de mutaciones: aquellos genes reconocidos en la clasificación de la WHO (*SF3B1* y *TP53*)^{6,7}, los incluidos en el IPSS-M como genes principales con valor pronóstico demostrado⁸, los que presentan una elevada frecuencia de mutaciones en SMD (*TET2*) y los genes de predisposición germinal de la WHO^{6,7}. Son, por orden alfabético: *ANKRD26*, *ASXL1*, *CBL*, *CEBPA*, *DDX41*, *DNMT3A*, *ETV6*, *EZH2*, *FLT3*-ITD, *FLT3*-TKD, *GATA2*, *IDH2*, *KMT2A*-PTD, *KRAS*, *NPM1*, *NRAS*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRP72*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53* y *U2AF1*.

Además, el GBMH ha seleccionado otros genes de interés para estudio recomendado en los SMD por su implicación en el pronóstico, pero con un papel más controvertido en su utilidad clínica (Tabla 1). Estos genes son los incluidos en el IPSS-M como genes residuales para evaluar el impacto pronóstico del número de mutaciones (*BCOR*, *BCORL1*, *CEBPA*, *GATA2*, *ETNK1*, *GNB1*, *IDH1*, *NF1*, *PHF6*, *PPM1D*, *PRPF8*, *PTPN11*, *SETBP1*, *STAG2* y *WT1*), además de genes que pueden aparecer mutados en los SMD/NMP

mixtos con trombocitosis y/o fibrosis (*JAK2*, *CALR* y *MPL*), otros genes de predisposición germinal (*MECOM*, *SAMD9*, *SAMD9L*, *SH2B3*, *TERC* y *TERT*), el gen *KIT*, importante en los SMD y SMD/NMP (sobre todo en LMMC) asociados a mastocitosis sistémica, y finalmente *CSF3R* y *ZRSR2*, mutados en algunos casos de leucemia mieloide crónica (LMC) atípica y LMMC, respectivamente (Tabla Suplementaria 1).

Por otra parte, cada vez son más utilizados los paneles dirigidos de NGS para la detección de reordenamientos y genes de fusión (Tabla 2). Sin embargo, en los SMD estas alteraciones son raras y muy variables, y, aunque no son necesarias para el diagnóstico, el GBMH recomienda el estudio de algunas de ellas en situaciones especiales, como en el diagnóstico diferencial de la LMMC para descartar los reordenamientos de los genes de receptores de tirosina cinasas (*PDGFRA*, *PDGFRB*, *FGFR1*, *ETV6* y *PCM1:JAK2*) característicos de las neoplasias mieloides/linfoides con eosinofilia o para descartar la fusión *BCR: ABL1* característica de la LMC⁶. Además, se recomienda el estudio mediante NGS de las *KMT2A*-PTD por ser variables principales reconocidas de mal pronóstico en el IPSS-M, ya que no pueden ser detectadas por citogenética y/o FISH convencional¹². El estudio de NGS puede realizarse tanto en ADN como en ARN con resultados muy satisfactorios¹³.

En cuanto al estudio de CNV, es especialmente importante en el caso de *TP53*, ya que su análisis permite determinar no solo si hay del(17p) en todo el brazo, sino también microdeleciones que afecten solo al gen *TP53*. En el caso de *TP53*, además, el análisis de CNV se recomienda que vaya acompañado de un análisis de pérdida de heterocigosidad (LOH, *loss of heterozygosity*) sin cambio en el número de copias, ya que ambos tipos de alteraciones son definitorias de algunos casos *multi-hit*, estado necesario para establecer el diagnóstico de SMD con inactivación bialélica de *TP53*, además de incluirse en el IPSS-M como uno de los principales predictores genéticos de mal pronóstico.

Otras CNV que se pueden estudiar mediante NGS en SMD son la -5/del(5q), la -7/del(7q), la trisomía 8, la del(12p) y la del(20q). También podría ser útil el estudio de CNV de algunos genes individuales, como la delección de *RUNX1* o la delección de *ETV6*. Respecto a la metodología de NGS empleada, existen varias opciones, bien analizando los niveles de cobertura de determinados genes que mapean en las regiones implicadas en las ganancias/pérdidas, o bien estudiando a gran escala los SNP presentes en estas regiones. Sin

Tabla 1. Estudio de variantes puntuales SNV/*indels* mediante técnicas de NGS. Genes, regiones de interés y utilidad clínica en los SMD

Gen*	Secuencia de referencia	Regiones de estudio (<i>hotspots</i>)	Diagnóstico	Pronóstico	Tratamiento	Predisposición hereditaria	Frecuencia de mutaciones en SMD (%)	Frecuencia de mutaciones en SMD/NMP (%)
Genes obligatorios								
<i>ANKRD26</i>	NM_014915.2	5' UTR + exones 1-2	X			X	< 2	
<i>ASXL1</i> *	NM_015338.6	Región codificante completa (exón 13)		X			15-25	45% LMMC, 70% LMCa, 40% SMD-NMP-I, 20% SMD/NMP
<i>CBL</i> *		Exones 8-9	X	X		X	10-15	10-20% LMMC, 15% de LMMJ, 15% LMCa
<i>CEBPA</i> †	NM_004364.5	Región codificante completa	X	X		X	2-4	4% LMMC
<i>DDX41</i>	NM_016222.4	Región codificante completa	X			X	3-5	
<i>DNMT3A</i> *	NM_175629.2	Región codificante completa (exón 23)		X			10-15	15% SMD/NMP-SA-T, 10% SMD/NMP-I, 2-12% LMMC
<i>ETV6</i> *	NM_001987.5	Región codificante completa	X	X		X	5	LMMC, SMD/NMP-I
<i>EZH2</i> *	NM_004456.5	Región codificante completa		X			5-10	13% LMCa y SMD/NMP-I, < 10% LMMC
<i>FLT3-ITD</i> *	NM_004119.3	Exones 11-20 (exones 14-15)		X	X		< 5	< 5% LMMC
<i>FLT3-TKD</i> *	NM_004119.3	Exones 11-20 (exón 20)		X	X		< 5	< 5% LMMC
<i>GATA2</i> †	NM_032638.5	Región codificante completa + intrón 4	X	X		X	< 5	
<i>IDH2</i> *	NM_002168.2	Exón 4		X	X		4	3-5% LMMC, LMCa, SMD/NMP-SA-T y SMD/NMP-I
<i>KRAS</i> *	NM_033360.4	Exones 2-4	X	X		X	2-3	15% LMMC y LMMJ, 5-8% LMCa y SMD/NMP
<i>KMT2A-PTD</i> *	NM_001197104.2	Exones 2-11		X			2	
<i>NPM1</i> *	NM_002520.6	Exones 10, 11		X			< 5	< 5% LMMC
<i>NRAS</i> *	NM_002524.4	Exones 2-4	X	X		X	5-10	15% LMMC, LMMJ y LMCa, 10% SMD/NMP
<i>RUNX1</i> *	NM_001754.5	Región codificante completa	X	X		X	10-15	20% LMMC y LMCa, 15% SMD/NMP-I

(Continúa)

Tabla 1. Estudio de variantes puntuales SNV/indels mediante técnicas de NGS. Genes, regiones de interés y utilidad clínica en los SMD (continuación)

Gen*	Secuencia de referencia	Regiones de estudio (hotspots)	Diagnóstico	Pronóstico	Tratamiento	Predisposición hereditaria	Frecuencia de mutaciones en SMD (%)	Frecuencia de mutaciones en SMD/NMP (%)
Genes obligatorios								
SF3B1*	NM_012433.4	Exones 11-16	X	X	X		20-30	90% SMD-SA, 90% SMD/NMP-SA-T, 2-10% LMMC
SRP72	NM_006947.4	Región codificante completa	X			X	< 1	
SRSF2*	NM_001195427.2	Región codificante completa (exón 1)		X	X		10-15	30-50% LMMC, 20% LMCa, 20% SMD/NMP-I
TET2	NM_001127208.3	Región codificante completa			X		20-25	60% LMMC, 35% LMCa, 25% SMD/NMP-I, 20% SMD/NMP-SA-T
TP53*	NM_000546.6	Región codificante completa	X	X	X	X	8-12	10% SMD/NMP-I, 2-5% LMMC, si cariotipo complejo 50%
U2AF1*	NM_006758	Exones 2, 6, 7, 8		X			8-12	15% SMD/NMP-I, 5-15% LMMC
Genes recomendados								
BCOR [†]	NM_001123385.2	Región codificante completa		X			5	5-10% LMMC
BCORL [†]	NM_021946.5	Región codificante completa		X			< 5	2-7% LMMC
CALR	NM_004343.3	Exón 9	X				< 5	SMD/NMP-SA-T
CSF3R	NM_156039.3	Exones 6-10 y 14-18	X				< 5	10% LMCa y algunos casos de SMD/NMP-I
ETNK1 [†]	NM_018638.5	Exón 3		X			< 5	LMCa/LMMC
GNB1 [†]	NM_002074.5	Exón 5		X			< 2	CHIP
IDH1 [†]	NM_005896.4	Exón 4		X	X		< 5	< 2% LMMC
JAK2	NM_004972.3	Región codificante completa (exones 12, 14)	X		X		< 5	40% SMD/NMP-SA-T, 20% SMD/NMP-I
KIT	NM_000222.2	Exones 2-18			X		< 3	< 2% LMMC
MECOM	NM_004991.4	Región codificante completa	X			X	< 2	
MPL	NM_005373.2	Exones 3-6, 10, 12	X				< 5	SMD/NMP-SA-T

(Continúa)

Tabla 1. Estudio de variantes puntuales SNV/*indels* mediante técnicas de NGS. Genes, regiones de interés y utilidad clínica en los SMD (*continuación*)

Gen*	Secuencia de referencia	Regiones de estudio (<i>hotspots</i>)	Diagnóstico	Pronóstico	Tratamiento	Predisposición hereditaria	Frecuencia de mutaciones en SMD (%)	Frecuencia de mutaciones en SMD/NMP (%)
Genes recomendados								
<i>NF1</i> [†]	NM_001042492.3	Región codificante completa	X	X		X	< 5	5-10% LMMC, 30% LMMJ
<i>PHF6</i> [†]	NM_032458.3	Región codificante completa		X			< 5	
<i>PPM1D</i> [†]	NM_003620.4	Región codificante completa		X			5	CHIP, CCUS, SMD-t
<i>PRPF8</i> [†]	NM_006445.4	Exón 31		X			4	
<i>PTPN11</i> [†]	NM_002834.5	Región codificante completa	X	X		X	< 1	LMMJ
<i>SAMD9</i>	NM_017654.4	Región codificante completa				X	< 2	
<i>SAMD9L</i>	NM_152703.5	Región codificante completa				X	< 2	
<i>SETBP1</i> [†]	NM_015559.3	Exón 4		X			< 5	25-35% LMCa, 10-15% LMMC, SMD/NMP-I
<i>SH2B3</i>	NM_005475.3	Región codificante completa		X	X		< 5	2-3% LMMC
<i>STAG2</i> [†]	NM_001042749.2	Región codificante completa		X			5-10	10% LMCa 5-10% LMMC
<i>TERC</i>	NR_001566.1	Región codificante completa				X	< 1	
<i>TERT</i>	NM_198253.3	Región codificante completa				X	< 1	
<i>WTT</i> [†]	NM_024426.6	Exones 7, 9		X			< 5	
<i>ZRSR2</i>	NM_005089.4	Región codificante completa		X			5-10	5-10% LMMC

*Incluido en el *Molecular International Prognostic Scoring System* (IPSS-M) como gen principal (16 genes principales con valor pronóstico).
†Incluido en el IPSS-M como gen residual (15 genes residuales para evaluar el pronóstico del número de mutaciones).
LMMC: leucemia mielomonocítica crónica; NGS: *next-generation sequencing*; NMP: neoplasias mieloproliferativas crónicas; SMD: síndromes mielodisplásicos; SNV: *single nucleotide variant*.

Tabla 2. Estudio de reordenamientos mediante técnicas de NGS. Utilidad clínica en los SMD

Reordenamientos	Valor clínico		
	Diagnóstico	Pronóstico	Tratamiento
Reordenamientos de los genes de tirosina cinasas característicos de las neoplasias mieloides/linfoideas con eosinofilia:			
Reordenamiento <i>PDGFRA</i>	X		X
Reordenamiento <i>PDGFRB</i>	X		X
Reordenamiento <i>FGFR1</i>	X		X
Reordenamiento <i>JAK2</i>	X		X
Reordenamiento <i>FLT3</i>	X		X
Reordenamiento <i>ETV6::ABL1</i>	X		X
Otras fusiones definidas que implican tirosina cinasas:			
<i>ETV6::FGFR2</i> , <i>ETV6::LYN</i> , <i>ETV6::NTRK3</i> , <i>RANBP2::ALK</i> , <i>BCR::RET</i> , <i>FGFR10P::RET</i>	X		X
Reordenamiento <i>BCR::ABL1</i>	X		X
<i>KMT2A</i> -PTD		X	

KMT2A-PTD: duplicaciones parciales en tándem; NGS: *next-generation sequencing*; SMD: síndromes mielodisplásicos.

embargo, la NGS no es la técnica de elección para el estudio de CNV y aún no está desarrollada plenamente en los laboratorios, por lo que el GBMH no recomienda de momento su empleo en el diagnóstico en los SMD y aboga por un incremento en la investigación para la validación diagnóstica de este tipo de aplicaciones.

Utilidad clínica de los estudios de paneles de NGS en los síndromes mielodisplásicos

Diagnóstico

En el 80-90% de los pacientes con SMD se han descrito numerosas mutaciones somáticas adquiridas; de hecho, el 70% de los pacientes tienen al menos una variante en alguno de los genes de la maquinaria de *splicing* y/o reguladores epigenéticos. Pocos genes están mutados con una frecuencia relativamente alta (*SF3B1*, *TET2*, *ASXL1*, *SRSF2*, *DNMT3A*, *RUNX1* y *TP53* en > 10% de los casos), sin existir un gen claramente predominante. Como se ha mencionado anteriormente, los únicos genes reconocidos con valor diagnóstico son *SF3B1* y *TP53*^{6,7}.

Las mutaciones en *SF3B1* ya se incorporaron en la clasificación de la WHO de 2016 como criterio diagnóstico para los SMD con SA⁶. Las mutaciones en *SF3B1* son puntuales y heterocigotas, siendo los codones R625, H662, K666 y K700 los más frecuentemente alterados. Se ha descrito en el 90% de los SMD-SA, en el 20-30% de los SMD en general^{14,15}, y en el 2-10% de las LMMC¹⁶. Recientemente, se ha propuesto que las mutaciones en *SF3B1* definen un subtipo distinto de enfermedad, principalmente caracterizada por una eritropoyesis ineficaz, un pronóstico relativamente

bueno, modulado por las mutaciones acompañantes, y una posible respuesta de la anemia al tratamiento con luspatercept¹⁷.

Las mutaciones en *TP53* se han incluido en las nuevas clasificaciones de la WHO y la ICC dentro de la categoría de «SMD con inactivación bialélica de *TP53*»^{6,7}. Para ello, se tiene que detectar la presencia de un estado *multi-hit*, lo que se define como la presencia de más de una mutación, o una mutación acompañada de pérdida de heterocigosidad o de la delección del otro alelo (lo que en ambos casos suele implicar una VAF > 60%).

Pronóstico

En la última década, numerosos trabajos han demostrado que las mutaciones somáticas tienen impacto pronóstico en los SMD, tanto el número de mutaciones como los genes afectados.

Mediante el análisis de un panel de genes relacionados con neoplasia mieloides, los SMD suelen presentar una mediana de 2 mutaciones, con un rango que suele variar entre 0 y 8, y con una VAF alta (VAF media: 30-50%), donde un mayor número de mutaciones se asocia con un mayor riesgo de transformación leucémica y una menor supervivencia global^{3,18-21}.

De acuerdo con los estudios publicados y tal y como se refleja en las guías de la National Comprehensive Cancer Network de 2022²², las mutaciones en *SF3B1* son las únicas que se asocian de forma independiente con un pronóstico favorable, especialmente como única alteración (mayor supervivencia global y bajo riesgo de progresión a LMA), mientras que los siguientes genes

(ordenados por su frecuencia de mutaciones en los SMD) se asocian con un pronóstico adverso: *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*, *RUNX1*, *TP53*, *STAG2*, *NRAS*, *ETV6*, *GATA2*, *IDH2*, *BCOR*, *FLT3*, *WT1* y *NPM1*^{3,18-21,23-26}.

El impacto pronóstico de estas mutaciones es independiente de los factores pronósticos clínicos y citogenéticos clásicos, incluidos en el IPSS-R y en otros índices para SMD^{27,28}. Por ello, recientemente se han publicado tres nuevos modelos que, además de las variables clásicas, incorporan datos moleculares^{8,20,21}. En concreto, el IPSS-M incluye, además de la hemoglobina, el recuento de plaquetas, el porcentaje de blastos en la médula ósea y la categoría de riesgo citogenético del IPSS-R, los datos moleculares de 31 genes⁸. Por un lado, 16 genes con un impacto directo en el modelo (*TP53*, *MLL -KMT2A-*, *FLT3*, *SF3B1*, *NPM1*, *RUNX1*, *NRAS*, *ETV6*, *IDH2*, *CBL*, *EZH2*, *U2AF1*, *SRSF2*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *KRAS*); y por otro lado, 15 genes incluidos en una sola variable de «genes residuales», que refleja el número de mutaciones y la inestabilidad genómica (*BCOR*, *BCORL1*, *CEBPA*, *ETNK1*, *GATA2*, *GNB1*, *IDH1*, *NF1*, *PHF6*, *PPM1D*, *PRPF8*, *PTPN11*, *SETBP1*, *STAG2*, *WT1*). Las variables en estos genes se incluyen de forma binaria (mutado/no mutado), excepto para *SF3B1*, donde se tiene en cuenta el patrón de comutaciones y la del(5q) concomitante, y para *TP53*, donde solo los casos *multi-hit* se asocian con un pronóstico adverso (> 1 mutación en *TP53* o mutación en *TP53* + delección/LOH en 17p, que afecte al locus de *TP53*). Además, cabe destacar que los tres genes con mayor impacto en el modelo son *TP53 multi-hit*, *KMT2A-PTD* y *FLT3* (ITD + TKD), donde estos dos últimos genes, a pesar de su baja frecuencia en los SMD, se asocian principalmente con una alta probabilidad de progresión a LMA.

Tratamiento

Actualmente no existe aprobación para terapias dirigidas contra dianas moleculares específicas en el tratamiento de los SMD. Aunque hasta ahora se considera que en la mayoría de los casos las mutaciones tienen un impacto limitado en el manejo clínico, algunas mutaciones se relacionan con la respuesta al tratamiento:

- Los pacientes de bajo riesgo con mutación en *SF3B1* presentan una mayor tasa de respuesta al tratamiento de la anemia con luspatcept²⁹.
- Las mutaciones en *TP53* se asocian con una menor respuesta o con recaída temprana en el tratamiento con lenalidomida. A menudo estas mutaciones se

presentan de forma subclonal y se expanden durante el transcurso del tratamiento, por lo que serían necesarios métodos de elevada sensibilidad para detectarlas de forma previa al inicio de este¹⁰.

- Los pacientes con mutación en *TET2* muestran una mayor tasa de respuesta al tratamiento con agentes hipometilantes. Este beneficio parece ser más evidente en ausencia de mutación en *ASXL1* y cuando la mutación de *TET2* presenta una frecuencia alélica elevada²⁴.

Por último, los datos emergentes provenientes de varios ensayos clínicos muestran resultados prometedores ante el uso de inhibidores específicos:

- Inhibidores de *IDH1* (ivosidenib) e *IDH2* (enasidenib) en pacientes con SMD portadores de mutaciones en *IDH1/2*, respectivamente^{30,31}.
- Inhibidores de *FLT3* (gilteritinib, midostaurina) en pacientes con SMD con exceso de blastos (EB2) portadores de mutaciones en *FLT3* (ITD y TKD) (HOVON-156 AML; identificador de ClinicalTrials.gov: NCT04027309).
- Inhibidores de JAK (ruxolitinib) en pacientes con SMD/NMP inclasificables, LMMC o LMC atípica BCR: *ABL1*-negativa portadores de la mutación *JAK2* p.V617F³².

Material suplementario

El material suplementario se encuentra disponible en DOI: 10.24875/SANGRE.25000002. Este material es provisto por el autor de correspondencia y publicado *online* para el beneficio del lector. El contenido del material suplementario es responsabilidad única de los autores.

Agradecimientos

A la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia por su apoyo en la publicación de estas guías.

Financiamiento

Longwood Diagnostics apoyó la producción de las guías.

Conflicto de intereses

M.T. Gómez-Cásares recibió honorarios por su participación como ponente, consultor o asesor de Novartis, Roche, GSK, Pfizer y BMS, así como subvenciones para investigación de Novartis, Astellas e Incyte. Los demás autores no tienen conflictos de interés.

Consideraciones éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad, consentimiento informado y aprobación ética. El estudio no involucra datos personales de pacientes ni requiere aprobación ética. No se aplican las guías SAGER.

Declaración sobre el uso de inteligencia artificial. Los autores declaran que no utilizaron ningún tipo de inteligencia artificial generativa para la redacción de este manuscrito.

Referencias

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.
- Hasle H, Kernstrup G, Jacobsen BB. Childhood myelodysplastic syndrome in Denmark: incidence and predisposing conditions. *Leukemia*. 1995;9(9):1569-72.
- Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, van Loo P, et al. Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013;122(22):3616-27; quiz 3699.
- Nagata Y, Maciejewski JP. The functional mechanisms of mutations in myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2019;33(12):2779-94.
- van Zeveren IA, Salzbrunn JB, de Graaf AO, van der Reijden BA, Boezen HM, Vonk JM, et al. Prevalence, predictors, and outcomes of clonal hematopoiesis in individuals aged ≥ 80 years. *Blood Adv*. 2021;5(8):2115-22.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200-28.
- Khoury JD, Solary E, Abia O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703-19.
- Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL, Hasserjian RP, Arango Ossa JE, Nannya Y, et al. Molecular international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. 2022;1(7):EVIDoa2200008.
- Béjar R, Lord A, Stevenson K, Bar-Natan M, Pérez-Ladaga A, Zaneveld J, et al. TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood*. 2014;124(17):2705-12.
- Mallo M, Del Rey M, Ibáñez M, Calasanz MJ, Arenillas L, Larráyoza MJ, et al. Response to lenalidomide in myelodysplastic syndromes with del(5q): influence of cytogenetics and mutations. *Br J Haematol*. 2013;162(1):74-86.
- Vetro C, Haferlach T, Meggendorfer M, Stengel A, Jeromin S, Kern W, et al. Cytogenetic and molecular genetic characterization of KMT2A-PTD positive acute myeloid leukemia in comparison to KMT2A-Rearranged acute myeloid leukemia. *Cancer Genet*. 2020;240:15-22.
- Tsai HK, Gibson CJ, Murdock HM, Davineni P, Harris MH, Wang ES, et al. Allelic complexity of KMT2A partial tandem duplications in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Blood Adv*. 2022;6(14):4236-40.
- Dai B, Yu H, Ma T, Lei Y, Wang J, Zhang Y, et al. The application of targeted RNA sequencing for KMT2A-partial tandem duplication identification and integrated analysis of molecular characterization in acute myeloid leukemia. *J Mol Diagn*. 2021;23(11):1478-90.
- Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al. Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1384-95.
- Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT, Boultonwood J, Della Porta MG, Pascutto C, et al. Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium and of the Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative. Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011;118(24):6239-46.
- Patnaik MM, Lasho TL, Finke CM, Hanson CA, Hodnefield JM, Knudson RA, et al. Spliceosome mutations involving SRSF2, SF3B1, and U2AF35 in chronic myelomonocytic leukemia: prevalence, clinical correlates, and prognostic relevance. *Am J Hematol*. 2013;88(3):201-6.
- Malcovati L, Stevenson K, Papaemmanuil E, Neuberg D, Béjar R, Boultonwood J, et al. SF3B1-mutant MDS as a distinct disease subtype: a proposal from the International Working Group for the Prognosis of MDS. *Blood*. 2020;136(2):157-70.
- Béjar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, García-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2496-506.
- Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2014;28(2):241-7.
- Bersanelli M, Travaglio E, Meggendorfer M, Matteuzzi T, Sala C, Mosca E, et al. Classification and personalized prognostic assessment on the basis of clinical and genomic features in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2021;39(11):1223-33.
- Nazha A, Komrokji R, Meggendorfer M, Jia X, Radakovich N, Shreve J, et al. Personalized prediction model to risk stratify patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2021;39(33):3737-46.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Myelodysplastic syndromes. Version 3. NCCN; January 13, 2022.
- Béjar R, Stevenson KE, Caughey BA, Abdel-Wahab O, Steensma DP, Galili N, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2012;30(27):3376-82.
- Béjar R, Stevenson KE, Caughey B, Lindsley RC, Mar BG, Stojanov P, et al. Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2014;32(25):2691-8.
- Malcovati L, Papaemmanuil E, Ambaglio I, Elena C, Galli A, Della Porta MG, et al. Driver somatic mutations identify distinct disease entities within myeloid neoplasms with myelodysplasia. *Blood*. 2014;124(9):1513-21.
- Bernard E, Nannya Y, Hasserjian RP, Devlin SM, Tuechler H, Medina-Martínez JS, et al. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes. *Nat Med*. 2020;26(10):1549-56.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, García-Manero G, Solé F, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.
- García-Manero G, Chien KS, Montalban-Bravo G. Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol*. 2020;95(11):1399-420.
- Fenaux P, Platzbecker U, Mufti GJ, García-Manero G, Buckstein R, Santini V, et al. Luspatercept in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2020;382(2):140-51.
- DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, Roboz GJ, Altman JK, Mims AS, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML. *N Engl J Med*. 2018;378(25):2386-98.
- Stein EM, Fathi AT, DiNardo CD, Pollyea DA, Roboz GJ, Collins R, et al. Enasidenib in patients with mutant IDH2 myelodysplastic syndromes: a phase 1 subgroup analysis of the multicentre, AG221-C-001 trial. *Lancet Haematol*. 2020;7(4):e309-e319.
- Assi R, Kantarjian HM, García-Manero G, Cortes JE, Pemmaraju N, Wang X, et al. A phase II trial of ruxolitinib in combination with azacitidine in myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol*. 2018;93(2):277-85.