

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



Facultat de Medicina i Odontologia

Departamento de Medicina

Programa de doctorado 3139



**Programa piloto de cribado de susceptibilidad a neoplasias
hematológicas hereditarias**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Marta Santiago Balsera

Dirigida por:

Dr. José Vicente Cervera Zamora

Dra. Esperanza Such Taboada

Tutor académico:

Dr. Jaime Sanz Caballer

JOSÉ VICENTE CERVERA ZAMORA, Doctor en Medicina por la Universidad de Valencia y jefe de la Unidad de Genética y Diagnóstico Prenatal del Hospital Universitari i Politècnic La Fe,

ESPERANZA SUCH TABOADA, Doctora en Biología por la Universidad de Valencia y responsable del Laboratorio de Citogenética Hematológica del Servicio de Hematología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe,

JAIME SANZ CABALLER, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia y Coordinador de la Unidad de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos y Terapia Celular del Hospital Universitari i Politècnic La Fe,

CERTIFICAN:

Que la tesis doctoral titulada: “**Programa piloto de cribado de susceptibilidad a neoplasias hematológicas hereditarias**” ha sido realizado bajo nuestra dirección por **Marta Santiago Balsera**, Licenciada en Medicina y Cirugía, y reúne a nuestro juicio condiciones suficientes para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente para optar al grado de **Doctor**.

En Valencia, a 26 de abril de 2025

Fdo.: **Dr. José Vte. Cervera Zamora**

Fdo.: **Dra. Esperanza Such Taboada**

Fdo.: **Dr. Jaime Sanz Caballer**

AGRADECIMIENTOS

Gracias, Jose, por darme esta oportunidad y por compartir tu generosa experiencia.

Gracias, Espe, por tu entusiasmo y tu implicación constante.

Gracias, Alessandro y Ángel, por vuestra enseñanza y vuestra infinita paciencia.

Gracias, Jaime, por abrirme el camino al terminar la residencia.

Gracias a los compañeros de los laboratorios del Servicio de Hematología y de la Unidad de Genética del Hospital La Fe, así como al resto de colaboradores de este proyecto, por hacer posible esta tesis doctoral.

Gracias a los compañeros del Banco de Sangre y la Unidad de Aféresis, en especial a Pilar, Inés y Pedro, por vuestro apoyo en los momentos más duros del camino.

Gracias, Bea, Gaya, Marta, Irene, Pilar, Amparo, Nino y mis CoR, Carmen y Ana, por estar, por escucharme y acompañarme.

Gracias a mis amigos y a mi familia, especialmente a mi madre y mi hermano, por vuestra confianza y vuestro cariño incondicional.

Y gracias a ti, Jose, por ser luz en la oscuridad, por tu paciencia, tu ayuda, tu escucha, por hacerlo todo más fácil, por creer en mí y por hacerme feliz.

A mi padre,

que tan orgulloso estará de mí.

Hoy cumplo un sueño por los dos.

También hoy cierro una etapa.

Siempre conmigo.

ÍNDICE

ÍNDICE TEMÁTICO

Contenido

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE TEMÁTICO.....	III
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. SÍNDROMES DE PREDISPOSICIÓN GENÉTICA AL CÁNCER	3
1.1.1. Síndromes de predisposición al cáncer: generalidades	3
1.1.2. Síndromes de predisposición al cáncer: neoplasias hematológicas	4
1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS	8
1.3. DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS	11
1.3.1. Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal sin alteraciones plaquetares previas o disfunción orgánica	11
1.3.2. Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y alteraciones plaquetares previas.....	14
1.3.3. Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y potencial disfunción orgánica.....	16
1.4. DIAGNÓSTICO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS: QUIÉN, DÓNDE, CUÁNDO Y CÓMO	25
1.4.1. ¿Quién tiene indicación de realizarse el estudio genético?	25
1.4.2. ¿En qué muestra ha de llevarse a cabo el estudio genético?	28
1.4.3. ¿Cuándo es el momento óptimo para llevar a cabo un estudio genético germinal?	30
1.4.4. ¿Cómo ha de llevarse a cabo el estudio genético?	30
1.5. MANEJO Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES Y FAMILIARES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS	39
1.5.1. Asesoramiento genético y consentimiento informado.....	39
1.5.2. Manejo de pacientes con una neoplasia hematológica hereditaria	40
1.5.3. Estudio y seguimiento de familiares portadores sin enfermedad activa.....	41
1.5.4. Opciones reproductivas	42
2. HIPÓTESIS.....	45
3. OBJETIVOS.....	49

4. MATERIAL Y MÉTODOS	53
4.1. SERIE DE PACIENTES A ESTUDIO	55
4.2. FLUJO DE TRABAJO EN LA CONSULTA/LABORATORIO DE GENÉTICA HEMATOLÓGICA	56
4.2.1. Contacto con la CGH del Hospital La Fe	56
4.2.2. Primera visita: asesoramiento genético pre-test y obtención de la muestra germinal	56
4.2.3. Análisis genético del DNA germinal e interpretación de resultados.....	58
4.2.4. Segunda visita: asesoramiento genético post-test y segregación familiar	61
4.2.5. Manejo y seguimiento de pacientes con una NHH y familiares portadores...	63
4.3. DEFINICIONES Y HERRAMIENTAS.....	66
4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	69
5. RESULTADOS	71
5.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES A ESTUDIO.....	73
5.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS DE ORIGEN GERMINAL	74
5.3. RENDIMIENTO TÉCNICO DEL PANEL DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS	76
5.4. ESPECTRO DE VARIANTES GENÉTICAS DE ORIGEN GERMINAL	76
5.4.1. Descripción de las variantes germinales detectadas en la serie global	76
5.4.2. Distribución de las variantes germinales en los pacientes de la serie global	90
5.5. CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE GLOBAL	91
5.5.1. Descripción clínica y familiar de los pacientes con una NHH.....	97
5.6. CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE CONSECUTIVA: EVALUACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SOSPECHA	149
5.6.1. Edad al debut de la enfermedad mieloide	150
5.6.2. Antecedentes personales de citopenias	150
5.6.3. Signos y síntomas relacionados con NHHs.....	150
5.6.4. Antecedentes personales onco-hematológicos	151
5.6.5. Antecedentes familiares onco-hematológicos.....	154
5.6.6. Alteraciones somáticas adquiridas.....	156
5.6.7. Evaluación conjunta de los criterios de sospecha establecidos en la CGH ...	159
5.7. IMPACTO CLÍNICO DE LOS SÍNDROMES DE PREDISPOSICIÓN GERMINAL.....	162
5.7.1. Adaptación del manejo y selección de donantes en pacientes con una NHH	162
5.7.2. Estudio de segregación familiar y seguimiento clínico de portadores.....	164
6. DISCUSIÓN.....	167
6.1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	169

6.2.	MUESTRAS DE ORIGEN GERMINAL	170
6.3.	PANEL DE NGS DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS	171
6.4.	INTERPRETACIÓN DE LAS ALTERACIONES GERMINALES	171
6.4.1.	Modo de herencia	171
6.4.2.	Grado de patogenicidad	172
6.5.	CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE GLOBAL: PACIENTES CON UN SÍNDROME DE PREDISPOSICIÓN GERMINAL.....	173
6.6.	CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE CONSECUTIVA: EVALUACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SOSPECHA	180
6.6.1.	Edad al debut de la enfermedad mieloide	180
6.6.2.	Antecedentes personales de citopenias	181
6.6.3.	Signos y síntomas relacionados con NHH	181
6.6.4.	Antecedentes personales onco-hematológicos	181
6.6.5.	Antecedentes familiares onco-hematológicos.....	182
6.6.6.	Alteraciones somáticas adquiridas.....	183
6.6.7.	Evaluación conjunta de los criterios de sospecha establecidos en la CGH ...	184
6.7.	IMPACTO CLÍNICO DEL PROGRAMA DE PREDISPOSICIÓN EN EL HOSPITAL LA FE	186
7.	CONCLUSIONES.....	189
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	193
9.	ANEXOS.....	223
	ANEXO 1. PRINCIPALES NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS.....	225
	ANEXO 2. CRITERIOS PARA CATEGORIZAR VARIANTES VUS	229
	ANEXO 3. APLICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE LA ACMG EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS	230
	ANEXO 4. PANELES SOMÁTICOS DE SECUENCIACIÓN MASIVA.	245
	ANEXO 5. ELABORACIÓN DEL ÁRBOL GENEALÓGICO	246
	ANEXO 6. PANEL <i>CUSTOM</i> DE NGS.....	248
	ANEXO 7. PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIA HEMATOLÓGICA HEREDITARIA EN NUESTRA SERIE.....	252
	ANEXO 8. CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE LOS PACIENTES CON UNA NEOPLASIA HEMATOLÓGICA HEREDITARIA EN LA SERIE CONSECUTIVA	275

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal, OMS 2016 ⁵¹ .	8
Tabla 2. Subtipos de neoplasias mieloides asociadas con predisposición en línea germinal, OMS 2022 ⁵⁵ .	9
Tabla 3. Clasificación del Consenso Internacional de las neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal, ICC 2022 ⁵⁶ .	10
Tabla 4. Criterios Chompret 2009 para el screening de mutaciones germinales en TP53...	14
Tabla 5. Resumen de rasgos fenotípicos asociados a NHHs.	26
Tabla 6. Muestras de origen germinal para el estudio de NHHs.	29
Tabla 7. Criterios para evaluar variantes. A) Patogenicidad. B) Benignidad.	34
Tabla 8. Combinación de criterios de la ACMG/AMP para la categorización de variantes.	36
Tabla 9. Niveles de fuerza para criterios patogénicos y benignos según la escala de puntos del sistema decimal.	37
Tabla 10. Estrategias para el diagnóstico genético.	39
Tabla 11. Criterios de sospecha para derivar a un paciente a la CGH.	55
Tabla 12. Actitud en función del tipo de variante detectada.	63
Tabla 13. Estudio y seguimiento de individuos y familiares con una NHH.	64
Tabla 14. Características demográficas y clínicas de los pacientes de la serie global.	73
Tabla 15. Características demográficas y clínicas de la serie dirigida y la serie consecutiva.	74
Tabla 16. Características de las muestras germinales analizadas.	75
Tabla 17. Descripción de las alteraciones genéticas encontradas en la serie global.	79
Tabla 18. Comparación de parámetros al diagnóstico en enfermedad mieloide germinal vs. esporádica.	94
Tabla 19. Comparación de parámetros al diagnóstico en insuficiencia medular germinal vs. esporádica.	94
Tabla 20. Relación de colores en función del tipo de cáncer representado.	97
Tabla 21. Características demográficas y clínicas de los pacientes en la serie consecutiva.	149
Tabla 22. Características demográficas y clínicas de pacientes con más de una neoplasia independiente dentro de la serie consecutiva.	152
Tabla 23. Antecedentes oncológicos en pacientes con una NHH vs. enfermedad esporádica.	154
Tabla 24. Antecedentes familiares de primer grado en la serie consecutiva.	155
Tabla 25. Modelo de regresión logística para evaluar el efecto de los antecedentes familiares de primer grado en la probabilidad de desarrollar una NHH.	155
Tabla 26. Distribución de las alteraciones estructurales en la serie consecutiva obtenidas mediante cariotipo convencional o FISH.	157

Tabla 27. Resumen de la evaluación de criterios de sospecha en pacientes con una NHH y pacientes con una enfermedad esporádica.	160
Tabla 28. Número de pacientes con NHH o enfermedad esporádica que cumplían los criterios de sospecha significativos.	160
Tabla 29. Evaluación de los criterios de sospecha (cumplir al menos uno) en pacientes con NHH.	161
Tabla 30. Modelo de regresión logística para evaluar el efecto de los criterios de sospecha en la probabilidad de desarrollar una NHH.....	161
Tabla 31. Selección de donantes para el alo-TPH de familias con NHH.	163
Tabla 32. Acciones realizadas con las familias que presentaron una NHH.	164
Tabla 33. Resultados del estudio de segregación.....	165

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. A) Solapamiento entre genes con predisposición a distintas entidades hematológicas. B) Solapamiento entre genes con predisposición a neoplasias hematológicas vs. sólidas. Figura modificada de Tawana <i>et al.</i> ⁵⁰ .	7
Figura 2. Representación integrada de los síndromes de insuficiencia medular donde se muestran algunas de las entidades genéticamente definidas ⁵⁷ .	11
Figura 3. Presentación clínica del Síndrome de haploinsuficiencia de GATA2 ¹²² .	18
Figura 4. Mecanismos de adaptación de <i>SAMD9/9L</i> .	20
Figura 5. Telomerasa y otros componentes del telómero involucrados en los síndromes de acortamiento de telómeros ¹⁶¹ .	22
Figura 6. Distribución de edad al debut de neoplasias hematológicas en pacientes portadores de mutaciones en genes de predisposición germinal ²²⁹ .	26
Figura 7. Recopilación de rasgos fenotípicos asociados a algunas NHHs ²²⁷ .	27
Figura 8. Flujo de trabajo de la NGS.	31
Figura 9. A) Pasos para el análisis de NGS por el método de captura. B) Pasos para el análisis de NGS por el método de amplicones.	32
Figura 10. Proceso de preparación de librerías (Agilent)	60
Figura 11. Resumen de la estrategia diagnóstica y clínica llevada a cabo por la Consulta/Laboratorio de Genética Hematológica durante este proyecto de Tesis Doctoral.	65
Figura 12. Distribución del tejido utilizado como muestra germinal	76
Figura 13. Distribución de genes con alteraciones deletéreas (A) y de significado clínico incierto (B) según el patrón de herencia.	77
Figura 14. Estratificación de variantes de significado clínico incierto siguiendo las guías ACGS ²³⁸ .	78
Figura 15. Distribución de variantes dentro de la serie global.	90
Figura 16. Genes causantes de una NHH en nuestra serie.	91
Figura 17. Conjunto de pacientes con una NHH en la serie global representados mediante un gráfico <i>Sankey plot</i> .	92
Figura 18. Edad de los pacientes con una NHH al debut de su enfermedad hematológica.	93
Figura 19. Comparación de parámetros entre pacientes con enfermedad germinal (G) vs. enfermedad esporádica (E). A) Edad al diagnóstico; B) Hemoglobina; C) VCM; D) Plaquetas; E) Leucocitos; F) Celularidad; G) Displasia.	96
Figura 20. Resultados del análisis por MLPA (<i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>) que muestran una delección en homocigosis de los exones 21 (A) y 22 (B) del gen <i>FANCA</i> .	115
Figura 21. Resultados del análisis por MLPA (<i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>) que muestra una delección completa en heterocigosis del gen <i>RPL11</i> .	133
Figura 22. Imagen obtenida mediante array genómico, que muestra una delección de genes contiguos en heterocigosis, incluyendo el gen <i>RPS17</i> .	135

Figura 23. Análisis comparativo de NHH entre pacientes con >1 neoplasia independiente y pacientes con una neoplasia/enfermedad mieloide aislada.	151
Figura 24. Distribución de genes responsables de una NHH en los pacientes con neoplasia mieloide multi cáncer (NM-MC) y neoplasia mieloide relacionada con la terapia (NM-t).....	153
Figura 25. <i>Heatmap</i> de alteraciones somáticas.....	157
Figura 26. <i>Heatmap</i> de alteraciones somáticas en los pacientes con diagnóstico de NHH.	159
Figura 27. Curva ROC que evalúa la capacidad discriminativa del modelo.	162

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ACGS:	del inglés, <i>Association for Clinical Genomic Science</i>
ACMG:	del inglés, <i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>
alo-TPH:	Trasplante alogénico de Progenitores Hematopoyéticos
AMP:	del inglés, <i>Association for Molecular Pathology</i>
ASCO:	del inglés, <i>American Society of Clinical Oncology</i>
AUC:	del inglés, <i>area under the curve</i>
CNV:	del inglés, <i>Copy Number Variant</i>
DNA:	del inglés, <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FISH:	del inglés, <i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>
GoF:	del inglés, <i>Gain of Function</i>
ICC:	del inglés, <i>International Consensus Classification</i>
IGV:	del inglés, <i>Integrative Genomics Viewer</i>
IM:	Insuficiencia Medular
LLA:	Leucemia Linfoblástica Aguda
LMA:	Leucemia Mieloblástica Aguda
LoF:	del inglés, <i>Loss of Function</i>
LOH:	del inglés, <i>Loss of Heterozygosity</i>
MAF:	del inglés, <i>Minor Allele Frequency</i>
MLPA:	del inglés, <i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>
NHH:	Neoplasia Hematológica Hereditaria
NGS:	del inglés, <i>Next Generation Sequencing</i>
NMPG:	Neoplasia Mieloide de Predisposición Germinal
OMIM:	del inglés, <i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
OMS:	Organización Mundial de la Salud
RNA:	del inglés, <i>Ribonucleic Acid</i>
ROC:	del inglés, <i>Receiver Operating Characteristic</i>
SMD:	Síndrome Mielodisplásico
SMPC:	Síndrome Mieloproliferativo Crónico
SLPC:	Síndrome Linfoproliferativo Crónico
SNP:	del inglés, <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SNV:	del inglés, <i>Single Nucleotide Variant</i>
VAF:	del inglés, <i>Variant Allele Frequency</i>
VCM:	Volumen Corpuscular Medio
VPN:	Valor Predictivo Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

VUS: del inglés, *Variant of Uncertain Significance*

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SÍNDROMES DE PREDISPOSICIÓN GENÉTICA AL CÁNCER

1.1.1. Síndromes de predisposición al cáncer: generalidades

Si bien la mayoría de los procesos malignos (>90%) tienen un origen esporádico, resultado de la acumulación de alteraciones genéticas en las células de un individuo a lo largo de los años, en un 5-10% de casos, su desarrollo está relacionado con la presencia de un síndrome de predisposición genética al cáncer (SPGC)¹. En estos casos, el individuo porta una alteración genética desde su nacimiento (que podría haber heredado de sus progenitores y potencialmente transmisible a su descendencia) que implica una mayor susceptibilidad a desarrollar la enfermedad a lo largo de su vida. No obstante, estos síndromes no suponen una probabilidad del 100% de que aparezca la enfermedad, sino que incrementan el riesgo de desarrollarla en comparación con la población general.

Hasta la fecha, se han descrito alrededor de 200 SPGC¹, la mayoría de los cuales son procesos monogénicos que siguen patrones de herencia mendelianos, donde la historia familiar es clave para su identificación y asesoramiento genético². La mayoría de estos síndromes pueden considerarse enfermedades raras, es decir, aquéllas cuya incidencia es menor de 5 casos por 100.000 habitantes, y comparten una serie de circunstancias comunes. Así, en estos síndromes la información epidemiológica suele ser escasa, lo que dificulta su investigación científica³, comportan importantes desafíos sanitarios y a menudo se acompañan de un fuerte impacto personal y familiar. Finalmente, su diagnóstico y manejo suele ser complejo. Por estos motivos, se han desarrollado distintos programas de cáncer hereditario con el objetivo de facilitar un abordaje más integral para los pacientes con este tipo de trastornos. En el caso concreto de las neoplasias hematológicas, en buena medida debido a su más reciente caracterización y relativa rareza en comparación con otras formas de cáncer, no han sido todavía incluidas de forma sistemática en este tipo de programas de predisposición al cáncer.

En 1996, y en actualizaciones posteriores, la Asociación Americana de Oncología Clínica (ASCO) estableció una serie de recomendaciones para los síndromes de predisposición al cáncer^{4,5}, que se detallan a continuación:

- *Indicación para el test genético*: la ASCO recomienda que se lleve a cabo el estudio genético cuando el individuo tenga antecedentes personales o familiares de susceptibilidad al cáncer, el test se pueda interpretar de forma adecuada y el resultado ayude en el diagnóstico o influya en el manejo del paciente y sus familiares. Este test debe llevarse a cabo siempre en el contexto de un apropiado asesoramiento pre y post-test.
- *Test genético en niños*: la ASCO recomienda que los padres del menor pueden decidir si realizar o no el test siempre y cuando haya probabilidad de desarrollo de una neoplasia durante la infancia y existan estrategias efectivas de reducción del riesgo. En caso contrario, la ASCO recomienda demorar el test genético hasta que el individuo pueda tomar sus propias decisiones.
- *Asesoramiento genético*: durante el asesoramiento genético pre y post-test, la ASCO recomienda que se discutan con el paciente los riesgos y beneficios de la detección temprana de cáncer, así como las distintas estrategias de prevención, algunas de las cuales pueden no tener una eficacia completamente demostrada.
- *Garantía de calidad en los laboratorios*: los test genéticos de predisposición hereditaria deben llevarse a cabo únicamente en laboratorios que cuenten con las debidas exigencias de excelencia y calidad.
- *Protección frente a la discriminación en seguros y empleo*.

- *Cobertura de servicios*: la ASCO recomienda que todos los individuos en riesgo de presentar susceptibilidad al cáncer tengan acceso a un asesoramiento y test genético, así como al posterior manejo y seguimiento.
- *Confidencialidad y comunicación del riesgo familiar*: la ASCO enfatiza la importancia de que los pacientes comuniquen los resultados a sus familiares en riesgo.
- *Educación en Genética*: la ASCO se compromete a continuar con la formación de profesionales en la predisposición a distintos tipos de neoplasias con el objetivo de integrar el cuidado y manejo de pacientes con cáncer hereditario en la práctica clínica habitual y la medicina preventiva.

1.1.2. Síndromes de predisposición al cáncer: neoplasias hematológicas

A principios del siglo XX se describieron los primeros casos de pacientes con enfermedades hematológicas que presentaban algún tipo de agregación familiar⁶. No obstante, hubo que esperar hasta 1999 para comprender por primera vez las bases moleculares de los síndromes de predisposición a neoplasias hematológicas, ya que fue entonces cuando se revelaron las primeras variantes patogénicas de origen germinal en el gen *RUNX1*^{7,8}. Desde entonces, y recientemente de forma acelerada por el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva (NGS; del inglés *Next-Generation Sequencing*), se han asociado muchos más genes con la predisposición germinal a neoplasias hematológicas, incluyendo mutaciones en *ANKRD26*⁹⁻¹¹, *ETV6*¹²⁻¹⁴, *CEBPA*¹⁵, *DDX41*¹⁶, *GATA2*¹⁷, *RBBP6*¹⁸, *TERT*, *TERC*¹⁹ y, más recientemente, alteraciones en los genes *SAMD9*²⁰ y *SAMD9L*^{21,22}.

Los síndromes de predisposición a neoplasias hematológicas, también conocidos como neoplasias hematológicas hereditarias (NHHs) o neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal, incluyen dos tipos de trastornos²³:

- Síndromes familiares de predisposición a neoplasias mieloides/linfoides, que son trastornos mendelianos en los cuales la neoplasia hematológica es el principal rasgo clínico, y que han sido descritos recientemente en su mayoría.
- Síndromes clásicos con insuficiencia medular (IM) que presentan, sobre todo, predisposición a síndrome mielodisplásico (SMD)/leucemia mieloide aguda (LMA).

La incidencia de estas NHHs ha sido considerada hasta hace pocos años como anecdótica, especialmente en adultos, al haberse asociado clásicamente a trastornos pediátricos muy bien definidos. Sin embargo, en la actualidad, aunque su prevalencia todavía no se conoce con precisión, se sospecha que afectan al 4–13% de pacientes pediátricos y al 5-10% de pacientes adultos con SMD o LMA^{8,24-28}. Aunque de forma más reciente, cada vez hay más evidencia de que esta predisposición también se extiende a neoplasias linfoides²⁹⁻³¹.

Tal y como se ha apuntado previamente, gracias al desarrollo de la NGS, se han descrito un importante número de genes en relación con estos síndromes durante la última década, afectando a diversos procesos celulares:

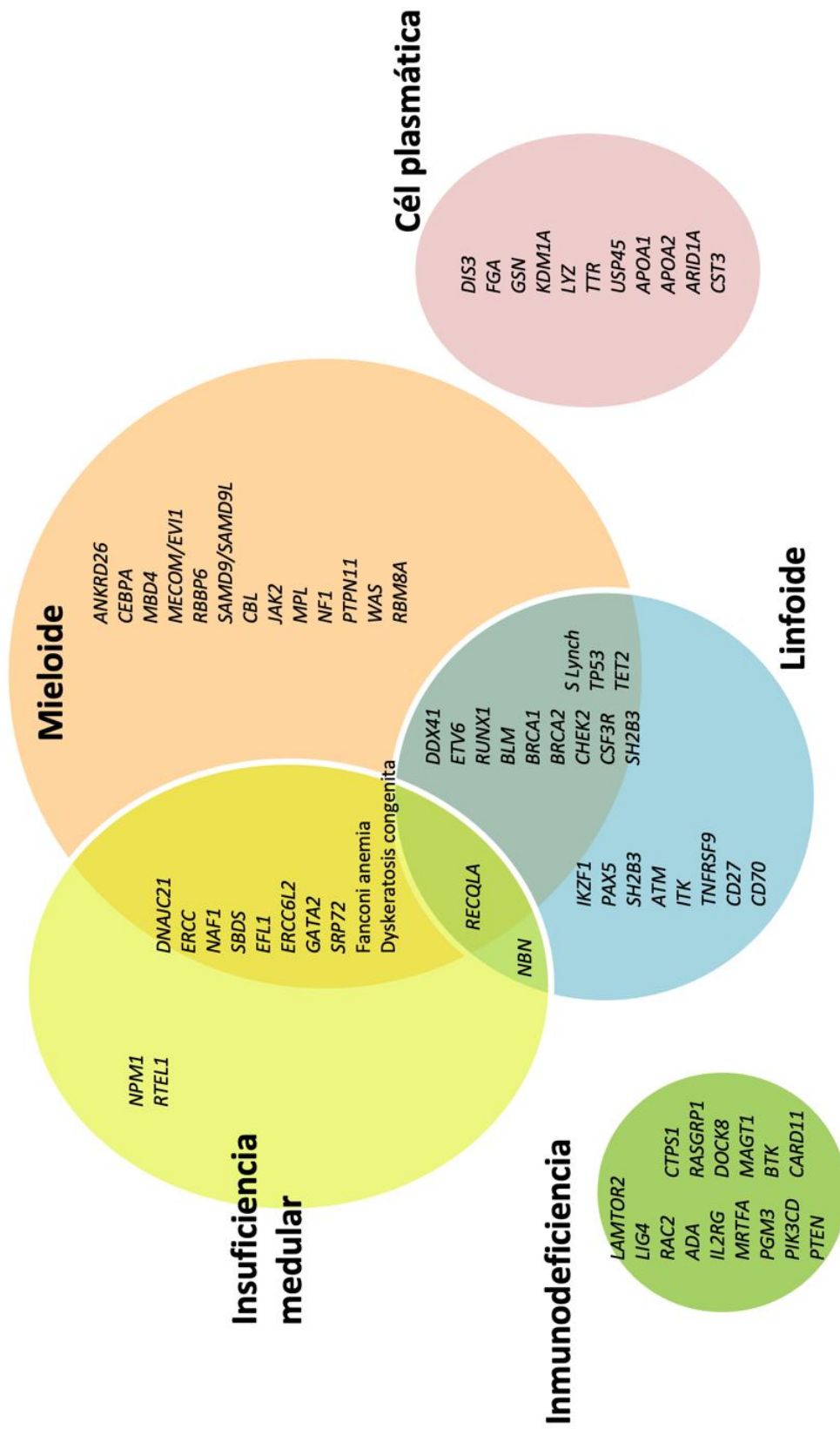
- Factores de transcripción: las mutaciones germinales en el gen *RUNX1* se presentan como un defecto plaquetario cuantitativo y/o cualitativo con predisposición a neoplasias mieloides (OMIM #601399)^{32,33}. Los pacientes con trombocitopenia-5 (OMIM #616216) presentan tendencia a la hemorragia en la infancia, como consecuencia de mutaciones en el gen *ETV6*^{32,34}. Las mutaciones bialélicas del gen *CEBPA* son detectadas en 1-2% de pacientes con LMA. El 10% de los mismos poseen una mutación de línea germinal en dicho gen (OMIM #601626)^{8,15}. El déficit de *GATA2* es reconocido como un síndrome de predisposición a neoplasias mieloides con numerosas manifestaciones (OMIM #601626, #614286, #614038 y #614172)^{8,35}.

- Procesamiento del RNA: las mutaciones de *DDX41* conducen al desarrollo de SMD a una edad similar a la observada en cohortes esporádicas (OMIM #616871)^{8,32,36}.
- Vías de señalización: la trombocitopenia-2 (OMIM #188000) es un trastorno causado por alteración del gen *ANKRD26*. Cursa con trombocitopenia leve-moderada^{9,32}.
- Inflamación: las mutaciones de la línea germinal en los genes *SAMD9* y *SAMD9L* se asocian con diversos trastornos, como el síndrome MIRAGE (OMIM #617053), el síndrome de ataxia-pancitopenia (OMIM #159550) y SMD/LMA con monosomía del cromosoma 7 (OMIM #619041, #252270)³⁷.
- Otras funciones: tráfico celular: *SRP54* (OMIM #618752), *SRP72* (OMIM #614675); mantenimiento de los telómeros: *ACD* (OMIM #616553), *TERT* (OMIM #613989), *TERC* (OMIM #127550); autofagia: *ATG2B* (OMIM #616226), estabilidad genómica: *TP53* (OMIM #151623), *BRCA1* (OMIM #617883), *BRCA2* (OMIM #605724), etc^{8,32,38,39}.

No obstante, aunque el crecimiento del número de genes implicados en estos síndromes ha sido exponencial en los últimos años, se calcula que los factores genéticos que conocemos actualmente pueden explicar menos de la mitad de los casos aparentemente familiares de neoplasias hematológicas⁴⁰. Además, la variabilidad observada en la penetrancia, expresividad y latencia de la mayoría de los cuadros clínicos sugiere que estos factores genéticos son necesarios, pero insuficientes para que se produzca una transformación clonal; ya que se requiere, además, de la adquisición de mutaciones somáticas adicionales a lo largo de la vida para que finalmente se desencadene el proceso maligno⁴⁰⁻⁴². En otras ocasiones, de forma aparentemente paradójica, la aparición de una clona somática puede ser beneficiosa para la célula madre portadora de una variante germinal, ya que puede favorecer un entorno adaptativo, mejorando así la hematopoyesis⁴¹.

Finalmente, aunque determinados genes han sido relacionados con la predisposición al cáncer sólido, algunos de ellos también están implicados en la predisposición a neoplasias hematológicas⁴³, como es el caso de *TP53*, *ATM*, *CHEK2*, *BRCA1* o *BRCA2*, entre otros genes involucrados en la vía de reparación del DNA⁴⁴. El resultado final del uso de vías de reparación alteradas es una acumulación de mutaciones somáticas, especialmente en células de rápida división (epiteliales, mamarias, hematopoyéticas), con un mayor riesgo de desarrollar malignidad. Las mutaciones germinales en estos genes han sido bien caracterizadas como factores de riesgo para cáncer de mama, próstata y páncreas; y hay una evidencia creciente de que también son factores de riesgo para neoplasias hematopoyéticas⁴⁵. Por otra parte, si bien los cánceres esporádicos son sensibles a la dieta y otros factores ambientales, la susceptibilidad a desarrollar una neoplasia secundaria tras haber recibido radio-quimioterapia, como sucede en algunas leucemias agudas, puede verse aumentada en pacientes portadores de variantes germinales deletéreas en genes reparadores del DNA⁴⁶⁻⁴⁹. En la **Figura 1**, se representa de forma esquemática el solapamiento de factores genéticos con predisposición a distintos tipos de neoplasias tanto hematológicas (**A**) como no hematológicas (**B**)⁴³.

A



B

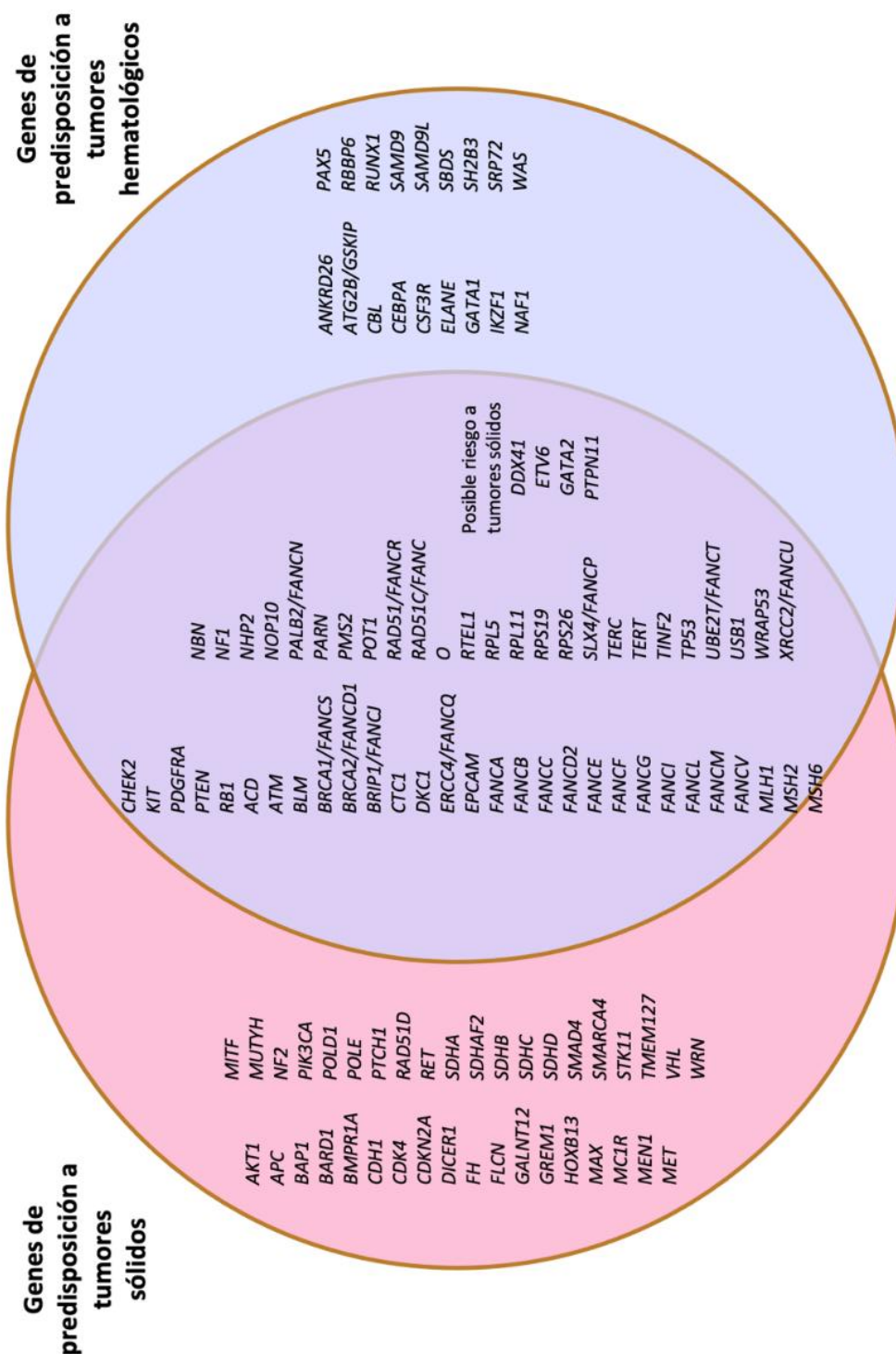


Figura 1. A) Solapamiento entre genes con predisposición a distintas entidades hematológicas. **B)** Solapamiento entre genes con predisposición a neoplasias hematológicas vs. sólidas. Figura modificada de Tawana *et al.*⁵⁰.

1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS

Pese a que la identificación de estas entidades apenas ha tenido lugar en la última década, los datos son lo suficientemente sólidos como para que la Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 incorporara por primera vez a las neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal (NMPG) como categorías provisionales⁵¹. Considerando la robustez de los datos, estas neoplasias también se han integrado en otras guías y recomendaciones de expertos, como las Guías Nórdicas, las Guías Españolas o la European Leukemia Net⁵²⁻⁵⁴, subrayando así la necesidad de identificar, diagnosticar y manejar correctamente a estos pacientes. En la **Tabla 1**, se puede observar la clasificación propuesta por la OMS en 2016.

Tabla 1. Clasificación de neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal, OMS 2016⁵¹.

Neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal sin alteraciones plaquetares previas o disfunción orgánica
LMA con mutación germinal en <i>CEBPA</i>
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>DDX41</i> *
Neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal y alteraciones plaquetares previas
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>RUNX1</i> *
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>ANKRD26</i> *
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>ETV6</i> *
Neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal y disfunción orgánica
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>GATA2</i>
Neoplasias mieloides asociadas con síndromes de insuficiencia medular
Neoplasias mieloides asociadas con telomeropatías
Leucemia mielomonocítica juvenil asociada con neurofibromatosis, síndrome de Noonan o síndrome de Noonan-like
Neoplasias mieloides asociadas con síndrome de Down*

*También reportadas neoplasias linfoides

En 2022, la actualización de la clasificación de neoplasias mieloides llevada a cabo por la OMS sitúa a las NMPG como una subcategoría dentro de las neoplasias mieloides secundarias, junto a las neoplasias mieloides post-terapia citotóxica. De este modo, se pretende señalar que el desarrollo de estos dos grupos de neoplasias se debe a la existencia de distintos factores predisponentes. Además, proponen que las “NMPG” y las “neoplasias mieloides post-terapia citotóxica” sean atributos que deben añadirse al diagnóstico principal de la neoplasia mieloide⁵⁵. Respecto a la anterior clasificación de la OMS, incorporan el síndrome de Li-Fraumeni dentro de las NMPG sin alteraciones plaquetares previas o disfunción orgánica, y los síndromes de *SAMD9/9L* dentro de las NMPG y potencial disfunción orgánica. En la

Tabla 2, se puede observar la clasificación propuesta por la OMS en su 5ª edición.

Tabla 2. Subtipos de neoplasias mieloides asociadas con predisposición en línea germinal, OMS 2022⁵⁵.

Neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal sin alteraciones plaquetares previas o disfunción orgánica
Variante germinal en <i>CEBPA</i> P/LP (LMA familiar asociada a <i>CEBPA</i>)
Variante germinal en <i>DDX41</i> P/LP*
Variante germinal en <i>TP53</i> * (Síndrome de Li-Fraumeni)
Neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal y alteraciones plaquetares previas
Variante germinal en <i>RUNX1</i> * P/LP (Trastorno plaquetar familiar asociado a neoplasia mieloide)
Variante germinal en <i>ANKRD26</i> * P/LP (Trombocitopenia-2)
Variante germinal en <i>ETV6</i> * P/LP (Trombocitopenia-5)
Neoplasias mieloides con predisposición en línea germinal y potencial disfunción orgánica
Variante germinal en <i>GATA2</i> P/LP (Déficit de <i>GATA2</i>)
Síndromes de insuficiencia medular - Neutropenia severa congénita - Síndrome de Shwachman-Diamond - Anemia de Fanconi
Telomeropatías
RASopatías* (Neurofibromatosis tipo 1, Síndrome de Noonan o Síndrome de Noonan-like)
Síndrome de Down*
Variante germinal en <i>SAMD9</i> P/LP (Síndrome de MIRAGE)
Variante germinal en <i>SAMD9L</i> P/LP (Síndrome de ataxia-pancitopenia relacionado con <i>SAMD9L</i>) ⁺
Variante germinal bialélica en <i>BLM</i> P/LP (Síndrome de Bloom)

*También reportadas neoplasias linfoides

⁺La ataxia no está siempre presente

P: patogénico (del inglés, *Pathogenic*); LP: probablemente patogénico (del inglés, *Likely Pathogenic*)

Por su parte, la Clasificación del Consenso Internacional (del inglés: *International Consensus Classification*, ICC) de neoplasias mieloides y leucemia aguda publicada en 2022 sitúa a las NHHs como una categoría propia y las divide en 4 subgrupos. Teniendo en cuenta la evidencia de que muchos de los genes implicados predisponen no sólo a neoplasias mieloides, sino también a neoplasias linfoides, la ICC sustituye el término “neoplasias mieloides” por “neoplasias hematológicas” con predisposición en línea germinal. Además, respecto a la clasificación de la

OMS de 2016, se añaden nuevas entidades, incluyendo *SAMD9/9L*, *IKZF1*, *PAX5* y *TP53*. La ICC también propone que la categoría de “neoplasia hematológica con predisposición germinal” sea un atributo que añadir al diagnóstico principal de la neoplasia hematológica⁵⁶. En la **Tabla 3**, se puede observar la clasificación propuesta por la ICC.

Tabla 3. Clasificación del Consenso Internacional de las neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal, ICC 2022⁵⁶.

Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal sin trastorno constitucional o afectación multiorgánica
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>CEBPA</i>
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en <i>DDX41</i>
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en <i>TP53</i>
Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal asociadas a trastorno plaquetar constitucional
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en <i>RUNX1</i>
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>ANKRD26</i>
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en <i>ETV6</i>
Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal asociadas a trastorno constitucional con afectación multiorgánica
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>GATA2</i>
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>SAMD9</i>
Neoplasias mieloides con mutación germinal en <i>SAMD9L</i>
Neoplasias mieloides asociadas a síndromes de insuficiencia medular
Anemia de Fanconi
Síndrome de Shwachman-Diamond
Telomeropatías, incluyendo Disqueratosis Congénita
Neutropenia severa congénita
Anemia de Blackfan-Diamond
Leucemia mielomonocítica juvenil asociada con neurofibromatosis
Leucemia mielomonocítica juvenil asociada con Síndrome de Noonan-like (Síndrome CBL)
Neoplasias mieloides o linfoides asociadas con Síndrome de Down
Leucemia aguda linfoblástica con predisposición en línea germinal*
Leucemia aguda linfoblástica con mutación germinal en <i>PAX5</i>
Leucemia aguda linfoblástica con mutación germinal en <i>IKZF1</i>

*El Síndrome de Down y las mutaciones germinales en *ETV6* o *TP53* también predisponen a leucemia aguda linfoblástica.

1.3. DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS

A continuación, se describen las principales entidades con predisposición germinal a neoplasias hematológicas y se revisan sus características biológicas y clínicas. En la **Figura 2**, se representan de forma integrada los principales cuadros de pancitopenia/insuficiencia medular. En el **Anexo 1 (Tabla suplementaria 1)** se sintetizan sus características más importantes.

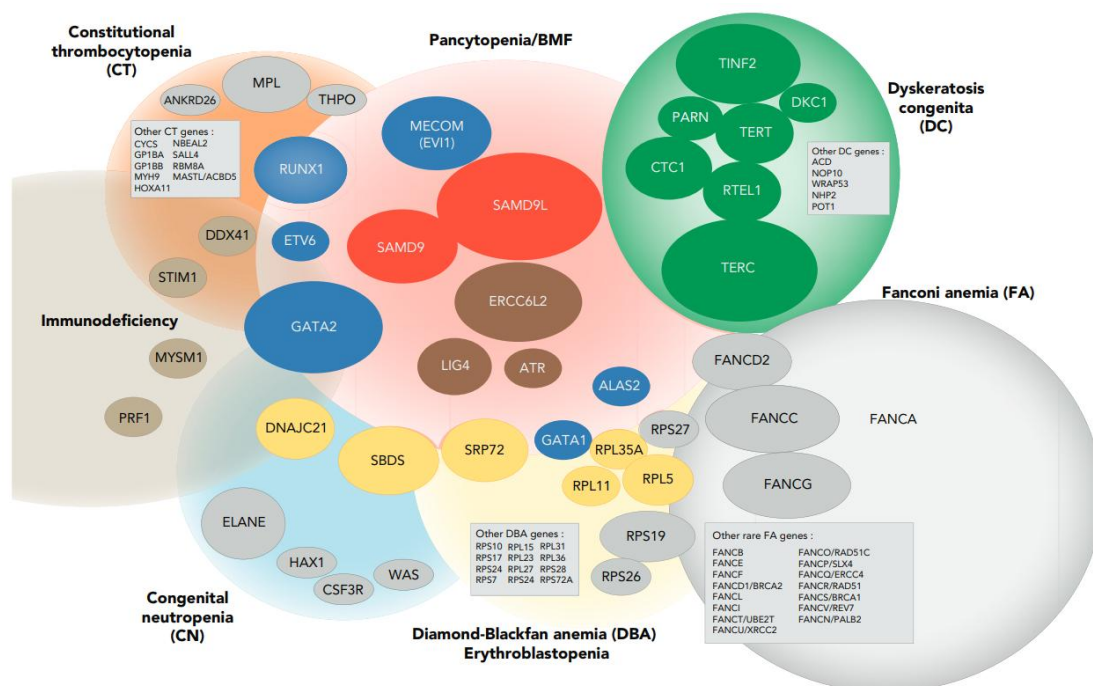


Figura 2. Representación integrada de los síndromes de insuficiencia medular donde se muestran algunas de las entidades genéticamente definidas⁵⁷.

1.3.1. Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal sin alteraciones plaquetarias previas o disfunción orgánica

Síndrome de predisposición germinal con alteración en *DDX41* (variante germinal en *DDX41*) (OMIM #616871)

Características biológicas:

DDX41 es un gen supresor de tumores ubicado en el brazo largo del cromosoma 5 (5q35) y codifica para una helicasa de RNA, DEAD-box. Aunque su función no es bien conocida, se cree que forma parte del complejo del *esplíceosoma* y que está implicado en la inmunidad innata y la diferenciación y maduración de progenitores hematopoyéticos^{16,58}. Más del 60 % de los pacientes con alteraciones germinales en *DDX41* presentan mutaciones con pérdida de función (*nonsense*, *frameshift*, *splicing* o afectación del codón de inicio), siendo las más frecuentes las variantes p.M1? y p.D140fs^{59,60}. Estas mutaciones en línea germinal predisponen a la aparición de *hits* somáticos en el alelo sano del mismo gen, confiriendo así una mayor ventaja proliferativa a la célula. De este modo, la mayoría de los pacientes (50-70%) presentan una segunda variante en el gen *DDX41*, especialmente en el *hotspot* p.R525^{36,58,59,61,62}.

De hecho, para algunos autores, la adquisición de una variante patogénica somática en *DDX41* es un criterio de patogenicidad para la interpretación de variantes de la línea germinal^{61,62}. Es interesante mencionar que el 80% de las variantes deletéreas en *DDX41* detectadas en neoplasias mieloides son de origen germinal⁶³.

Características clínicas:

Este síndrome, con un patrón de herencia autosómico dominante, se estima que representa entre un 2-3% de todos los SMD-LMA, constituyendo el gen de predisposición germinal más frecuentemente detectado en neoplasias hematológicas⁶⁴. Fenotípicamente, da lugar a un cuadro indolente con una edad media de aparición que suele situarse en la 6ª-7ª década de la vida^{36,62}. Los pacientes pueden debutar con citopenias años antes del diagnóstico de la neoplasia mieloide o permanecer asintomáticos⁶⁴, con un estudio de médula ósea hipo-normocelular y cariotipo habitualmente normal. Las alteraciones somáticas acompañantes difieren de las neoplasias mieloides esporádicas, siendo las mutaciones en *FLT3* y *NPM1* muy infrecuentes en el caso de la LMA¹⁶. Aunque se trata de neoplasias mieloides con alto riesgo de transformación a LMA, los resultados clínicos son generalmente favorables^{58,64,65}. Más allá de la LMA y el SMD, las mutaciones germinales en *DDX41* parecen predisponer a otras neoplasias hematológicas, como la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), leucemia mieloide crónica (LMC), síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo crónico (SMD/SMPC), neoplasias linfoproliferativas y neoplasias no hematopoyéticas^{61,64}. La penetrancia estimada de este síndrome es del 50% a lo largo de la vida del individuo portador, siendo el riesgo despreciable antes de los 40 años. No obstante, éste se incrementa a partir de esa edad hasta alcanzar el 25% y 50% con 70 y 90 años, respectivamente⁶³. De manera que aún no se comprende, los hombres presentan una penetrancia hasta 4 veces mayor que las mujeres⁵⁸. La edad tardía de inicio, la penetrancia incompleta y la ausencia de antecedentes familiares, hasta en el 70% de los casos, dificultan el reconocimiento de este síndrome de predisposición germinal^{36,64}.

LMA familiar asociada a *CEBPA* (variante germinal en *CEBPA*) (OMIM #601626)

Características biológicas:

CEBPA es un gen de un único exón localizado en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13) que codifica para un factor de transcripción implicado en la diferenciación mieloide^{15,66,67}. Un 10-15% de las LMA esporádicas presentan mutaciones somáticas en *CEBPA* y se acompañan habitualmente de un cariotipo normal^{66,68}. La mayoría de las mutaciones monoalélicas de origen somático se localizan en el dominio bZIP en la región C-terminal del gen (sobre todo variantes *missense* o inserciones/deleciones de tipo *inframe*). Además, las LMA esporádicas pueden presentar también mutaciones bialélicas en este gen, generalmente combinando mutaciones en el extremo C-terminal con otras en el N-terminal⁶⁶. Estas LMA con mutaciones bialélicas en *CEBPA* son consideradas una entidad molecular independiente por estar asociadas a un pronóstico favorable^{51,66,67}.

Por su parte, la mayoría de las mutaciones de origen germinal descritas hasta la fecha se encuentran en el extremo N-terminal, son de tipo *frameshift*^{66,67} y se acompañan frecuentemente de otra mutación somática en el dominio bZIP, siendo por tanto bialélicas y de pronóstico favorable. No obstante, también se han descrito mutaciones germinales en el extremo C-terminal^{68,69}. Estas leucemias familiares se caracterizan por presentar un mecanismo de progresión de enfermedad singular, con aparición de clones leucémicos nuevos e independientes en cada recurrencia⁶⁶.

Características clínicas:

La primera familia afecta de LMA portadora de alteraciones germinales en *CEBPA* se describió en 2004¹⁵. Actualmente, según los datos reportados, estas LMA familiares suponen aproximadamente el 5-10% del total de LMA con mutación en *CEBPA*^{66,68,70}. Las mutaciones en este gen predisponen a LMA casi siempre antes de los 40 años sin un fenotipo clínico de sospecha y con un patrón de herencia autosómico dominante^{66,67}. Aunque el número de casos publicados es todavía limitado, parece que las variantes germinales localizadas en el extremo N-terminal presentan una penetrancia muy alta (90%) comparado con las que se encuentran en el extremo C-terminal (50%)⁶⁶⁻⁶⁹.

Síndrome de Li-Fraumeni (variante germinal en *TP53*) (OMIM #151623)Características biológicas:

El síndrome de Li-Fraumeni (SLF) es un trastorno hereditario causado por mutaciones germinales en *TP53*, el gen supresor de tumores por excelencia, localizado en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13)⁷¹⁻⁷³. *TP53* codifica para un factor de transcripción (p53) encargado de proteger a la célula ante procesos de estrés, cuya pérdida de función ocasiona la inestabilidad génica característica de este síndrome. En la médula ósea, *TP53* se expresa en las células madre hematopoyéticas, donde es esencial para mantenerlas en estado quiescente y para su autorrenovación e integridad genómica³⁸. Las alteraciones somáticas en *TP53* han sido bien descritas en diferentes neoplasias hematológicas, a menudo asociadas con cariotipo complejo, mal pronóstico y resistencia al tratamiento. De igual forma, los pacientes con alteraciones en *TP53* de origen germinal suelen tener respuestas cortas al tratamiento y un pronóstico ominoso⁷³. Las mutaciones germinales de tipo *missense* son las más frecuentes en este síndrome y representan aproximadamente el 70% del total de variantes, apareciendo *de novo* en el 10-20% de los casos⁷³⁻⁷⁷. Distintos autores han descrito una correlación genotipo-fenotipo, ya que el tipo de mutación y su efecto sobre p53 parecen influir en la penetrancia, el tipo de cáncer, la edad de debut y el riesgo de segundas neoplasias^{38,76-78}. En este sentido, Bougeard *et al.* sugieren la distinción de varios tipos de alteraciones en función de su repercusión clínica. Las más graves serían las mutaciones *missense* dominante negativas, que parecen asociarse a un debut más temprano y representan las alteraciones predominantes en portadores que desarrollan cáncer infantil. Las alteraciones menos graves corresponderían a mutaciones de pérdida de función, con un debut más tardío y detectadas predominantemente en portadores que desarrollan el cáncer en la edad adulta. Por su parte, las mutaciones de tipo *missense* no dominante negativas definirían un subtipo intermedio en términos de gravedad clínica⁷⁸.

Características clínicas:

El SLF, descrito por primera vez en 1969 por Frederick P. Li y Joseph F. Fraumeni Jr.^{71,79}, es uno de los síndromes de predisposición al cáncer más agresivos que existen, caracterizado por un elevado riesgo de tumores, tanto sólidos como hematológicos, con una edad media de aparición del primer tumor a los 25 años y un patrón de herencia autosómico dominante^{71-73,76,78}. Por este motivo, las últimas clasificaciones de la OMS y la ICC lo han incorporado dentro de las neoplasias mieloides con predisposición germinal^{55,56}. Abarca un amplio abanico de tumores, entre los que se incluyen sarcomas de tejido blando, osteosarcomas, cáncer de mama pre-menopáusico, tumor cerebral y carcinoma adrenocortical (también conocidos como *core cancers*); además de otros como leucemias, linfomas, cáncer de pulmón, ovario, gastrointestinal y piel^{71,72,74,76,78,80,81}. En 2001, se propusieron una serie de criterios para identificar a

individuos candidatos a realizarse un test genético para *TP53*, que fueron revisados posteriormente en 2008 y 2009 (**Tabla 4**)^{72,82-84}. La incidencia de las leucemias en el SLF es del 2-4%, con una media de aparición de 12 años, y donde encontramos principalmente Leucemia Aguda Linfoblástica de estirpe B (LLA-B) hipodiploide y neoplasias mieloides relacionadas con la terapia^{38,73,74,78,81,85,86}.

Tabla 4. Criterios Chompret 2009 para el screening de mutaciones germinales en *TP53*.

I	Probando con un tumor asociado a SLF (cáncer de mama premenopáusico, sarcoma de tejido blando, osteosarcoma, tumor cerebral, leucemia, carcinoma adrenocortical, cáncer pulmonar bronquioalveolar) antes de los 46 años. Y, al menos, un familiar de primer o segundo grado con un tumor asociado a SLF (excepto cáncer de mama si el probando tiene cáncer de mama) antes de los 56 años, o con múltiples tumores.
II	Probando con múltiples tumores (excepto tumores múltiples de mama), dos de los cuales sean tumores asociados a SLF, y el primero de ellos haya aparecido antes de los 46 años.
III	Cualquier paciente diagnosticado de carcinoma adrenocortical o tumor del plexo coroideo independientemente de la historia familiar.

Adaptada de Tinat *et al.*⁸⁴. SLF: Síndrome de Li Fraumeni.

1.3.2. Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y alteraciones plaquetarias previas

Trastorno plaquetar familiar asociado a neoplasia mieloide (variante germinal en *RUNX1*) (OMIM #601399)

Características biológicas:

El gen *RUNX1* codifica un factor de transcripción implicado en la hematopoyesis y se encuentra localizado en el cromosoma 21 (21q22). Su papel en la leucemia aguda, en concreto en la LMA, es bien conocido; encontrándose mutaciones somáticas de forma relativamente frecuente distribuidas a lo largo del gen, pudiendo ser bialélicas y acompañándose de un pronóstico adverso. Por otra parte, cuando este gen reordena con *RUNX1T1*, conforma una entidad propia dentro del grupo de “LMA con alteraciones genéticas recurrentes”: el reordenamiento *RUNX1::RUNX1T1*, fruto de una translocación t(8;21), confiere buen pronóstico y aparece en el 1-5% de todas las LMA del adulto, sobre todo en pacientes jóvenes^{51,87}.

En cuanto a las alteraciones de *RUNX1* en línea germinal, fueron descritas por primera vez en 1999^{7,88} y, en general, se considera que la mayoría de ellas resultan en su pérdida de función. Aunque las variantes patogénicas más frecuentes descritas hasta la fecha son deleciones del gen completo⁸⁹, también se han reportado cambios en el número de copias (CNVs) y cambios de un único nucleótido (SNVs) de tipo *nonsense*, pequeñas inserciones/deleciones (*indels*), *frameshift*, del *splicing* y *missense*. Estas últimas, cuando son patogénicas/probablemente patogénicas, se encuentran dentro del dominio RUNT⁹⁰. Dado que *RUNX1* interviene en la hematopoyesis y, concretamente, en la megacariopoyesis, su haploinsuficiencia puede contribuir a defectos en la producción y función plaquetar. Además, predispone a la adquisición de segundas mutaciones

necesarias para el desarrollo de neoplasias mieloides, siendo frecuentes las mutaciones somáticas en el segundo alelo de *RUNX1*^{7,33,90}.

Características clínicas:

El trastorno plaquetar familiar con predisposición a leucemia mieloide aguda (*Familial Platelet Disorder with AML predisposition*, FPD/AML) es un trastorno autosómico dominante caracterizado por defectos plaquetares cualitativos y cuantitativos, junto a predisposición para desarrollar neoplasias hematológicas, principalmente de estirpe mieloide^{7,33,88,90}. Supone un 3% de las trombocitopenias hereditarias⁹¹. La mayoría de los pacientes con FPD/AML tienen un fenotipo característico que incluye trombocitopenia leve-moderada con plaquetas de tamaño normal, defectos de secreción de gránulos densos y deterioro de la agregación plaquetaria, particularmente en respuesta a colágeno y epinefrina⁸⁸. No obstante, a pesar de su nombre, la trombocitopenia no es necesaria para el diagnóstico de FPD/AML, ya que algunos pacientes debutan directamente con neoplasias mieloides sin haber presentado previamente defectos plaquetares³³. Aproximadamente, el 20-60% de los portadores de variantes patogénicas germinales en *RUNX1* desarrollarán a lo largo de su vida una neoplasia mieloide^{33,90}, con una latencia relativamente larga: edad promedio al diagnóstico, 33 años (rango: 6–76 años)⁹⁰. Además, estos individuos también tienen un riesgo aumentado de desarrollar LLA y otras neoplasias malignas de célula B.

Trombocitopenia-2 (variante germinal en *ANKRD26*) (OMIM #188000)

Características biológicas:

El gen *ANKRD26*, localizado en el brazo corto del cromosoma 10 (10p12), participa en diferentes vías de señalización de quinasas, especialmente la vía MAPK/ERK. Las mutaciones germinales en la región reguladora 5'UTR de *ANKRD26* son responsables de la desregulación de su expresión en los megacariocitos, provocando su incremento y, en consecuencia, una hiperactivación de ERK. Este efecto es posiblemente uno de los mecanismos causantes de la trombocitopenia. Además, este incremento de señales sobre los progenitores hematopoyéticos podría contribuir al desarrollo de una neoplasia mieloide^{92–94}.

Características clínicas:

La trombocitopenia-2 se caracteriza por presentar un patrón de herencia autosómico dominante, trombocitopenia moderada, reducción de gránulos plaquetares alfa, agregación plaquetar *in vitro* normal, volumen plaquetar normal y predisposición a leucemia aguda. Diferentes estudios en médula ósea sugieren que la trombocitopenia, casi siempre presente, parece proceder de una dismegacariopoyesis subyacente^{9,10,93}. Este trastorno comprende aproximadamente el 18% de las trombocitopenias hereditarias⁹¹, con una penetrancia incompleta para la transformación clonal. Hasta la fecha, se ha descrito que en torno a un 8% de los pacientes desarrollará una neoplasia mieloide a una edad media entre 30-70 años^{11,91}, lo que sugiere que otros factores genéticos o ambientales todavía desconocidos podrían contribuir a ello¹¹.

Trombocitopenia-5 (variante germinal en *ETV6*) (OMIM #616216)

Características biológicas:

ETV6 (antes conocido como *TEL*), localizado en el brazo corto del cromosoma 12 (12p13), es un gen que codifica un factor de transcripción que participa en la

hematopoyesis, particularmente en la trombopoyesis^{13,31,34,95-97}. Se han descrito múltiples alteraciones citogenéticas y moleculares somáticas que implican a este gen en diferentes neoplasias hematológicas³⁴. La mayoría de las mutaciones descritas conllevan una pérdida de función del gen *ETV6*, consiguiendo así disminuir su función represora y alterando, entre otras cosas, la maduración del megacariocito^{13,31,34}. Gran parte de las mutaciones de origen germinal son variantes de tipo *missense* y ocurren en el dominio de unión al DNA de la proteína, aunque también se han descrito deleciones. Todo ello se traduce en una disminución de la expresión de genes vitales para la formación plaquetar⁹⁵ y una predisposición a la leucemogénesis^{13,34,95}.

Características clínicas:

La trombocitopenia-5 tiene una transmisión autosómica dominante con una penetrancia para la trombocitopenia, habitualmente de carácter moderado, de prácticamente el 100% de los pacientes⁹⁵. La trombocitopenia-5 engloba el 5% de las trombocitopenias hereditarias^{91,96}. Estos pacientes presentan dismegacariopoyesis en el aspirado de médula ósea, así como plaquetas de tamaño normal, y la morfología del resto de linajes hematopoyéticos en sangre periférica no difiere de las de sujetos no portadores⁹¹. Se ha descrito un riesgo de transformación clonal en el 30% de los pacientes, siendo la neoplasia más frecuente la LLA-B, reportada en 2/3 de los casos; aunque también se han descrito otras como SMD, LMA e incluso predisposición a tumores sólidos^{13,31,34,95-97}. No obstante, debido al limitado número de familias reportadas hasta la fecha, esta última asociación debe ser dilucidada en series de pacientes más extensas³⁴. En el estudio realizado por Moriyama *et al.* en una serie de 4.405 pacientes pediátricos no seleccionados con LLA, se concluyó que los niños con variantes germinales en *ETV6* debutaban a una edad más tardía y que el grupo citogenético de leucemia hiperdiploide estaba sobrerrepresentado en estos pacientes en comparación con los individuos no portadores³¹.

1.3.3. Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y potencial disfunción orgánica

Síndrome de haploinsuficiencia de GATA2 (variante germinal en GATA2) (OMIM #601626, #614286, #614038, #614172)

Características biológicas:

GATA2, situado en el brazo largo del cromosoma 3 (3q21), es un factor de transcripción que interviene en la regulación de la hematopoyesis; por lo que las alteraciones genéticas que interfieren en su expresión son críticas para desencadenar la leucemogénesis, principalmente en línea mieloide⁹⁸⁻¹⁰⁰. Este gen contiene un dominio conservado de unión al DNA compuesto por dos dedos de Zinc (ZF1 y ZF2). En línea somática, las mutaciones son típicamente de tipo *missense* localizadas en el dominio ZF1 o pequeñas inserciones/deleciones *inframe* en el extremo C-terminal de la proteína. Es interesante mencionar la frecuente asociación de variantes somáticas en *GATA2* con mutaciones somáticas en el gen *CEBPA*, tanto monoalélicas como bialélicas¹⁰¹⁻¹⁰³. En línea germinal, en cambio, las variantes se localizan principalmente en el dominio ZF2. En este caso las variantes inactivantes (nulas) o de pérdida de función (LoF, del inglés: *Loss of Function*) representan la mayor parte de las alteraciones patogénicas. Aunque la mayoría son de tipo *nonsense*, *frameshift*, alteraciones en el *splicing* o deleciones, también hay variantes de pérdida de función de tipo *missense*^{104,105}. Además, también se han reportado en *GATA2* variantes sinónimas e intrónicas profundas¹⁰⁵⁻¹⁰⁸. Alrededor de dos tercios de las variantes de origen germinal surgen *de novo*, mientras que el otro

tercio de los casos se heredan mediante un patrón autosómico dominante^{109,110}. Aunque es conocido el papel de las mutaciones en *GATA2* en el desarrollo de neoplasias mieloides, por sí solas son insuficientes. Por este motivo, se asocian recurrentemente a alteraciones citogenéticas y moleculares que actúan como desencadenante de la evolución de la enfermedad. Las alteraciones citogenéticas más frecuentes son las alteraciones del cromosoma 7 y la trisomía del cromosoma 8^{35,100,109}. Las mutaciones somáticas más frecuentes que colaboran en la transformación son las del gen *ASXL1*, que se encuentran en un tercio de los casos¹¹¹.

Características clínicas:

Este síndrome cursa con una presentación muy variable (**Figura 3**)^{17,112–114}. En 2011, diversas manifestaciones clínicas fueron englobadas bajo una misma denominación para describir una entidad genética común conocida como Síndrome de haploinsuficiencia de *GATA2*, con un patrón de herencia autosómico dominante. Las principales características clínicas de este cuadro se detallan a continuación:

1. Presentación hematológica: de acuerdo con Wlodarski *et al.*, la penetrancia de neoplasias mieloides se estima en el 75% de portadores de mutaciones en *GATA2*³⁵, siendo la más frecuente el SMD con alto riesgo de progresión a LMA o leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), aunque una pequeña proporción de pacientes presenta directamente LMA³⁵. En cuanto a los pacientes de edad pediátrica, un estudio del *European Working Group of Myelodysplastic Syndrome in children and adolescents* (EWOG-MDS), que incluyó 426 pacientes, concluyó que hasta un 7% de los SMD infantiles incluidos presentaba variantes de origen germinal en *GATA2* (aumentando a 15% si el SMD era de alto riesgo)^{100,115,116}. Otras enfermedades hematológicas reportadas en pacientes con haploinsuficiencia de *GATA2* son: leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielomonocítica juvenil, aplasia medular y mielofibrosis¹¹⁷.
2. Inmunodeficiencia:
 - *DCML (del inglés: déficit de células dendríticas, monocitos, linfocitos B y linfocitos NK): estos pacientes suelen presentar infecciones virales diseminadas, siendo el patógeno viral más frecuente el virus del papiloma humano (VPH), con los consiguientes condilomas anogenitales y su posible evolución a neoplasia maligna^{118,119}.
 - *Síndrome de MonoMAC (del inglés: monocitopenia con infección por *Mycobacterium avium complex*): en estos pacientes también existe riesgo de infecciones fúngicas diseminadas, así como susceptibilidad a micobacterias no tuberculosas^{109,118}. Aunque la edad media de aparición de las manifestaciones inmuno-hematológicas es la 2ª-3ª década de vida^{100,120}, el debut de estas puede ser muy variable: algunos pacientes presentan en la infancia temprana citopenias, inmunodeficiencia e hipocelularidad medular; mientras que otros desarrollan directamente SMD en la edad adulta.
3. Síndrome de Emberger: consiste en la asociación de linfedema primario (presente en el 10-20% de los pacientes con déficit de *GATA2*) y LMA/SMD con o sin hipoacusia neurosensorial^{104,109}.
4. Presentación pulmonar: es un hallazgo común, presente hasta en el 50% de los pacientes, que conlleva un deterioro pulmonar progresivo con defectos ventilatorios, de difusión y con enfermedad tanto clínica como radiológica. La proteinosis alveolar pulmonar es uno de los cuadros más típicos en estos pacientes, y se acompaña habitualmente de un patrón ventilatorio restrictivo, así como hipertensión pulmonar^{109,121}.

5. Diversos hallazgos dismórficos: sindactilia, hipotelorismo, pliegues epicánticos, trastorno del comportamiento y malformaciones urogenitales, entre otros^{35,118}.

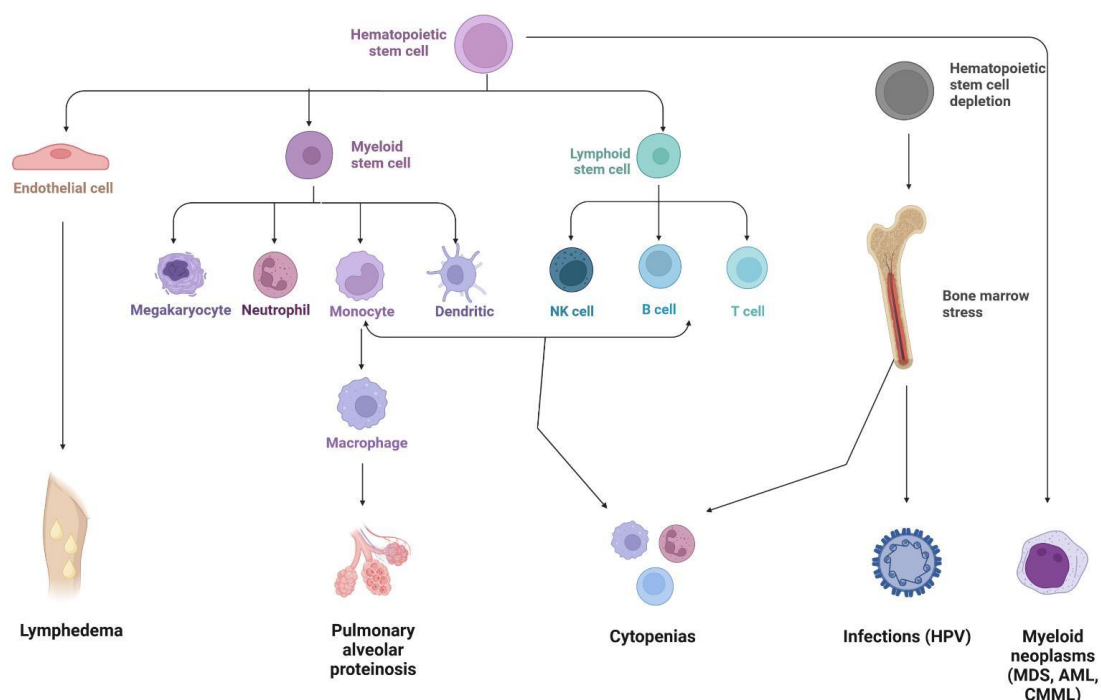


Figura 3. Presentación clínica del Síndrome de haploinsuficiencia de GATA2¹²².

HPV: virus del papiloma humano (del inglés, *Human Papillomavirus*); MDS: síndrome mielodisplásico (del inglés, *Myelodysplastic Syndrome*); AML: leucemia mieloide aguda (del inglés, *Acute Myeloid Leukemia*), CMML: leucemia mielomonocítica crónica (del inglés, *Chronic Myelomonocytic Leukemia*).

Síndrome de MIRAGE (OMIM #617053) /ataxia-pancitopenia (OMIM #159550) /neoplasia hematológica con alteración en *SAMD9/SAMD9L* (variante germinal en *SAMD9/SAMD9L*) (OMIM #619041, #252270)

Características biológicas:

SAMD9 y su parólogo *SAMD9-like* (*SAMD9L*) son dos genes compuestos por un único exón, yuxtapuestos en el cromosoma 7 (7q21), que codifican proteínas citoplasmáticas que regulan la proliferación celular. Comparten una secuencia de aminoácidos del 60% y probablemente se originaron a partir de la duplicación de un gen ancestral común^{37,116}. En estos genes, se han descrito tanto variantes de ganancia de función (GoF) como de pérdida de función (LoF).

Variantes con GoF: hasta la fecha, las mutaciones de línea germinal que se han reportado en *SAMD9/9L* son mayoritariamente de tipo *missense*, se localizan en el extremo C-terminal de la proteína y potencian la función inhibitoria del crecimiento fisiológico que tienen estos genes^{37,123}; por lo que tienen un efecto de ganancia de función. Existen varios mecanismos de adaptación o reversión somática por los que la célula puede revertir la alteración constitucional en *SAMD9/9L* y, de esta forma, escapar de dichos efectos inhibitorios^{37,124} (**Figura 4**). Éstos afectarían al mismo alelo mutado de *SAMD9/9L* (configuración *cis*) con el objetivo de suprimirlo, y pueden ser: adquisición de mutaciones neutralizantes, pérdida de heterozigosidad o deleciones del cromosoma 7.

En el caso de que ocurran deleciones en el cromosoma 7, la haploinsuficiencia en genes como *EZH2* o *CUX1* podría facilitar la transformación a neoplasias mieloides³⁷. Además, en algunos pacientes, se pueden generar mutaciones somáticas *driver* adicionales claves para la transformación a SMD/LMA¹²⁴. Las variantes de ganancia de función en *SAMD9/9L* suelen presentarse en pacientes pediátricos con síndromes de fallo medular y con citopenia refractaria de la infancia, que se asocian predominantemente con un fenotipo de médula ósea hipocelular, lo que es un rasgo distintivo de los SMD pediátricos.

Variantes con LoF: cuando las alteraciones constitucionales en *SAMD9/9L* son de pérdida de función en lugar de GoF, pueden presentarse como SMD del adulto, habiéndose descrito en el 3% de los casos. En este escenario, aumenta la proliferación celular (médula ósea hiper celular), no se han descrito mecanismos de reversión somática y el SMD progresa por la adquisición secuencial de *hits* secundarios¹²⁵. Esto contrasta con la médula hipocelular típica en niños con SMD y sugiere una fisiopatología distinta del SMD en niños y adultos¹²⁵.

Características clínicas:

Las mutaciones en *SAMD9* se asociaron inicialmente al síndrome de aparición temprana MIRAGE (del inglés: mielodisplasia, infecciones, restricción del crecimiento, hipoplasia suprarrenal, alteraciones genitales y enteropatía). Por otra parte, las mutaciones en *SAMD9L* se describieron originalmente en familias con un deterioro neurológico progresivo, citopenias multilínea e insuficiencia medular (síndrome de ataxia-pancitopenia). No obstante, gracias al creciente número de variantes descritas, hoy se sabe que estos fenotipos considerados previamente como específicos de genes pueden manifestarse con ambos genotipos³⁷. Además, la existencia de variantes germinales en estos genes puede desencadenar la aparición de distintos cuadros hematológicos como única manifestación clínica, como SMD y LMA con monosomía del cromosoma 7¹²⁴. El patrón de herencia es autosómico dominante para cada una de las entidades mencionadas. Por último, cabe resaltar la necesidad de descartar variantes de origen germinal tanto en *GATA2* como en *SAMD9/SAMD9L* en pacientes con SMD y alteraciones en el cromosoma 7, sobre todo si aparecen en edad pediátrica¹²⁴.

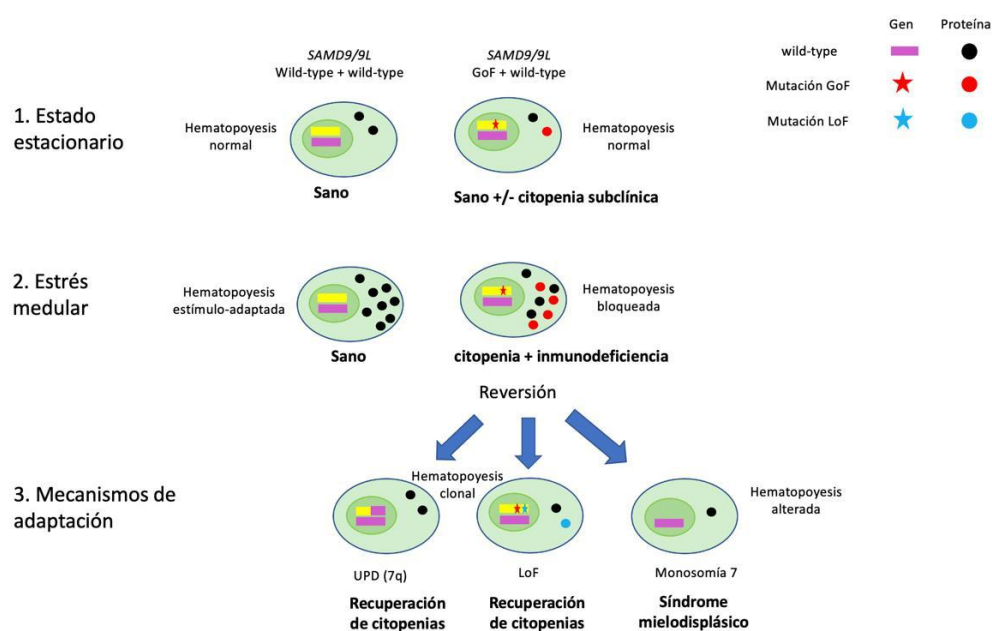


Figura 4. Mecanismos de adaptación de *SAMD9/9L*.

Figura adaptada de Davidsson *et al.*³⁷. GoF: ganancia de función (del inglés, *Gain of Function*); LoF: pérdida de función (del inglés, *Loss of Function*); UPD: disomía uniparental (del inglés, *Uniparental Disomy*).

Síndrome de insuficiencia medular: Anemia de Fanconi (OMIM #227650, #227645, #614082)

Características biológicas:

Durante las últimas tres décadas, se han investigado activamente los genes responsables de la Anemia de Fanconi (AF) y el papel que desempeñan sus proteínas en la regulación de la reparación del DNA. Hasta la fecha, se han descubierto hasta 23 genes cuyas mutaciones provocan AF. Los más frecuentemente involucrados en esta enfermedad son *FANCA*, localizado en 16q24¹²⁶, *FANCC* en 9q22¹²⁷ y *FANCG* en 9p13¹²⁸, que engloban aproximadamente el 85% de todas las mutaciones descritas¹²⁹. La frecuencia de portadores de AF es de 0,5% en la población general de Norteamérica y de 1% en Israel¹³⁰, aunque existen poblaciones específicas con una mayor frecuencia de portadores, como ocurre con los judíos asquenazi^{131,132}.

El análisis de mutaciones en *FANCA* de pacientes españoles con AF que realizó M Castella *et al.* reveló un amplio espectro de variantes patogénicas en este gen, donde las pequeñas deleciones e inserciones fueron comunes. Además, como en muchas otras poblaciones, se observó una proporción considerable de grandes deleciones intragénicas (15,4%)¹³³. Por otra parte, cabe destacar que, de acuerdo con la base de datos internacional de mutaciones de la AF, aproximadamente una cuarta parte de las variantes patogénicas en *FANCA* son de tipo *missense* y están distribuidas a lo largo de todo el gen.

Por último, añadir que, a la hora de realizar el diagnóstico de este síndrome, hay que tener en cuenta que estos pacientes pueden presentar mosaicismo somático en tejido hematopoyético como mecanismo de supervivencia celular. Esto puede ocurrir tras la aparición de nuevas mutaciones puntuales o reversión espontánea de las mutaciones heredadas^{41,129,134,135}. La reversión somática es importante desde el punto de vista clínico, ya que se pueden obtener resultados falsamente negativos al realizar el test de fragilidad cromosómica en linfocitos de sangre periférica. Por este motivo, si la sospecha de AF es alta, el estudio debe realizarse en una muestra de origen germinal, como cultivo de fibroblastos cutáneos.

Características clínicas:

En 1927, Guido Fanconi describió la entidad hematológica que lleva su nombre: la Anemia de Fanconi o anemia perniciosiforme infantil familiar, también conocida con el nombre de panmielopatía familiar. La describió en tres hermanos con diferentes malformaciones congénitas, astenia, infecciones de repetición y sangrados¹³⁶. Más tarde, entre 1964 y 1976 Schroeder *et al.* pudieron comprobar que se debía a anomalías cromosómicas y reconocieron su herencia autonómica recesiva¹³⁷. Schuler *et al.* en 1969 incorporaron al diagnóstico la provocación de fragilidad cromosómica con la exposición a agentes alquilantes¹³⁸, y Auerbach, en 1985, llegó a establecer el diagnóstico prenatal¹³⁹. El modo de herencia de la enfermedad es autosómico recesivo, con la excepción de la AF causada por *FANCB*, que está ligada al cromosoma X¹⁴⁰ y la AF causada por *FANCR/RAD51*^{141,142}, que es autosómica dominante.

La AF se caracteriza por el desarrollo de insuficiencia medular y predisposición al cáncer, tanto hematológico como sólido (habitualmente carcinoma escamoso de cabeza

y cuello¹⁴³), junto a un conjunto de malformaciones congénitas muy variables, que pueden ofrecer pistas para un diagnóstico temprano^{41,129,144,145}. Entre las malformaciones, destacan las anomalías en las extremidades, que pueden presentarse uni- o bilateralmente (generalmente de forma asimétrica), espina bífida y otras anomalías del esqueleto, alteraciones cardiopulmonares, renales, gastrointestinales y del sistema nervioso central. Además, pueden aparecer otras alteraciones orgánicas como bajo peso al nacer, talla baja (asociada o no a endocrinopatía), microcefalia y/o microftalmia, alteraciones de la pigmentación cutánea (manchas “café con leche”), hipoplasia de la eminencia tenar, malformaciones auditivas (con o sin hipoacusia) y alteraciones de la fertilidad¹⁴⁵. Todas estas malformaciones congénitas son variables, incluso dentro de una misma familia^{129,145}. Aproximadamente un tercio de los pacientes con AF no presentan malformaciones congénitas mayores, por lo que su diagnóstico suele demorarse hasta la aparición de síntomas de disfunción hematológica¹⁴⁶. No obstante, la mayoría de estos niños sí tienen alteraciones en los parámetros de crecimiento, en la pigmentación de la piel y/o microftalmia, por lo que es necesario llevar a cabo una evaluación clínica minuciosa para una detección temprana de estos casos¹²⁹.

En cuanto a las alteraciones hematológicas, ocurren prácticamente en el 100% de los pacientes, con una edad media de aparición de 7 años^{143,145,147,148}. Según los datos reportados en la literatura, la incidencia acumulada de fallo medular y SMD/LMA a los 40 años es del 50-90% y 20-33%, respectivamente^{143,148}. Cabe destacar que es posible el debut en forma de SMD o LMA sin antecedente de anemia aplásica previa. Por último, si se plantea realizar un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (allo-TPH) como tratamiento de las alteraciones hematológicas, el acondicionamiento debe ser de intensidad reducida por la elevada toxicidad que desarrollan estos pacientes y el riesgo de neoplasias secundarias^{41,129,144}.

Síndrome de insuficiencia medular: Telomeropatías (OMIM #613989, #127550, #305000)

Características biológicas:

La secuencia de DNA telomérico consiste en una serie de repeticiones en tándem de 6 nucleótidos: TTAGGG, que se extiende a lo largo de miles de bases en los extremos de los cromosomas, con una longitud promedio de 10 kb en la sangre de cordón umbilical de un humano recién nacido^{149,150}. Este DNA telomérico está protegido por un grupo especializado de proteínas llamadas de forma conjunta shelterina (**Figura 5**). La combinación de los componentes de shelterina intactos y una longitud telomérica lo suficientemente larga son esenciales para proteger al extremo del cromosoma del daño al DNA, degradación de éste o participación en eventos de recombinación o fusión del genoma que lo desestabilizan^{151,152}. Otro complejo relevante conocido como CST también forma parte de la maquinaria del telómero (**Figura 5**)^{153,154}.

La telomerasa es la polimerasa de DNA encargada de sintetizar nuevas secuencias de telómero en los extremos de los cromosomas y consta de dos componentes conservados: la proteína central de la telomerasa (TERT) que contiene el dominio transcriptasa inversa, y un componente esencial de RNA, TR (también conocido como TERC), que se une con TERT y proporciona el molde para la síntesis de la secuencia telomérica¹⁵⁵⁻¹⁵⁸ (**Figura 5**). Se cree que la holoenzima de la telomerasa se ensambla en el cuerpo de Cajal, donde TERT y TR forman un complejo de enzima ribonucleoproteínica¹⁵⁹. Aunque TERT y TR son suficientes para generar actividad enzimática *in vitro*, la telomerasa depende de otras proteínas para su ensamblaje, transporte y regulación¹⁵⁹. Uno de estos componentes accesorios es la proteína disquerina¹⁶⁰ (**Figura 5**). Las mutaciones germinales en la telomerasa y resto de genes responsables del

dos entidades clínicas que antes se consideraban diferentes y definir un síndrome complejo reconocible que se manifiesta principalmente en adultos, y que se diferencia de la clásica disqueratosis congénita, presente en menos del 5% de los individuos afectados por este síndrome^{161,166}.

El cáncer parece una complicación relativamente poco frecuente en pacientes con acortamiento de telómeros, y afecta aproximadamente al 10-20% de los mismos, siendo el SMD la neoplasia más frecuente¹⁶⁹⁻¹⁷¹. Sin embargo, los estudios sobre cáncer en pacientes con telomeropatías se han realizado mayoritariamente en pacientes pediátricos con disqueratosis congénita^{170,172,173}. Recientemente, Schratz *et al.* han publicado una serie de 180 individuos con una edad media de 50 años (rango: 1-81 años), reportando una incidencia de neoplasias mieloides del 16% en individuos >50 años¹⁷¹.

Síndrome de insuficiencia medular: Neutropenia Severa Congénita (OMIM #202700)

Características biológicas:

El gen más frecuentemente mutado en la neutropenia congénita es *ELANE*, localizado en el cromosoma 19 (19p13)^{174,175}. Este gen codifica para la elastasa, una proteína necesaria para que los neutrófilos puedan llevar a cabo su función inmunitaria¹⁷⁶. Se han descrito más de 200 mutaciones diferentes distribuidas a lo largo de todo el gen, en su mayoría de tipo *missense*¹⁷⁷⁻¹⁷⁹, que pueden favorecer la aparición de neutropenia severa congénita, neutropenia cíclica o ambas. Además, también se han descrito mutaciones causantes de neutropenia congénita en otros genes, como *HAX1*¹⁸⁰, *CSF3R*^{181,182} o *G6PC3*¹⁸¹, entre otros. Algunos de ellos pueden asociar manifestaciones extrahematológicas. La médula ósea de la mayoría de los pacientes revela una detención madurativa de la mielopoiesis a nivel del promielocito¹⁷⁶.

Características clínicas:

La neutropenia congénita engloba un grupo heterogéneo de trastornos hematológicos raros que se asocian a una maduración alterada de los granulocitos neutrófilos y, como consecuencia, un descenso en su número absoluto (<500/ μ L). El patrón de herencia de estos cuadros varía en función del gen: autosómico dominante en el caso de *ELANE* o autosómico recesivo en el caso de *HAX1*, *CSF3R* y *G6PC3*^{174,175}. Se han descrito 3 categorías principales dentro de este trastorno: neutropenia severa congénita, neutropenia cíclica y neutropenia idiopática¹⁸³. Los pacientes suelen ser diagnosticados durante la infancia, debido a la aparición de fiebre e infecciones bacterianas recurrentes. El avance más importante en el tratamiento de esta entidad se produjo con el desarrollo del factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) recombinante¹⁸⁴, siendo hoy en día el tratamiento de elección. Estos pacientes, además, presentan un riesgo incrementado de desarrollar neoplasias mieloides¹⁷⁶, lo que ocurre, mayoritariamente, en aquéllos que adquieren mutaciones somáticas en el gen *CSF3R*^{185,186}, probablemente relacionadas con la administración crónica de G-CSF. Por ello, se recomienda una monitorización molecular anual para descartar la adquisición de *hits* somáticos en este gen.

Síndrome de insuficiencia medular: Anemia de Blackfan-Diamond (OMIM #105650, #612561, #613309)

Características biológicas

La Anemia de Blackfan-Diamond forma parte del grupo de las ribosomopatías¹⁸⁷; ya que la mayoría de los casos resultan de mutaciones o deleciones heterocigotas con

pérdida de función en genes que codifican para las proteínas ribosomales. El gen *RPS19*, localizado en el cromosoma 19 (19q13), fue el primer gen asociado a esta enfermedad¹⁸⁸. Aunque actualmente se han identificado mutaciones en hasta 23 genes que codifican para una proteína ribosomal¹⁸⁹, la mayoría (>90%) de las mutaciones (incluyendo las grandes deleciones) ocurren en sólo 6 genes (*RPS19*, *RPL5*, *RPS26*, *RPL11*, *RPL35A* y *RPS24*)¹⁸⁹. Además, según los datos reportados en la literatura, en alrededor del 30% de los pacientes, no se encuentra ninguna alteración causal^{189,190}. Finalmente, hay que mencionar que existe un fenotipo de Anemia de Blackfan-Diamond-like, causado por alteraciones de pérdida de función en *GATA1*^{191,192}, variantes bialélicas en *ADA2*^{193,194} y variantes de *TSR2*¹⁹⁴.

Características clínicas

La Anemia de Blackfan-Diamond fue descrita por primera vez por Josephs H. en 1936¹⁹⁵ y posteriormente refinada por Blackfan y Diamond como una entidad clínica propia en 1938¹⁹⁶. Se trata de una aplasia congénita pura de la serie roja caracterizada por anemia macrocítica con reticulocitopenia y un patrón de herencia autosómico dominante¹⁹⁷⁻¹⁹⁹. En su forma clásica, afecta aproximadamente a siete de cada millón de nacidos vivos y, por lo general, se manifiesta en el primer año de vida²⁰⁰. Además, aproximadamente la mitad de los pacientes asocian anomalías congénitas, como malformaciones craneofaciales, esqueléticas, cardíacas o renales²⁰¹⁻²⁰³. Los pacientes con este síndrome generalmente presentan niveles elevados de hemoglobina fetal y la actividad de la adenosín-deaminasa eritrocitaria (eADA) se eleva en el 80-85% de todos ellos^{204,205}. Estos pacientes tienen, además, incrementado el riesgo de desarrollar cáncer. Según el informe del Registro de Anemia de Blackfan-Diamond publicado por Vlachos *et al.*, presentan una incidencia acumulada global de aproximadamente el 20% a los 45 años: 16% para tumores sólidos y 5% para neoplasias mieloides²⁰⁶. Actualmente, cada vez es más frecuente detectar casos con una presentación atípica, como el debut en edades adultas o el hallazgo de “portadores silentes”, que pueden cursar con macrocitosis sin anemia y/o elevación de eADA¹⁸⁹. Por último, cabe destacar la buena respuesta de estos pacientes al tratamiento con corticoides, habiéndose descrito una respuesta inicial en el 80% de los casos, aunque sólo la mitad de éstos logran un mantenimiento con dosis bajas a largo plazo^{199,207}.

Síndrome de insuficiencia medular: Síndrome de Shwachman-Diamond (OMIM #260400)

Características biológicas

El Síndrome de Shwachman-Diamond es un trastorno de la biogénesis ribosomal, donde aproximadamente el 90% de los individuos presentan mutaciones bialélicas en el gen *SBDS*, localizado en el cromosoma 7 (7q11)²⁰⁸. Aunque aún no se ha establecido completamente el papel de la proteína SBDS, se cree que desempeña una parte integral en la maduración ribosomal, la proliferación celular y el microambiente hematopoyético. Las alteraciones citogenéticas son comunes en este síndrome, incluso en ausencia de neoplasias mieloides. Las más comunes incluyen del(20)(q11) e isocromosoma 7q [i(7)(q10)]²⁰⁹. Estos cambios pueden ser transitorios o persistir con el tiempo, y es posible que no promuevan una transformación clonal inminente, aunque la adquisición de nuevas alteraciones somáticas podría contribuir al desarrollo de ésta con el paso del tiempo^{210,211}.

Características clínicas

El Síndrome de Shwachman-Diamond, también conocido como “síndrome de Shwachman,” “Síndrome de Shwachman-Bodian,” o “lipomatosis congénita del

páncreas” presenta una incidencia de 1/76.000²¹² y se describió por primera vez en 1964^{213,214}. Es un trastorno con herencia autosómica recesiva, que se acompaña de insuficiencia medular, insuficiencia pancreática exocrina y predisposición a neoplasias mieloides. Los pacientes con este síndrome pueden presentar afectación multiorgánica, habiéndose descrito anomalías esqueléticas, cardíacas, endocrinas, nerviosas, hepáticas e inmunitarias. Aunque existe importante variabilidad en la expresión de la enfermedad, incluso entre individuos de la misma familia^{215–217}, tanto la insuficiencia medular como la pancreática son consideradas como los rasgos clínicos clásicos más consistentes de este síndrome, tal y como se describe en las guías de consenso más recientes^{209,218,219}. La insuficiencia pancreática exocrina se manifiesta típicamente en la infancia, aunque se puede observar cierta mejoría con la edad²²⁰. Además de la neutropenia persistente o intermitente y la mayor susceptibilidad a infecciones, los problemas hematológicos también pueden incluir anemia, trombocitopenia y pancitopenia^{219,221}. Aunque existen datos variables en cuanto a la penetrancia de la progresión clonal, el Registro Canadiense de Insuficiencia Medular reportó un riesgo del 20% de progresión de la enfermedad hematológica a los 18 años (transformación clonal y/o empeoramiento de citopenias)²²², y el Registro Internacional de Neutropenia Congénita Severa reportó un incremento del riesgo con la edad²²³.

1.4. DIAGNÓSTICO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS: QUIÉN, DÓNDE, CUÁNDO Y CÓMO

1.4.1. ¿Quién tiene indicación de realizarse el estudio genético?

No existen criterios universales sobre a quién debe realizarse un estudio genético en línea germinal. Las recomendaciones actuales están basadas en criterios de expertos²²⁴ y de grupos de trabajo como el *Nordic MDS Group* o la *European Leukemia Net*^{52,54}. En líneas generales, existe consenso en que se deben valorar los siguientes puntos para llevar a cabo un cribado de alteraciones germinales:

Historia personal

Aunque el conjunto de NHHs es heterogéneo, en general, todos ellos comparten algunas características que podrían sugerir la presencia de una mutación subyacente de carácter germinal^{6,8,32,43,225–228}:

1. Edad temprana al debut de la enfermedad hematológica, comparado con la esperada en la población general.
2. Antecedentes personales de citopenias.
3. Antecedentes personales de otras formas de cáncer.
4. Rasgos fenotípicos sugestivos de síndromes de fallo medular.
5. Diagnóstico de entidades que están relacionadas con NHHs: leucemia mielomonocítica juvenil o SMD/LMA en niños o adolescentes.

Sin embargo, es interesante destacar que el debut de una NHH no siempre ocurre a una edad temprana, por lo que este criterio debe valorarse con cierta flexibilidad y no utilizarse como un argumento de exclusión. Tal y como puede observarse en la **Figura 6**, existen entidades de aparición tardía, algunas incluso superponibles a las neoplasias esporádicas.

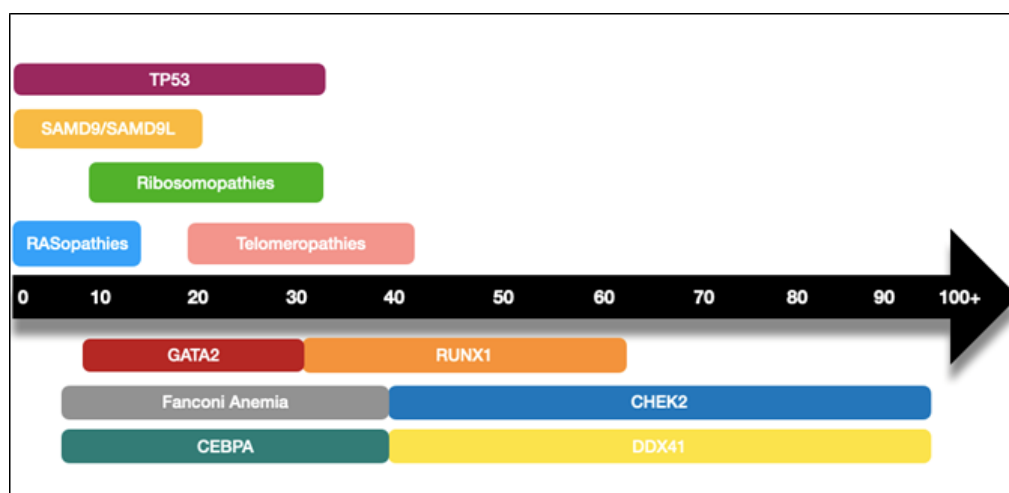


Figura 6. Distribución de edad al debut de neoplasias hematológicas en pacientes portadores de mutaciones en genes de predisposición germinal²²⁹.

Historia familiar

Los antecedentes familiares son clave para la identificación de individuos con predisposición a distintos tipos de neoplasias. La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) recomienda que los antecedentes mínimos adecuados que deben recogerse en la historia clínica con el objetivo de descartar la presencia de un síndrome hereditario deben incluir a los familiares de primer (padres, hijos y hermanos) y segundo grado (abuelos, tíos, sobrinos, nietos y medio-hermanos)⁵. Esta información puede ser recogida en la visita inicial y reevaluada periódicamente. Aunque muchos de los pacientes no conozcan su historial familiar, pueden interesarse en ella una vez han superado el estrés del diagnóstico, y ser más capaces de involucrarse activamente en recopilar esta información posteriormente⁵. Los siguientes antecedentes en otros miembros de la familia podrían sugerir la presencia de un síndrome familiar de predisposición a neoplasias hematológicas^{6,8,32,43,225–228}:

1. Citopenias o enfermedades hematológicas.
2. Casos de cáncer a edad temprana.
3. Rasgos fenotípicos sugestivos de síndromes de fallo medular.

En la **Tabla 5** y la **Figura 7**, se revisan algunos de los rasgos fenotípicos que deben alarmar al clínico para orientar el diagnóstico correcto de estos síndromes²²⁶. Es muy importante considerar detalles sobre procesos no hematológicos tanto en la historia personal como familiar de los pacientes, ya que las NHHs pueden afectar a múltiples órganos.

Tabla 5. Resumen de rasgos fenotípicos asociados a NHHs.

Síndrome	Rasgos fenotípicos
Rasgos generales	Edad joven al debut del cuadro hematológico, citopenias persistentes inexplicables (>3 meses), periodo prolongado de citopenia antes del diagnóstico de una neoplasia hematopoyética, nivel elevado de hemoglobina fetal, macrocitosis y/o hipocelularidad inexplicables en la evaluación de la médula ósea, monocitopenia inexplicable, reticulocitopenia o infecciones oportunistas, antecedentes familiares de un síndrome de

	predisposición hereditaria en uno o más familiares de primer o segundo grado.
Anemia de Fanconi	Baja estatura, anomalías esqueléticas, microcefalia, retraso en el desarrollo, anomalías urogenitales, verrugas cutáneas y manchas en la piel “café con leche”.
Síndrome de acortamiento de telómeros	Canas prematuras (menores de 30 años), leucoplasia oral, fibrosis pulmonar idiopática, cirrosis criptogénica, citopenias inexplicables y/o inmunodeficiencia.
Haploinsuficiencia de GATA2	Linfedema, monocitopenia, infecciones recurrentes por micobacterias no tuberculosas, hongos y virus, proteinosis alveolar pulmonar, verrugas anogenitales.
Anemia de Blackfan-Diamond	Anemia macrocítica de inicio temprano, anomalías craneofaciales, genitourinarias y cardíacas, médula ósea normocelular con hipoplasia eritroide.
Síndrome de Shwachman-Diamond	Anomalías esqueléticas y del neurodesarrollo, insuficiencia pancreática exocrina
Neutropenia Severa Congénita	Fenotipo variado en función de la alteración genética: inmunodeficiencia, anomalías esqueléticas, retraso del crecimiento, hipopigmentación de la piel, infecciones recurrentes, defectos neurológicos.

Adaptado de Mangaonkar *et al.*²²⁶.

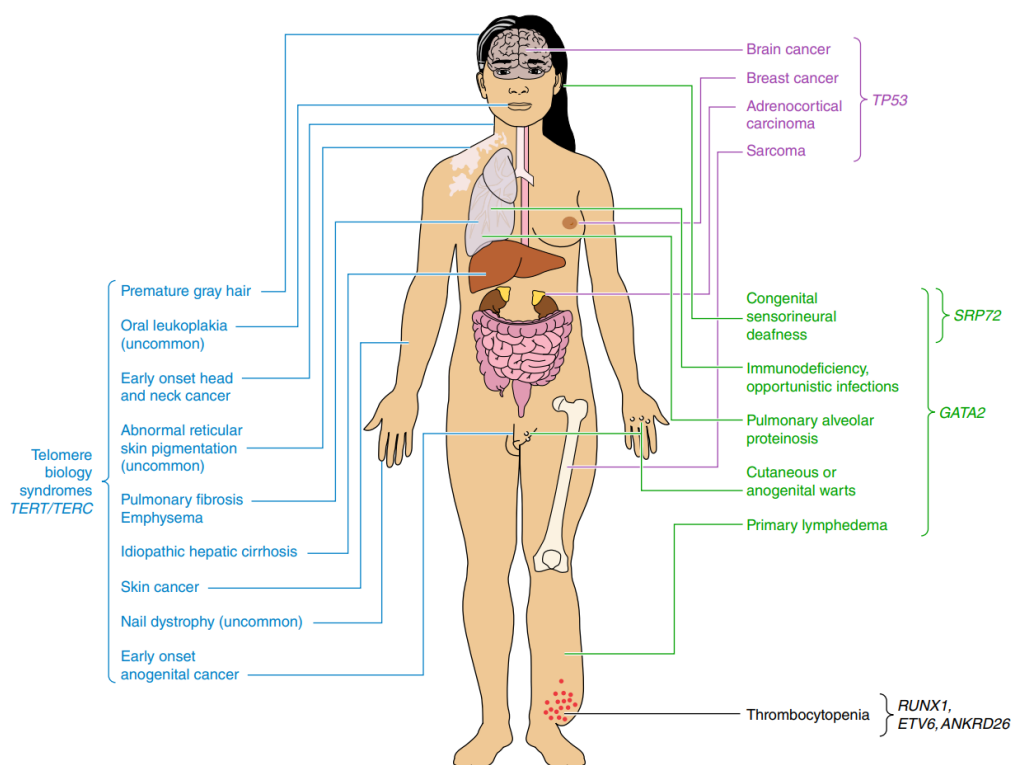


Figura 7. Recopilación de rasgos fenotípicos asociados a algunas NHHs²²⁷.

Hallazgos incidentales en los estudios somáticos

Aunque la historia clínica personal y/o familiar de antecedentes relacionados con NHHs es de gran ayuda cuando está presente, no es infrecuente que el fenotipo clínico sea críptico, lo que ocurre en aproximadamente el 40% de los casos^{28,41,50}. Por ello, es necesaria una tercera herramienta para poder llevar a cabo un buen cribado de la predisposición genética a este tipo de neoplasias.

Actualmente, las unidades de diagnóstico clínico disponen de estrategias de secuenciación masiva para el análisis simultáneo de los principales genes implicados en la tumorigénesis y el pronóstico de las neoplasias hematológicas. Aunque estos paneles de NGS están destinados a identificar mutaciones adquiridas, inevitablemente también interrogan el genoma germinal de un individuo; por lo que pueden detectar incidentalmente una variante germinal potencialmente causante de su neoplasia hematológica^{6,8,50}. Por ello, tras el análisis molecular somático, es importante determinar en qué casos se deben ampliar el estudio para descartar un origen germinal.

Idealmente, las variantes de origen germinal tienen una frecuencia alélica (del inglés Variant Allele Frequency, VAF) del 50% si están en heterocigosis o del 100% si se encuentran en homocigosis. No obstante, una VAF distinta a estas cifras no debe ser un criterio de exclusión para descartar una NHH, ya que existen determinadas alteraciones, como los mosaicismos, la disomía uniparental, la pérdida de heterocigosis, los cambios en el número de copias, los reordenamientos estructurales, las inserciones/deleciones o los artefactos en la secuencia, que podrían sesgar la frecuencia alélica real de la variante a estudio^{6,28,230}. Por lo tanto, ante los siguientes hallazgos, se debería descartar un origen germinal:

1. Variantes patogénicas o probablemente patogénicas, detectadas en el análisis somático con VAF>30%, en genes típicos de NHHs, como, por ejemplo: *DDX41*, *CEBPA*, *TP53*, *RUNX1*, *ANKRD26*, *ETV6*, *GATA2*, *SAMD9*, *SAMD9L* y *PTPN11*^{6,8,28,32,43,50,225,227}.
2. Variantes patogénicas o probablemente patogénicas en genes típicos de NHHs con una VAF>30% detectadas durante la evolución de la enfermedad en diferentes análisis somáticos, que no modifican su VAF a pesar del empeoramiento o mejoría de la enfermedad^{6,8,28,32,43,50,225}.

No obstante, y aunque son de gran ayuda, estos paneles no deben sustituir a un panel de genes diseñado específicamente para descartar una NHH, ya que están enfocados a detectar variantes somáticas y, por lo tanto, excluyen numerosos genes y regiones genéticas relacionadas con las mismas⁸.

1.4.2. ¿En qué muestra ha de llevarse a cabo el estudio genético?

El análisis de una muestra germinal es crucial para el diagnóstico de trastornos hereditarios. En la mayoría de las enfermedades mendelianas el DNA se extrae de sangre periférica. No obstante, dado que en las enfermedades hematológicas el tejido hematopoyético es el implicado, es necesario utilizar una muestra distinta a sangre periférica o médula ósea para poder diferenciar entre origen somático y germinal^{32,43}. Por esta razón, es muy importante elegir bien el tejido germinal a estudio ya que, en caso de contaminación con tejido hematopoyético, se pueden obtener variantes clonales de origen somático propias de la neoplasia hematológica que presenta el paciente.

En la **Tabla 6**, se exponen las distintas muestras de origen germinal aptas para el estudio de NHHs con sus principales limitaciones.

Tabla 6. Muestras de origen germinal para el estudio de NHHs.

Muestra	Características	Limitaciones
Cultivo de fibroblastos cutáneos.	<i>Gold standard</i> para pacientes con NHHs o individuos que han recibido alo-TPH ^{6,8,28,32,43,50,225–227,230} .	Complejidad para cultivar fibroblastos. Demora en el diagnóstico por los tiempos de cultivo (3-6 semanas). Procedimiento invasivo.
Células mesenquimales derivadas de la médula ósea (del inglés, BM-MSC).	Pueden cultivarse a partir de células de aspirados de médula ósea. Puede considerarse en pacientes en quienes una biopsia de piel no es factible.	El uso de DNA de BM-MSC puede inducir errores, ya que hay evidencia de alteración de la morfología, función, genómica y perfil biológico de estas células derivadas de SMD o LMA en comparación con población sana. Demora en el diagnóstico por los tiempos de cultivo (4-6 semanas).
Mucosa oral y saliva.	Fácilmente disponibles. Económicas. Se recolectan células epiteliales como fuente de material genético de línea germinal.	Pueden contener una cantidad significativa de células sanguíneas periféricas y estar contaminadas por tejido tumoral.
Folículo piloso y uñas.	Fuente potencial de material de línea germinal, ya que cuentan con células epiteliales ²³⁰ .	Bajo rendimiento de la extracción de DNA por escasez.
Sangre periférica o médula ósea.	Puede considerarse en pacientes que no se han sometido a un alo-TPH y se encuentran en remisión clínica	La profundidad de la remisión clínica debe evaluarse cuidadosamente El análisis de la NGS también puede complicarse por la hematopoyesis clonal relacionada con la edad en genes como <i>TET2</i> y <i>DNMT3A</i> .
Linfocitos T CD3⁺.	Fuente de tejido germinal no afectado en los síndromes familiares de SMD/LMA y pueden ser obtenidos a través de una selección magnética o por citometría de flujo.	Hay evidencia de mutaciones somáticas en enfermedades mieloides que son compartidas por las células T, lo que indica un origen temprano en células madre hematopoyéticas o células progenitoras.

		La selección puede no tener una eficiencia del 100%.
Otra forma de confirmar el origen germinal de una variante genética es hallarla en 2 individuos relacionados ^{43,226} .		

NHH: Neoplasias Hematológicas Hereditarias; alo-TPH: Trasplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos; BM-MSK: células mesenquimales derivadas de la médula ósea (del inglés, *Bone Marrow Mesenchymal Cells*); SMD: Síndrome Mielodisplásico; LMA: Leucemia Mieloide Aguda; NGS: secuenciación de nueva generación (del inglés, *Next-Generation Sequencing*).

1.4.3. ¿Cuándo es el momento óptimo para llevar a cabo un estudio genético germinal?

Otro aspecto crucial que considerar es el momento adecuado para la recolección de muestras. Dado que el cultivo de fibroblastos suele tardar aproximadamente un mes, además del tiempo adicional necesario para la secuenciación y el análisis, es fundamental identificar a los pacientes que requieren pruebas diagnósticas lo más pronto posible. Esto permitirá que la información esté disponible al programar un posible trasplante alogénico^{54,231}.

Por otro lado, el análisis de portadores en familiares de primer grado sin enfermedad activa se puede realizar utilizando muestras de sangre periférica o saliva, lo que facilita la obtención de resultados más rápidos. En situaciones urgentes, el ADN de la piel puede analizarse directamente sin necesidad de cultivo, o se puede llevar a cabo un análisis directo en los familiares.

Por estas razones, es esencial considerar la realización de pruebas de línea germinal en el momento del diagnóstico de neoplasias hematológicas.

1.4.4. ¿Cómo ha de llevarse a cabo el estudio genético?

Secuenciación masiva

La gran heterogeneidad y la dificultad para predecir el gen involucrado en las NHHs aconsejan iniciar el estudio de éstas con el análisis de amplios paneles de genes relacionados con síndromes hereditarios⁵⁰.

La secuenciación de nueva generación, secuenciación de segunda generación o secuenciación masiva (NGS) es un método de secuenciación simultánea de millones de fragmentos de DNA que ha sido adoptado recientemente por multitud de laboratorios clínicos debido a su capacidad para analizar varios genes o varias regiones de un gen en un solo test, a diferencia de lo que ocurría con los métodos tradicionales. Esta técnica ha sido optimizada tanto para estudiar la línea germinal (variantes heredadas) como la línea somática (variantes adquiridas)²³². Para su descripción, el método de NGS se dividirá en dos partes: el flujo de trabajo en el laboratorio (conocido como “*wet-lab*”) y el análisis bioinformático (conocido como “*dry-lab*”). Se expone a continuación un esquema de todo el proceso (**Figura 8**) y, posteriormente, se explica cada una de las partes.

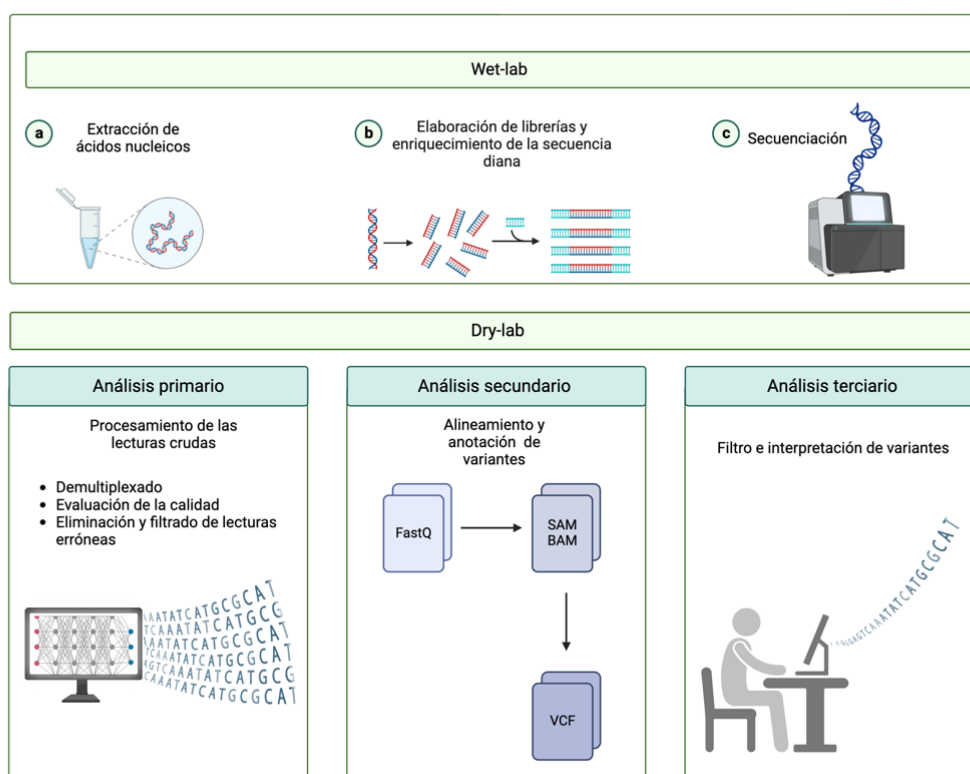


Figura 8. Flujo de trabajo de la NGS.

Wet-lab

1. Extracción de ácidos nucleicos
2. Elaboración de librerías

Este procedimiento sirve para preparar el DNA de cara a su posterior secuenciación y consiste en fraccionar el DNA en fragmentos de pequeño tamaño y añadir adaptadores en las terminaciones de dichos fragmentos. Estos adaptadores incluyen: un “código de barras” (para identificar a cada paciente dentro del *pool* de muestras), *primers* universales para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), secuencias de hibridación para que el DNA se anexe a una superficie y sitios de reconocimiento para iniciar la secuenciación.

3. Enriquecimiento de las secuencias diana

Tras la preparación de las librerías, es necesario enriquecer las secuencias diana que interesa estudiar. Este paso puede llevarse a cabo mediante hibridación de secuencias complementarias (captura) o mediante PCR (amplicones). Si el enriquecimiento se desarrolla por amplicones, generalmente este paso se combina con la preparación de librerías, ya que los *primers* que seleccionan las regiones de interés suelen contener las secuencias de los adaptadores.

4. Secuenciación

La elección de la técnica por captura o amplicones depende del uso clínico o la experiencia del laboratorio. De forma esquemática, los distintos pasos pueden observarse en la **Figura 9**.



Figura 9. A) Pasos para el análisis de NGS por el método de captura. B) Pasos para el análisis de NGS por el método de amplicones.

Figura adaptada de Yohe *et al.*²³².

Análisis bioinformático (*dry-lab*)

1. Análisis primario

El análisis primario se centra en el procesamiento inicial de los datos de secuenciación. Tras introducir una mezcla equimolar de muestras en el secuenciador, el primer paso en el análisis bioinformático es el "demultiplexado". Esta tarea se lleva a cabo utilizando herramientas bioinformáticas, a veces integradas en el propio secuenciador, y consiste en clasificar todas las lecturas generadas según los oligonucleótidos flanqueantes utilizados, lo que resulta en la creación de archivos individuales para cada muestra a partir de un archivo único de lecturas. Posteriormente, se evalúa la calidad de las lecturas obtenidas utilizando recursos como FastQC, que revisa diversos aspectos de la calidad, como la calidad promedio de las bases, el contenido de GC, la presencia de secuencias adaptadoras y la distribución de la calidad a lo largo de la secuencia, entre otros. El formato del archivo conseguido, denominado FASTQ, se caracteriza por tener el nombre de la secuencia, la secuencia obtenida, así como la calidad de cada base, expresada en una escala llamada *Phred Score*. Finalmente, se pueden filtrar las lecturas erróneas generadas durante la secuenciación, utilizando otras herramientas especializadas, como Trimmomatic, Cutadapt o Fastp, que permiten eliminar adaptadores y descartar lecturas de baja calidad o lecturas que no cumplen con ciertos criterios predefinidos.

2. Análisis secundario

El objetivo principal del análisis secundario es convertir las lecturas secuenciadas en información útil para poder identificar variantes genéticas. Para ello, el primer paso en el análisis secundario es el alineamiento de las secuencias obtenidas contra un genoma de referencia, utilizando para ello herramientas como BWA. Los resultados de este alineamiento se almacenan en un formato de texto específico denominado SAM (*Sequence Alignment Map format*) o BAM (su versión binaria y comprimida). El fichero BAM contiene la información detallada sobre cada lectura: nombre, secuencia de nucleótidos, calidad de cada base, posición donde alinea cada lectura al genoma de referencia, calidad del alineamiento, etc. A continuación, se lleva a cabo el proceso de detección de variantes genéticas, también conocido como llamada de variantes. Para ello, se utilizan herramientas como GATK, FreeBayes o Samtools, que analizan los datos alineados y generan un archivo en formato VCF

(*Variant Call Format*). Este archivo contiene las variantes identificadas junto con la información sobre su frecuencia, calidad de la llamada y otras anotaciones básicas. Finalmente, se lleva a cabo la anotación de variantes con herramientas como ANNOVAR o VEP.

3. Análisis terciario

El objetivo del análisis terciario es interpretar las variantes genéticas identificadas durante el análisis secundario para obtener información biológicamente significativa y clínicamente relevante. Este proceso incluye la clasificación y priorización de variantes mediante el uso de bases de datos de referencia y herramientas de predicción de impacto funcional, su correlación fenotípica y la elaboración del informe que incluye las variantes significativas, su posible impacto clínico y las recomendaciones para el seguimiento o intervención clínica.

En este proceso, resulta determinante la aplicación de las guías del Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (del inglés, ACMG), y la Asociación de Patología Molecular (del inglés, AMP). La ACMG/AMP estableció en 2015 una serie de recomendaciones para evaluar 28 criterios de patogenicidad o benignidad que abarcan diversos tipos de evidencia (incluyendo datos funcionales, poblacionales, computacionales, etc.) y a los que se les asigna un nivel de fuerza: muy fuerte (del inglés: VS), fuerte (S), moderado (M) y de apoyo (S). Combinados de manera pragmática, estos criterios dan lugar a un sistema de clasificación semicuantitativo de 5 categorías: patogénicas, probablemente patogénicas, de significado clínico incierto, probablemente benignas o benignas^{233,234}. Además, la ACMG/AMP ha establecido criterios específicos para las alteraciones estructurales o cambios en el número de copias²³⁵.

La **Tabla 7** muestra los criterios de patogenicidad (A) y benignidad (B) para la categorización de variantes de acuerdo con los criterios de la ACMG/AMP. Como se ha mencionado previamente, estos criterios evalúan diversos aspectos relacionados con datos poblacionales (BA1, BS1, PM2 y PS4/BS2), datos computacionales y predictivos (PVS1, PS1/PM5, PP3/BP4, PM4/BP3 y BP7), datos funcionales (PM1, PP2/BP1 y PS3/BS3) y datos de prevalencia en individuos afectados/segregación (PS4, BS2, PP1/BS4, PS2/PM6, PM3/BP2, PP4/BP5 y PP5/BP6). La **Tabla 8** muestra la combinación de estos criterios para determinar la categorización final asignada a cada variante, proporcionando así una predicción de su nivel de riesgo o benignidad.

Tabla 7. Criterios para evaluar variantes. **A)** Patogenicidad. **B)** Benignidad.

A. Evidencia de patogenicidad		Categoría
Muy fuerte	PVS1	Variante nula (<i>nonsense</i> , <i>frameshift</i> , sitios del <i>splicing</i> canónicos +/-1 o 2, cambios en el codón de inicio, delección de uno o varios exones) en un gen en el que la pérdida de función (LoF) es un mecanismo conocido de enfermedad.
	PS1	Mismo cambio de aminoácido que una variante patogénica previamente descrita, independientemente del cambio de nucleótido.
Fuerte	PS2	Variante <i>de novo</i> (paternidad confirmada) en el caso índice, sin AF.
	PS3	Estudios funcionales <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i> bien establecidos que respaldan un efecto dañino sobre el gen o el producto del gen.
	PS4	La prevalencia de la variante en los individuos afectados aumenta significativamente en comparación con la prevalencia en los controles.
	PM1	Variante ubicada en un <i>hot spot</i> mutacional y/o en un dominio funcional crítico y bien establecido, sin variantes benignas.
Moderada	PM2	Variante ausente en controles sanos (o con una frecuencia muy baja si el gen es recesivo) en bases de datos poblacionales.
	PM3	Para trastornos recesivos, variante detectada en <i>trans</i> con una variante patogénica.
	PM4	Cambios en la longitud de la proteína debido a delecciones/inserciones <i>in-frame</i> en una región no repetitiva o variantes de tipo <i>stop-loss</i> .
	PM5	Nuevo cambio <i>missense</i> en un aminoácido donde se ha descrito previamente un cambio <i>missense</i> diferente como patogénico.
	PM6	Variante <i>de novo</i> (paternidad no confirmada) en el caso índice, sin AF.
	PP1	La variante cosegrega con la enfermedad en múltiples miembros de la familia afectados en un gen conocido como causante de la enfermedad.
Apoyo	PP2	Variante <i>missense</i> en un gen que tiene una tasa baja de variantes <i>missense</i> benignas, donde estas variantes son un mecanismo conocido de enfermedad.
	PP3	Múltiples programas informáticos <i>in silico</i> respaldan un efecto nocivo sobre el gen o el producto del gen.
	PP4	El fenotipo o los AF del paciente son muy específicos de una enfermedad con una causa genética.
	PP5	Informe de patogenicidad por una fuente de confianza, sin que haya disponibilidad de evidencia para que el laboratorio realice una evaluación independiente.

B. Evidencia de benignidad		Categoría
Muy fuerte	BA1	La frecuencia alélica está por encima del 5 % en bases de datos poblacionales.
Fuerte	BS1	La frecuencia alélica es mayor de la esperada para la enfermedad.
	BS2	Variante observada en individuos adultos sanos con trastornos recesivos (en homocigosis), dominantes (en heterocigosis) o ligados al cromosoma X (en hemocigosis), con penetrancia completa a una edad temprana.
	BS3	Estudios funcionales <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i> bien establecidos no muestran efectos perjudiciales sobre la función o el <i>splicing</i> de la proteína.
	BS4	Falta de segregación en los miembros afectados de una familia.
Apoyo	BP1	Variante <i>missense</i> en un gen para el cual se sabe que las variantes truncantes son las que causan enfermedad.
	BP2	Variante observada en <i>trans</i> con otra variante patogénica para un gen/trastorno dominante de penetrancia completa u observada en <i>cis</i> con una variante patogénica con cualquier patrón de herencia.
	BP3	Deleciones/inserciones <i>in-frame</i> en una región repetitiva sin una función conocida.
	BP4	Múltiples programas informáticos <i>in silico</i> sugieren que no existe impacto sobre el gen o el producto del gen.
	BP5	Variante encontrada en un paciente con una explicación molecular alternativa para la enfermedad.
	BP6	Informe de benignidad por una fuente de confianza, sin que haya disponibilidad de evidencia para que el laboratorio realice una evaluación independiente.
	BP7	Variante sinónima para la cual los algoritmos de predicción de <i>splicing</i> no predicen ningún impacto en la secuencia ni la creación de un nuevo sitio de <i>splicing</i> y el nucleótido no está muy conservado.

Ambas tablas (A y B) han sido adaptadas de Richards *et al.*²³⁴. AF: Antecedentes Familiares.

Tabla 8. Combinación de criterios de la ACMG/AMP para la categorización de variantes.

Categoría	Criterios	
Patogénica	I	- 1 Muy Fuerte y, además: • ≥ 1 Fuerte • ≥ 2 Moderada • 1 Moderada y 1 Apoyo • ≥ 2 Apoyo
	II	≥ 2 Fuerte
	III	- 1 Fuerte y: • ≥ 3 Moderada • 2 Moderada y ≥ 2 Apoyo • 1 Moderada y ≥ 4 Apoyo
Probablemente patogénica	I	1 Muy Fuerte y 1 Moderada
	II	1 Fuerte y 1-2 Moderada
	III	1 Fuerte y ≥ 2 Apoyo
	IV	≥ 3 Moderada
	V	2 Moderada y ≥ 2 Apoyo
	VI	1 Moderada y ≥ 4 Apoyo
VUS	No se cumple ninguno de los criterios mostrados	
Probablemente benigna	I	1 Fuerte y 1 Apoyo
	II	≥ 2 Apoyo
	III	BS1 solo
Benigna	I	BA1 solo
	II	≥ 2 Fuerte

Adaptada de Richards *et al.*²³⁴. VUS: variante de significado clínico incierto (del inglés, *Variant of Uncertain Significance*).

En 2018, Tavigian *et al.*²³⁶ transformaron las pautas de la ACMG/AMP en un sistema bayesiano, proporcionando así un fundamento matemático para lo que era un juicio cualitativo, y prediciendo las probabilidades (p) que tiene una variante de ser patogénica en función de la categoría de la clasificación ACMG/AMP a la que pertenece: variantes patogénicas $p > 0,99$; variantes probablemente patogénicas: $0,99 \geq p > 0,90$; variantes clínicamente inciertas: $0,10 \leq p \leq 0,90$; variantes probablemente benignas: $0,001 \leq p < 0,10$ y variantes benignas: $p < 0,001$. No obstante, dada la complejidad en el uso de esta formulación bayesiana, Tavigian *et al.*²³⁷ implementaron en 2020 su conversión a un sistema de puntos decimal, para lo que añadieron niveles de fuerza a cada criterio, fuera patogénico o benigno (**Tabla 9**). Según las pautas del sistema de puntos decimal, la clasificación en las distintas categorías sería la siguiente: variante patogénica: ≥ 10 puntos; probablemente

patogénica: 6-9 puntos; significado clínico incierto: 0-5 puntos; probablemente benigna: -1- -6 puntos y benigna: ≤ -7 puntos.

Tabla 9. Niveles de fuerza para criterios patogénicos y benignos según la escala de puntos del sistema decimal.

Evidencia	Escala de puntos	
	Criterio patogénico	Criterio benigno
Indeterminada	0	0
Apoyo	1	-1
Moderada	2	-2
Fuerte	4	-4
Muy fuerte	8	-8

Adaptada de Tavtigian *et al.*²³⁷.

Aunque existan cada vez reglas más robustas para categorizar variantes, el número de hallazgos de significado incierto sigue siendo importante, convirtiendo su interpretación en un reto tanto para genetistas como para clínicos. Según Richards *et al.*, la probabilidad de que una variante de significado incierto sea patogénica varía entre el 10% y el 90%²³⁴, señalando en su manuscrito que "algunos laboratorios pueden optar por subclasificar las variantes de significado incierto, especialmente para uso interno". En este contexto, tal y como se muestra en las **Figuras suplementarias 1 y 2 del Anexo 2**, utilizando las probabilidades de patogenicidad estimadas a través del enfoque bayesiano²³⁶, la escala de puntos derivada del sistema decimal²³⁷ y añadiendo una subclasificación por gradiente de temperatura comúnmente utilizada en el Reino Unido, las guías ACGS (del inglés: *Association for Clinical Genomic Science*) intentaron estratificar las variantes de significado clínico incierto en una escala de 5 niveles de incertidumbre según la suma de las puntuaciones: Hot-VUS (5), Warm-VUS (4), Tepid-VUS (3), Cool-VUS (2), Cold-VUS (1) e Ice-cold-VUS (0)²³⁸. En la última actualización de estas guías²³⁹, esta estratificación ha pasado a tener una escala de 3 niveles de incertidumbre y se ha retirado la nomenclatura que hacía referencia al gradiente de temperatura: nivel bajo (0-1 punto), nivel intermedio (2-3 puntos), nivel alto (4-5 puntos). En base a ello, se deben reportar únicamente aquellas subclasificadas como *hot/warm* (4-5 puntos) cuando exista la posibilidad de obtener evidencias adicionales para permitir su reclasificación como probablemente patogénicas, tal y como podría ocurrir con el estudio de segregación familiar u otros tests complementarios. En caso de imposibilidad de obtener estas evidencias adicionales, podrían reportarse aquellas subclasificadas como *hot/warm* (4-5 puntos) si se llega a un consenso interno y se asumen beneficios para el paciente.

Para concluir, a pesar de que estas pautas de clasificación de variantes han supuesto un salto determinante en la estandarización de su interpretación, buena parte de los criterios aplicados siguen siendo amplios y carecen de suficiente especificidad. Debido a ello, el proceso de interpretación de variantes genéticas no está exento de importantes desafíos²⁴⁰, algunos de los cuales se citan a continuación:

- 1) Fenotipos superpuestos y no específicos, así como expresividad variable.

- 2) Penetrancia incompleta combinada con inicio variable de la enfermedad.
- 3) Diferentes patrones de herencia, incluyendo autosómica dominante, autosómica recesiva y ligada al cromosoma X.
- 4) Diferentes mecanismos de enfermedad asociados a un mismo gen, incluyendo pérdida de función, ganancia de función y efecto dominante negativo.
- 5) Prevalencia variable de variantes particulares en diferentes poblaciones.
- 6) Ubicación de las variantes causantes de enfermedades en regiones no codificantes para las cuales las recomendaciones ACMG/AMP, que se basan en dominios funcionales, la estructura de la proteína o las predicciones *in silico* no se aplican.
- 7) Una alta tasa (10-15%) de variantes de número de copia para las cuales las recomendaciones generales sólo están disponibles recientemente.

Por este motivo, desde su implementación, las guías de la ACMG/AMP han recomendado ajustar de manera específica algunos de los criterios propuestos en lugar de utilizarlos de forma general. Para abordar esta dificultad, se han creado grupos como el *Clinical Genome Resource* (ClinGen), que se trata de un consorcio de investigación enfocado en la genómica clínica cuyo objetivo es mejorar la interpretación y utilización de información genómica para el diagnóstico, tratamiento y prevención de enfermedades. En este contexto, grupos de expertos como los Paneles de Expertos en Curación de Variantes de ClinGen (VCEPs) han propuesto elementos adicionales de evidencia para estudiar síndromes hereditarios concretos, entre los que se encuentran: *RUNX1*^{241,242}, *TP53*²⁴³, *ATM*²⁴⁴ y las RASopatías²⁴⁵. Además, Feurstein *et al.* han trazado diversas recomendaciones y herramientas para aplicar de forma específica las reglas de la ACMG/AMP en pacientes con síndromes de predisposición a neoplasias hematológicas²⁴⁰. En la **Tabla suplementaria 2 del Anexo 3**, se exponen estas recomendaciones añadiendo niveles de fuerza a las distintas categorías de la ACMG/AMP²⁴⁰.

Secuenciación Sanger

Cuando se encuentra una variante patogénica o probablemente patogénica y potencialmente germinal en el análisis somático (VAF >30% y gen relacionado con NHHs), basta con realizar una secuenciación Sanger en la muestra germinal que confirme o descarte el origen constitucional de dicha variante.

Otros test dirigidos

Ante la sospecha de algunos síndromes concretos, pueden llevarse a cabo tests específicos como primer análisis genético. Por ejemplo, para la Anemia de Fanconi o los Síndromes de Acortamiento de Telómeros, pueden realizarse un test de fragilidad cromosómica o una medición de la longitud de los telómeros, respectivamente^{6,226,228,246}.

En la **Tabla 10**, se muestran las diferentes estrategias de diagnóstico genético mencionadas previamente.

Tabla 10. Estrategias para el diagnóstico genético.

Test genético	Utilidad	Limitaciones
Germinal		
Análisis de un único gen (Sanger)	- Alta sospecha de un síndrome concreto - Confirmación de variante hallada en análisis somático	- Sólo detecta mutaciones o regiones génicas concretas - No detecta CNVs - Laboriosidad
Análisis de NGS	- Evaluación exhaustiva de NHHs - Se puede optimizar la cobertura génica y regiones de interés	- No hay estandarización de paneles: variación en los genes, en las regiones no codificantes y en la cobertura incluidas en los diferentes laboratorios - Algunos paneles no detectan CNVs
Somático		
Análisis de un único gen/NGS	Análisis de mutaciones somáticas en las células malignas	- Se necesita una muestra germinal para determinar el origen de la variante - Los paneles diseñados para el análisis somático pueden omitir genes o regiones relevantes en las NHHs
Funcional		
Fragilidad cromosómica	- Útil para el diagnóstico de Anemia de Fanconi y Disqueratosis Congénita - Útil para validar nuevas variantes o variantes de significado clínico incierto	- Los estudios funcionales están disponibles para pocos síndromes - Su disponibilidad suele ser escasa
Longitud de telómeros		

Adaptada de Furutani *et al.*²²⁸. CNV: variación en el número de copias (del inglés, *Copy Number Variation*); NGS: secuenciación masiva (del inglés, *Next-Generation Sequencing*); NHHs: Neoplasias Hematológicas Hereditarias.

1.5. MANEJO Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES Y FAMILIARES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS

1.5.1. Asesoramiento genético y consentimiento informado

Con el objetivo de recomendar estrategias de diagnóstico precoz y manejo en individuos con alto riesgo de desarrollar una neoplasia hematológica, es fundamental realizar una evaluación especializada para confirmar la sospecha diagnóstica, además de ofrecer asesoramiento genético^{3,5}. Este tipo de asesoramiento consiste en informar a la persona del riesgo de padecer cáncer, de las posibilidades de transmitirlo a las siguientes generaciones, así como de las opciones de manejo que tiene esta situación tanto desde el punto de vista médico como

psicológico. Debido a la complejidad emocional y a los conflictos éticos que abarca, el consejo genético debe desarrollarse en el contexto de un programa organizado a través de un equipo multidisciplinar, con garantía de accesibilidad, equidad y continuidad asistencial, que permita su evaluación a corto, medio y largo plazo de los beneficios en salud y analizar el balance entre beneficios y efectos adversos²⁴⁸. Además, es un proceso que debe llevarse a cabo por profesionales que hayan recibido una formación adecuada en este ámbito, que conozcan en profundidad las peculiaridades de estos síndromes de predisposición hereditaria, los modelos de riesgo existentes, así como las formas de evaluación y las pautas de manejo y seguimiento⁵.

A pesar de los potenciales beneficios médicos que aporta la realización del consejo genético oncológico como son la reducción de la incertidumbre acerca del riesgo, la posibilidad de incrementar o reducir las medidas de seguimiento, dependiendo de los resultados del test genético, así como la puesta en marcha de detección precoz para la enfermedad en caso de que sea necesario, no podemos dejar de lado las consecuencias psicológicas, éticas, sociales y legales que conlleva un estudio de este tipo²⁴⁷. El consentimiento de un paciente para comenzar un estudio genético implica una toma de decisión de trascendencia vital; ya que la información que se le va a revelar puede desencadenar una serie de reacciones emocionales nada despreciables tanto en él como en su familia: ansiedad, temor, vulnerabilidad, sobreestimación del riesgo, hipervigilancia, angustia, impotencia, culpabilidad y rabia, entre otras^{248,249}. Por ello, es importante que el paciente sea informado exhaustivamente sobre el proceso y lo que conlleva la realización de un test genético mediante el consentimiento informado. Esta figura incorporada entre las actividades del consejo genético se define como “la conformidad expresa del paciente, manifestada por escrito, previa la obtención de la información adecuada con tiempo suficiente, claramente comprensible para él, ante una intervención quirúrgica, procedimiento diagnóstico o terapéutico invasivo y en general siempre que se lleven a cabo procedimientos que conlleven riesgos relevantes para la salud”²⁴⁷. En nuestra legislación, la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica, contempla en el capítulo II. Art. 48.1 que “será preciso el consentimiento expreso y específico por escrito para la realización de un análisis genético”²⁵⁰.

Por otra parte, no debe olvidarse que la información genética tiene una serie de características que la hacen objeto de una especial protección. En este sentido, un aspecto a tener en consideración según el marco legislativo actual es que el individuo al que se le realiza el análisis es quien escoge si quiere dar esta información y a quién. Legalmente, la responsabilidad directa de la comunicación de esta información a sus familiares incumbe al propio paciente; por lo que, si un paciente se negara a transmitirla, se plantearía un dilema ético donde entrarían en conflicto el derecho a la privacidad del paciente con el derecho a la salud de otros miembros de la familia²⁵¹.

1.5.2. Manejo de pacientes con una neoplasia hematológica hereditaria

El manejo de los pacientes con NHHs puede diferir en algunos casos del de las neoplasias hematológicas esporádicas³². Por ese motivo, cada vez se publican más guías clínicas para el manejo y seguimiento de pacientes con síndromes concretos relacionados, como ocurre con el síndrome de Li Fraumeni²⁵² o la anemia de Fanconi¹⁴⁴. A continuación, se citan algunas de las peculiaridades en el manejo de las NHHs reportadas en la literatura³²:

- Los pacientes con mutaciones en *DDX41* pueden beneficiarse de la terapia con lenalidomida¹⁶. Asimismo, se ha sugerido que la ciclofosfamida post alo-TPH en estos pacientes podría disminuir la incidencia de enfermedad injerto contra receptor (EICR)²⁵³.
- La exposición a radiaciones ionizantes debe evitarse, si es posible, en pacientes con síndrome de Li-Fraumeni, ya que estos individuos tienen un mayor riesgo de cánceres inducidos por la misma²⁵⁴.

- Los pacientes con NHH precedidos de trombocitopenia a menudo son tratados por una púrpura trombocitopénica idiopática antes de que se confirme el síndrome familiar, por lo que estas terapias pueden ser evitadas con el diagnóstico genético adecuado.
- En pacientes con anemia de Fanconi o síndrome de acortamiento de telómeros, se puede utilizar un régimen de acondicionamiento menos tóxico para el alo-TPH, ya que los regímenes estándar confieren un riesgo elevado de toxicidad²⁵⁵.
- En el caso de los pacientes con haploinsuficiencia de GATA2 que tienen SMD de bajo riesgo, el acondicionamiento mieloablativo podría no ser necesario debido a las bajas tasas de recaída²⁵⁶.
- Los pacientes con síndrome de acortamiento de telómeros que experimentan anemia aplásica son tratados frecuentemente con andrógenos, lo que resulta en una respuesta hematológica en la mayoría de los casos²⁵⁷.
- Tal y como se ha mencionado previamente, los corticoides son eficaces en el tratamiento de los pacientes con anemia de Blackfan-Diamond^{199,207}.
- Todos los pacientes que presenten predisposición o afectación de otros órganos distintos al hematopoyético deben ser referidos a unidades multidisciplinarias para su manejo y seguimiento conjunto^{52,227}. Es de especial interés el seguimiento estrecho tras haber recibido quimioterapia o un alo-TPH por el riesgo aumentado de segundas neoplasias⁵².

Aunque cada vez hay más datos y el conocimiento de las NHHs es mayor, sigue existiendo mucha controversia acerca del momento óptimo de la realización de un alo-TPH para erradicar el clon neoplásico en estos pacientes⁸. Mención especial merecen aquí las NHHs caracterizadas por presentar quimio sensibilidad y largos periodos de latencia antes de la recurrencia de la enfermedad, como ocurre en el caso de aquéllas con *CEBPA* mutado^{15,66}, en las que la comorbilidad del alo-TPH podría suponer mayor riesgo que beneficio para estos pacientes.

Dado que el donante idóneo para alo-TPH es el emparentado, la presencia de una variante germinal patogénica en el receptor es relevante para la selección del donante más adecuado^{52,54,224}. De hecho, cuando se han utilizado donantes emparentados con variantes germinales patogénicas en *RUNX1* o *CEBPA*, se han observado resultados peores por distintas razones: movilización pobre de células madre hematopoyéticas²⁵⁸, fallo o retraso de implante²⁵⁹, recaída temprana²⁵⁹, leucemias en células del donante^{258,260} y el desarrollo de leucemia en el donante relacionado con la movilización para la recolección de células madre²⁶⁰. Por todo ello, se deberían evitar las células progenitoras de donantes emparentados que sean portadores de variantes deletéreas en genes con clara asociación a neoplasias hematológicas, incluyendo *CEBPA*, *RUNX1*, *GATA2* y *DDX41*^{43,54}. En cuanto al resto de genes de predisposición germinal a neoplasias hematológicas, aunque no se pueden llevar a cabo recomendaciones de forma tan sólida debido a la ausencia de datos en el contexto de un alo-TPH^{43,54}, diferentes expertos, incluyendo un posicionamiento por parte de la Sociedad Europea de Trasplante de Médula Ósea y Sangre (del inglés, EBMT), sugieren que parece prudente elegir un donante no portador siempre que sea posible^{43,54,225,261,262}. Si fuera preciso utilizar las células de donantes portadores, se debería explicar la falta de conocimiento actual sobre el impacto de estas variantes y el riesgo desconocido de usar factores estimulantes de colonias⁴³. De hecho, hay centros que sugieren ofrecer la recolección de médula ósea en estos casos para evitar el uso de agentes movilizadores⁴³.

1.5.3. Estudio y seguimiento de familiares portadores sin enfermedad activa

Durante las visitas a la consulta del asesor genético, es necesario educar y concienciar a los pacientes sobre la importancia de la historia familiar y la evaluación del riesgo de cáncer tanto para ellos mismos como para sus allegados⁵. Esto es particularmente relevante en el caso de un trasplante de progenitores hematopoyéticos, donde se identifica a un miembro de la familia

como un posible donante^{52,144}. Con el objetivo de recoger la máxima información posible de cada familia, es esencial elaborar el árbol genealógico en la primera visita. Una vez conocido el genotipo de un individuo, los miembros de su familia pueden someterse a un análisis dirigido para determinar su estado de portador y poder, de este modo, asesorar e informar la planificación reproductiva. Aunque lo ideal es estudiar, en primer lugar, al primer individuo afectado (también conocido como caso índice), si el probando no está disponible, podría examinarse el estado de portador de sus familiares mediante análisis más amplios, como un panel de NGS¹⁴⁴.

En cuanto al manejo y seguimiento de familiares portadores, diferentes expertos recomiendan la realización de un aspirado/biopsia de médula ósea basal para descartar la presencia de enfermedad activa en el momento del diagnóstico, lo que es particularmente importante ante la detección de citopenias o macrocitosis en el hemograma^{52,224}. Además, señalan que habría que considerar también realizar un análisis citogenético y molecular en la médula ósea ya que podría aportar información útil relacionada con la evolución clonal en estos individuos^{52,224}. No obstante, existen muchas controversias en este campo que precisan de mayor aclaración en el futuro. Por una parte, hay muchos hematólogos que prefieren realizar el estudio medular una vez aparezcan alteraciones en el hemograma, ya que buena parte de los portadores es posible que nunca desarrollen una neoplasia hematológica⁸. Por otra parte, dado que el significado clínico de adquisiciones somáticas en individuos sin neoplasia activa es desconocido, muchos expertos prefieren no llevar a cabo este tipo de estudios en estas circunstancias²²⁴.

En general, se recomienda llevar un seguimiento clínico periódico con una frecuencia de 6-12 meses para descartar alteraciones en el hemograma (incluyendo morfología) y hallazgos clínicos subsidiarios de estudio, como linfadenopatías o hepato-esplenomegalia²²⁴. Si en alguna de esas revisiones el individuo portador presentara algún cambio relevante, sería conveniente descartar las causas que lo acompañan, incluyendo un estudio de médula ósea^{52,224,227}. La edad de inicio de la evaluación clínica dependerá de las características de cada entidad y de su presentación en la familia a estudio^{52,227}. Aunque no hay estudios prospectivos que lo avalen, estas recomendaciones parecen menos claras para individuos con alteraciones genéticas que predisponen a neoplasias linfoides²²⁴.

En familias donde exista una alta sospecha de predisposición a NHH sin haber sido posible detectar ningún gen causante de la misma, hay expertos que recomiendan la realización de aspirado/biopsia basal con análisis citogenético y molecular a los potenciales donantes, incluso a aquéllos con una exploración física y un hemograma normal. De la misma forma, también recomiendan considerar un donante no emparentado, sobre todo si el familiar a estudio presenta citopenias^{52,224,225,228}. Por último, aconsejan que los familiares de primer grado lleven un seguimiento anual similar al descrito previamente para individuos portadores⁵². No obstante, no se debe olvidar que éstas son recomendaciones de expertos y que no existen estudios prospectivos actualmente que avalen tales directrices.

1.5.4. Opciones reproductivas

Cada vez, existen más opciones reproductivas para familias e individuos con NHHs.

Pruebas Diagnósticas Prenatales

Las pruebas diagnósticas prenatales de células fetales se pueden realizar en varios momentos del embarazo para determinar si un feto tiene la enfermedad a estudio. También se pueden utilizar pruebas prenatales para determinar si el feto tiene los mismos antígenos leucocitarios humanos (HLA) que el hermano con la enfermedad a estudio. Este proceso, conocido como tipificación HLA, revela si el niño será un donante

adecuado para su hermano enfermo. Las opciones de pruebas prenatales incluyen la muestra de vellosidades coriónicas y la amniocentesis, que suelen estar disponibles a partir de las semanas 10 y 15 de embarazo, respectivamente. Ambos procedimientos conllevan un riesgo de aborto espontáneo y deben discutirse en detalle con el centro que realiza el procedimiento¹⁴⁴.

Diagnóstico Genético Preimplantacional

El diagnóstico genético preimplantacional (DGP) es una prueba genética que se utiliza para analizar embriones generados mediante fecundación in vitro (FIV). La disponibilidad de este procedimiento varía según la legislación de cada país. El DGP permite seleccionar embriones libres de la enfermedad estudiada y aquellos compatibles con un hermano afectado en términos de HLA; sin embargo, no garantiza el éxito. Los centros que ofrecen DGP deben informar a las familias sobre su experiencia y precisión. Se debe asesorar a los padres sobre la probabilidad de seleccionar un embrión sano y compatible, considerando que muchas parejas necesitan varios ciclos de FIV-DGP para lograr un embarazo viable. Además, se recomienda realizar pruebas prenatales en todos los embarazos resultantes para confirmar el estado genético esperado¹⁴⁴.

2. HIPÓTESIS

Las Neoplasias Hematológicas Hereditarias han sido reconocidas recientemente como entidades clínicas con características propias, con una prevalencia estimada del 5-10% tanto en pacientes adultos como pediátricos con neoplasias hematológicas o insuficiencia medular. A pesar de su relevancia, hasta ahora son muy pocos los centros en nuestro medio que dispongan de una casuística suficiente y que hayan podido llevar a cabo una caracterización sistemática de un número significativo de pacientes con estos síndromes. Esto hace que su identificación, asesoramiento, seguimiento y tratamiento sean en gran medida desconocidos para buena parte de los profesionales encargados de la atención de estos pacientes.

Nuestra hipótesis es que la implementación de una estrategia diagnóstica específica para la detección de Neoplasias Hematológicas Hereditarias optimizará la identificación temprana y el seguimiento de estos pacientes, facilitando un asesoramiento genético y reproductivo más eficaz, y promoviendo un abordaje individualizado tanto para los pacientes como para sus familias.

3. OBJETIVOS

El objetivo principal de este Proyecto de Tesis Doctoral es diseñar e implementar una estrategia integral de diagnóstico y seguimiento para pacientes con NHHs, así como evaluar su impacto en la identificación temprana, el manejo clínico y el asesoramiento genético tanto de los pacientes como de sus familias.

Para alcanzar este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar la validez de diferentes tipos de muestras de origen germinal utilizadas en el diagnóstico genético de predisposición a NHHs.
2. Diseñar un panel de genes basado en secuenciación de nueva generación (NGS) que permita el diagnóstico preciso de los síndromes de predisposición hereditaria a neoplasias hematológicas.
3. Identificar y caracterizar alteraciones genéticas germinales de relevancia clínica en una cohorte de pacientes, incluyendo tanto casos con sospecha de susceptibilidad a NHHs como individuos sin antecedentes familiares ni criterios clínicos previos.
4. Integrar la información clínica y familiar de la serie global con los hallazgos genéticos obtenidos mediante NGS, con el fin de establecer correlaciones entre variantes germinales, el fenotipo y la evolución de la enfermedad.
5. Evaluar la adecuación de los criterios actuales de derivación a la Consulta de Genética Hematológica, mediante el análisis de un subgrupo de pacientes incluidos en la cohorte.
6. Analizar el abordaje clínico y el seguimiento de pacientes y familiares diagnosticados de una NHH en el Hospital La Fe en el periodo comprendido entre 2017-2022.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. SERIE DE PACIENTES A ESTUDIO

La serie completa incluyó un total de 300 pacientes con hemopatía, que fueron estudiados en una consulta específica de Genética Hematológica (CGH) y/o su laboratorio correspondiente (LGH) perteneciente a la Unidad de Genética del Hospital Universitario y Politécnico La Fe entre los años 2017 a 2022. Doscientos setenta y cinco pacientes (92%) habían recibido su diagnóstico hematológico en el Hospital La Fe, mientras que veinticinco (8%) habían sido remitidos desde otros centros de la Comunidad Valenciana o de otras comunidades autónomas (Andalucía, Castilla la Mancha, Madrid y Murcia). Es importante destacar que algunos pacientes fueron diagnosticados de su enfermedad de base meses o incluso años antes de la realización del estudio genético, abarcando un amplio rango de tiempo (1986-2022). En los casos en que se necesitó analizar muestras retrospectivas para la validación de las alteraciones genéticas encontradas en un paciente, éstas fueron proporcionadas por el Biobanco La Fe. Se trataba de muestras almacenadas con fines de investigación biomédica que cumplían la legislación vigente (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica). La incorporación de estas muestras al Biobanco había sido autorizada por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Fe con fecha 26 de abril de 2011 y número de registro 2011/0156.

Dentro de la serie global, dividimos a los pacientes en 2 grupos debido a sus diferentes criterios de selección:

- **Serie dirigida:** 112 pacientes (37%) o sus muestras fueron remitidos a la CGH/LGH debido a que cumplían con criterios de sospecha clínica de NHH (**Tabla 11**), con el objetivo de maximizar la identificación de síndromes de predisposición y la caracterización de casos canónicos. Estos criterios fueron seleccionados a partir de una revisión bibliográfica.
- **Serie consecutiva:** por su parte, los 188 pacientes restantes (63%) fueron reclutados de forma consecutiva, sin considerar criterios de sospecha específicos, ofreciendo de este modo una representación más amplia y no seleccionada de la población con neoplasias hematológicas y constituyendo una subpoblación independiente para el análisis de datos.

Tabla 11. Criterios de sospecha para derivar a un paciente a la CGH.

Historia personal	Insuficiencia Medular, independientemente de la edad. LMA o SMD con diagnóstico <40 años. Antecedente de citopenias previas al diagnóstico hematológico. Antecedente de neoplasia distinta a la enfermedad hematológica. Signos/síntomas de un Síndrome de Insuficiencia Medular con daño orgánico.
Antecedentes familiares	Insuficiencia Medular, neoplasia hematológica (sobre todo mieloide) o citopenias en familiares de primer grado, independientemente de la edad.
Estudio somático	Alteraciones deletéreas en genes relacionados con los Síndromes de Predisposición con una VAF >30%.

LMA: Leucemia Mieloide Aguda; SMD: Síndrome Mielodisplásico; VAF: frecuencia alélica variante (del inglés, *Variant Allele Frequency*).

En cuanto a la obtención de datos, éstos fueron recogidos de manera sistemática en ambas series, aunque la amplitud y profundidad de los mismos varió. En la serie dirigida, se recopilaban de forma retrospectiva los detalles relacionados con la enfermedad, así como los siguientes parámetros del debut de la patología hematológica: edad, nivel de hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), recuento de leucocitos, recuento plaquetar y la presencia de displasia y celularidad en médula ósea. En cambio, en la serie consecutiva, además de recopilar los datos previamente mencionados, se realizó una anamnesis dirigida a la búsqueda de signos y síntomas relacionados con NHH (siguiendo una adaptación del cuestionario de *screening* descrito por Desai *et al.*²²⁵). También se recogieron los hallazgos somáticos del diagnóstico (los paneles de NGS utilizados para la detección de SNVs se describen en el **Anexo 4**) y se registraron los antecedentes familiares relevantes de primer y segundo grado. Para este proceso, se elaboró un árbol genealógico de, al menos, tres generaciones siguiendo las recomendaciones de la *National Society of Genetic Counselors* (del inglés, Sociedad Nacional de Asesores Genéticos de EE.UU.) y utilizando los símbolos descritos por Bennett *et al.*²⁶³ (**Tabla suplementaria 3 del Anexo 5**).

4.2. FLUJO DE TRABAJO EN LA CONSULTA/LABORATORIO DE GENÉTICA HEMATOLÓGICA

4.2.1. Contacto con la CGH del Hospital La Fe

El circuito de trabajo en la CGH/LGH se puso en marcha por distintas vías:

Pacientes que cumplían criterios de sospecha de una NHH (n=112):

- **Oncohematología y Oncopediatría del Hospital La Fe → CGH** (n=87). Cuando un paciente, adulto o pediátrico, cumplía con los criterios de sospecha de una NHH (**Tabla 11**), el médico responsable se encargó de contactar con la CGH del Hospital La Fe para presentar el caso.
- **Centro externo → CGH** (n=25). Cuando se sospechó una NHH en un centro externo (**Tabla 11**), el médico responsable contactó con la CGH. Si el paciente podía acudir al Hospital La Fe, desde la CGH se activó el mismo flujo de trabajo que con los pacientes del propio centro. En caso contrario, si el paciente no tenía acceso al Hospital La Fe, se coordinó un circuito para el envío de muestras entre el centro externo y la CGH.

Pacientes reclutados de forma consecutiva (n=188):

- Estos pacientes fueron reclutados de forma consecutiva en la consulta de Oncohematología del Hospital La Fe o en la planta de hospitalización del mismo servicio, y fueron remitidos a la CGH.

4.2.2. Primera visita: asesoramiento genético pre-test y obtención de la muestra germinal

Para poder llevar a cabo el estudio en línea germinal, todos los pacientes recibieron un asesoramiento genético pre-test en el que se explicó la naturaleza de estos síndromes, las características de las pruebas a realizar, así como los potenciales escenarios y consecuencias esperables en función de los resultados que pudieran obtenerse. Además, en caso de aceptar realizar el estudio, ellos o sus tutores legales firmaron un consentimiento informado, es decir, no expresaron negativa a realizar este estudio tras haber sido informados del mismo, de acuerdo con las directrices recogidas en la Declaración de Helsinki, Convenio del Consejo de Europa relativo a derechos humanos y biomedicina, Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y derechos humanos y requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética.

En cuanto a la muestra germinal, se obtuvo de distintos tejidos según el diagnóstico, la preferencia del paciente o la disponibilidad para su extracción, utilizando biopsia de piel para el cultivo de fibroblastos cutáneos, selección de linfocitos T CD3⁺ a partir de sangre periférica, saliva/mucosa oral y sangre periférica/médula ósea. En casos de enfermedad clonal, se priorizó la biopsia cutánea para el cultivo de fibroblastos como muestra germinal. Por el contrario, en situaciones de insuficiencia medular, fue suficiente utilizar sangre periférica o médula ósea. A continuación, se detallan los procedimientos realizados para cada tipo de muestra.

1. Biopsia de piel y cultivo de fibroblastos cutáneos

Biopsia de piel

En todos los casos, se llevó a cabo cuando la cifra de plaquetas del paciente fue superior a 20.000/mm³. La biopsia se realizó en región latero-lumbar sobre un campo estéril, previa aplicación de anestesia tópica con mepivacaína al 2%. El punch utilizado fue de 2 mm². Debido al tamaño reducido de la muestra, en ningún caso fue necesaria la aproximación de la herida con puntos de sutura. Una vez extraída, la muestra fue depositada en un tubo estéril que incluía 10 mL de medio de cultivo RPMI-1640 (Gibco™, Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY, USA) suplementado con antibiótico (10.000 U/mL Penicilina – 10.000 µg/mL Estreptomicina) y 0,1 mL de heparina sódica (1.000 UI/ml) para su transporte al laboratorio.

Cultivo de fibroblastos cutáneos

Tras fragmentar la muestra de biopsia cutánea, se practicaron cultivos de 3-6 semanas de duración en medio de cultivo CHANG-D (FUJIFILM Irvine Scientific™, Santa Ana, CA, USA) suplementado con antibiótico (10.000 U/mL Penicilina-10.000 µg/mL Estreptomicina). Los cultivos se prepararon en cámara de flujo laminar y posteriormente se incubaron a 37°C en un incubador con 5% de presión de CO₂ y una humedad del 90%. El primer cambio de medio se llevó a cabo 4 o 5 días tras la siembra de fibroblastos. Posteriormente, se realizó cada 48 horas. Cuando las colonias crecieron lo suficiente (10-15mm de diámetro alrededor del implante), se procedió a subcultivar cada muestra. Para ello, fue necesario desprender las células de la base del frasco de cultivo mediante un método enzimático consistente en una solución de Tripsina-EDTA al 0,05% (Gibco™, Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY, USA). Tras otra incubación, cuando el índice mitótico fue adecuado (4-5 mitosis/campo) y se alcanzó el 80% de confluencia celular, se llevó a cabo la extracción de DNA.

2. Selección de linfocitos T CD3⁺ mediante Rosette-Stem Cell Technologies

En todos los casos, la selección de linfocitos T CD3⁺ se realizó cuando la cifra de linfocitos totales en SP fue superior a 700/mm³ y el porcentaje de blastos inferior al 10%. Para llevar a cabo la separación celular, se utilizó el kit de Rosette-Stem Cell Technologies®, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Posteriormente, para valorar la calidad de la muestra, se analizó la pureza de ésta mediante citometría de flujo. Las muestras se adquirieron en un citómetro FACSCanto-II™ (Becton Dickinson, San Jose, CA, EE. UU.). Se desecharon todas las muestras con pureza inferior al 70%.

3. Muestra de saliva/mucosa oral

Para el desprendimiento de células epiteliales procedentes de esta mucosa, se procedió a raspar la cavidad oral con una torunda y posteriormente se depositó el material obtenido en suero fisiológico.

4. Muestra de sangre periférica o médula ósea

Estas muestras se utilizaron en los casos en los que, en principio, no debería haber eventos clonales en el tejido hematopoyético, como ocurre con el diagnóstico de insuficiencia medular/citopenias, síndrome linfoproliferativo crónico sin infiltración medular y en determinados pacientes en remisión completa.

Como se ha mencionado previamente, en los pacientes externos que no tenían acceso a la CGH, se llevó a cabo una coordinación conjunta para el asesoramiento y la obtención de la muestra. Si el centro externo estaba capacitado para informar al paciente y ofrecer asesoramiento genético, éste se realizó desde allí. En caso contrario, la primera consulta se llevó a cabo de manera telefónica entre un experto de la CGH y el paciente. Posteriormente, la toma de la muestra germinal se realizó en el centro correspondiente al paciente. En los casos en que se efectuó una biopsia cutánea para el cultivo de fibroblastos, el LGH envió previamente el medio de cultivo necesario para transportar la muestra una vez extraída. Tras completar el procedimiento, el centro externo envió la muestra al LGH para su procesamiento.

4.2.3. Análisis genético del DNA germinal e interpretación de resultados

Wet-lab

Se desarrolló un panel personalizado de secuenciación de nueva generación (NGS) que abarcó 110 genes seleccionados tras una revisión bibliográfica exhaustiva, con el objetivo de detectar alteraciones genéticas relacionadas con las NHHs. El diseño del panel consideró aspectos técnicos clave, como la presencia de pseudogenes, variantes intrónicas profundas, promotores y regiones no transcritas. El diseño de cebadores necesario para amplificar todas las dianas contempladas en el panel se realizó empleando la herramienta informática SureDesign (Agilent) y el soporte técnico proporcionado por Agilent Technologies. La relación completa de los genes incluidos en el panel puede consultarse en el **Anexo 6 (Tabla Suplementaria 4)**.

La validación técnica del panel incluyó el cálculo de la repetitividad (precisión intra-ensayo), la reproducibilidad (precisión inter-ensayo), la sensibilidad y la especificidad. Para ello, se utilizaron las líneas celulares NA12878 y NA12144 (Coriell Cell Repositories, Nueva Jersey, USA), ampliamente reconocidas como estándares de referencia en estudios genómicos. Cada línea celular fue analizada por triplicado para valorar el grado de concordancia entre las réplicas, asegurando la consistencia y precisión de los resultados.

Una vez optimizado el panel, se procedió al análisis de todas las muestras germinales, asegurando previamente el cumplimiento de los parámetros estándar de calidad. Los exones incluidos fueron analizados junto con un margen mínimo de 10 pares de bases (pb) de las regiones intrónicas flanqueantes, garantizando una cobertura adecuada para el análisis.

La **Figura 10** ilustra el flujo de trabajo para la preparación de librerías, realizado siguiendo el protocolo del fabricante (Agilent). Este procedimiento optimizado permitió garantizar la calidad y la reproducibilidad de los resultados.

1. Extracción y cuantificación de DNA

Los ácidos nucleicos (DNA) se obtuvieron a partir de las muestras germinales descritas previamente. La extracción de DNA se llevó a cabo en el extractor automático QIAasymphony SP/AS instrument (Qiagen) o de forma manual con QIAamp DNA mini kit (Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante.

La cuantificación de las muestras se realizó mediante espectrofotometría utilizando el equipo Nanodrop 2000® (NanoDrop Technologies). Se tomaron los datos de absorbancia 260/280 y 260/230 para determinar la pureza de la muestra, estableciendo como criterio de aceptabilidad una ratio entre 1,8-2 para ambas métricas. Las muestras se almacenaron a -20°C hasta su utilización.

2. Generación de librerías

Se generaron librerías genómicas para cada paciente utilizando la plataforma automatizada "Bravo Automated Liquid Handling Platform" de Agilent. Para el periodo comprendido entre 2017 y 2019, se empleó el kit SureSelect QXT Target Enrichment, Multiplexed Sequencing, mientras que entre 2020 y 2022 se utilizó el kit SureSelect XT HS y XT Low Input Library Preparation Kit. En ambos casos, se siguieron los protocolos experimentales correspondientes (**Figura 10**).

Previamente a la preparación de las librerías, se realizó la cuantificación del DNA genómico. Para las muestras procesadas con el primer protocolo (2017-2019), se midió la concentración de DNA utilizando el equipo Qubit™ 3 fluorometer (Invitrogen) y el kit Qubit BR DNA Quantification Assay (Invitrogen), con el fin de ajustar la concentración final a 25 nM. En el segundo protocolo (2020-2022), la cuantificación inicial se realizó con el equipo NanoDrop, ajustando el DNA total a 50 ng.

El DNA genómico fue fragmentado enzimáticamente y se añadieron los adaptadores a los extremos finales de los fragmentos en una sola reacción. En este paso, se realizó una determinación de los fragmentos mediante la plataforma electroforética 2200 TapeStation de Agilent empleando el kit D1000 ScreenTape.

3. Hibridación y captura

Se emplearon sondas específicas para los genes y zonas de interés, y se identificaron las muestras siguiendo patrones específicos de *barcodes*. Las librerías de DNA preparadas anteriormente se hibridaron y capturaron mediante un sistema específico de captura, por medio de microesferas recubiertas de estreptavidina (Dynabeads MyOne Streptavidin T1, Life Technologies). La codificación de indexado (*barcode*) se añadió tras amplificación del DNA. Posteriormente, se cuantificó y evaluó la cantidad y calidad de cada librería indexada mediante el kit High Sensitivity D1000 ScreenTape (Agilent) en un equipo 2200 TapeStation (Agilent). Se realizó una determinación equimolar de la dilución de cada librería, resultando en el *pool* requerido para la secuenciación multiplex.

4. Secuenciación

Finalmente, se llevó a cabo el proceso de secuenciación de librerías. Para ello, se empleó el equipo Nextseq550 (Illumina) con el kit MID output 150 ciclos (75x2) pair-end, Flow cell Mid output.

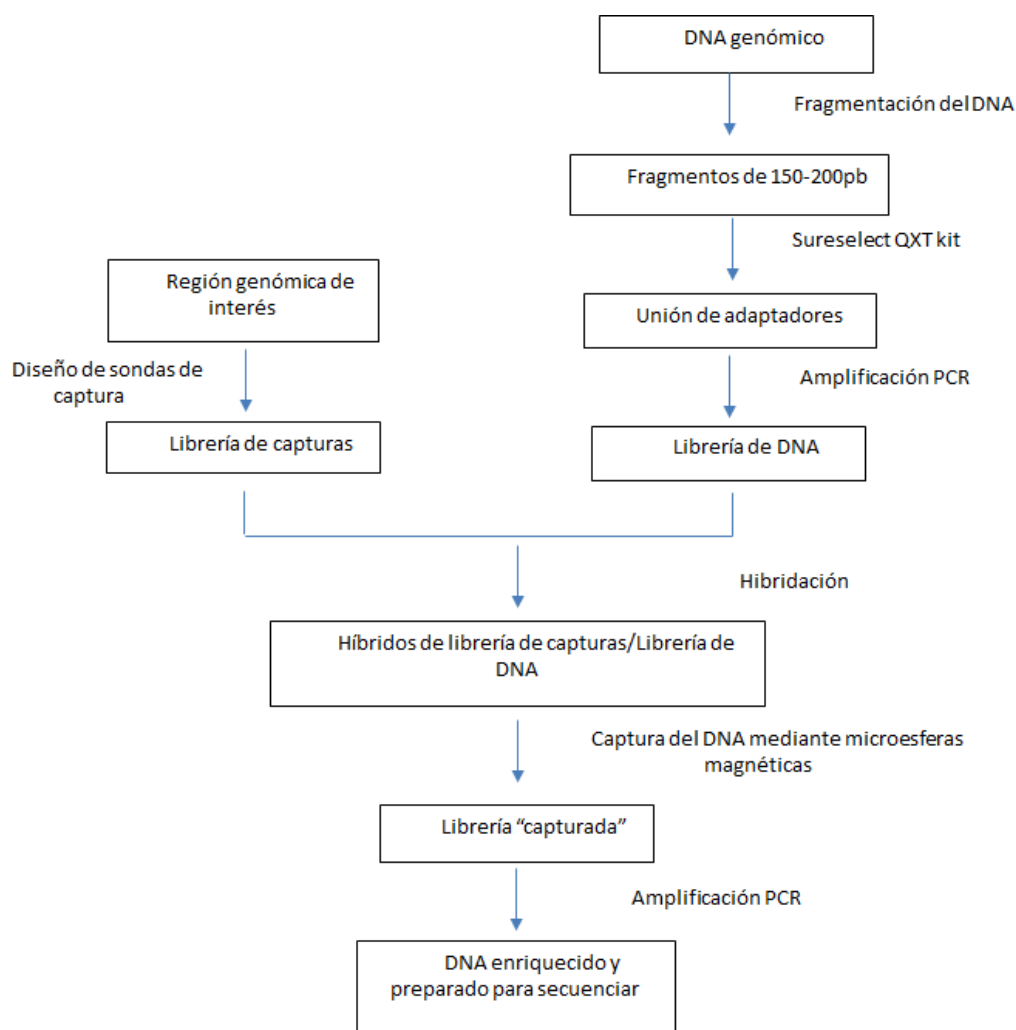


Figura 10. Proceso de preparación de librerías (Agilent)

Análisis bioinformático

1. Anotación, filtrado y visualización de variantes

El mapeo de los datos de secuenciación y la llamada de variantes se llevó a cabo con el *software Alissa Align & Call* (versión 5, Agilent). Para realizar la anotación y el análisis de variantes, se utilizó el *software Alissa Interpret* (versión 5, Agilent). Los filtros aplicados eliminaron del análisis aquellas localizadas en regiones no codificantes (excluyendo de los filtros sitios de *splicing* flanqueantes al exón hasta +/-10 nucleótidos), variantes sinónimas y las variantes con elevada frecuencia tanto en la población general (MAF >0,02) como en la base de datos propia. Además, se eliminaron del análisis los cambios encontrados en población sana y descritos como benignos por diversas fuentes por considerarse cambios polimórficos sin relevancia clínica. Se utilizó el programa IGV (*Integrative Genomics Viewer*) para la visualización y exploración de las variantes y valorar la calidad del alineamiento. Esto permitió descartar del análisis los falsos positivos que resultaron de artefactos en la secuenciación, de errores en algunas regiones de homopolímeros, así como a artefactos minoritarios asociados a *strand-bias*, es decir, variantes sólo presentes en una de las direcciones de lectura (directa o reversa). La nomenclatura empleada para la identificación de las variantes se ajustó a la norma de la *Human Genome*

Variation Society (HGVS) (del inglés, Sociedad de Variación del Genoma Humano), empleando el programa informático Mutalyzer 2.0.26 HGVS Nomenclature Version 2.0 (<https://mutalyzer.nl>). En ella, se incluyó tanto el cambio en nucleótidos como en aminoácidos, así como la referencia del transcrito codificante de acuerdo con la base de datos RefSeq (NM_). Por otra parte, se empleó el programa informático DECoN (Radcliffe Department of Medicine, Universidad de Oxford) para el análisis de CNVs de los genes estudiados en el panel.

2. Categorización e interpretación de variantes

Se realizó una búsqueda exhaustiva en la literatura científica con el objetivo de identificar información detallada que ayudara en la selección de los criterios establecidos por la ACMG/AMP, como ocurrencias *de novo*, segregación y datos fenotípicos, así como datos sobre caracterización molecular, estudios funcionales y resultados de estudios caso-control. Para ello, se utilizaron herramientas como Mastermind y PubMed, bases de datos clínicas (ClinVar, HGMD), bases de datos poblacionales (gnomAD v2.1.1, v3.1.2 y v4.1.0) y otras plataformas de interpretación automática (Varsome, Franklin). Después de revisar esta información, se procedió a la aplicación de los criterios establecidos por la ACMG/AMP (**Tablas 6-8**), organizándolos en base a los diferentes niveles de evidencia. En la **Tabla suplementaria 2 del Anexo 3**, se reflejan las recomendaciones que se siguieron para especificar las reglas de la ACMG/AMP en pacientes con Síndromes de Predisposición a neoplasias hematológicas.

Validación de alteraciones genéticas

Para confirmar las variantes de un único o escasos nucleótidos probablemente patogénicas o patogénicas identificadas por NGS, se realizó una validación mediante la metodología de Sanger (*gold standard*). Los *primers* fueron diseñados empleando la herramienta Primer3. El DNA fue amplificado con el FastStar™ High Fidelity PCR System siguiendo el protocolo experimental preestablecido por el laboratorio. Las secuencias de DNA fueron evaluadas mediante el software Chromas Lite v2.1.1. El análisis de los datos se realizó mediante el uso de Standard Nucleotid Blast del NCBI (National Center for Biotechnology Information) para el alineamiento de las secuencias obtenidas.

Por su parte, cuando se encontraron CNV en el análisis de NGS, éstas fueron validadas mediante la técnica de MLPA (del inglés, *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) (*gold standard*) utilizando los kits correspondientes (MRC-Holland, Ámsterdam, Países Bajos) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La electroforesis capilar se realizó en el analizador genético ABI 3500 (Applied Biosystems) y los datos se analizaron utilizando el software Coffalyser (MRC-Holland). Cuando esta técnica no estuvo disponible, las CNV se confirmaron mediante arrays Affymetrix CytoScan HD (Affymetrix, Santa Clara, CA) de acuerdo con las directrices del fabricante. En este caso, las alteraciones en el número de copias se examinaron utilizando el software Chromosome Analysis Suite (ChAS), versión 4.2.0.80, proporcionado por Affymetrix.

4.2.4. Segunda visita: asesoramiento genético post-test y segregación familiar

Los pacientes en los que se obtuvo un resultado genético relevante fueron caracterizados de manera más exhaustiva, incluyendo las alteraciones somáticas del diagnóstico, los resultados de pruebas adicionales y el árbol familiar en caso de no haberlo recogido previamente. Además, recibieron un asesoramiento genético post-test y unas recomendaciones, incluyendo la

segregación familiar. La actitud que se siguió en función del tipo de variante detectada se resume en la **Tabla 12**.

- Cuando la variante patogénica o probablemente patogénica podía explicar la enfermedad que presentaba el paciente, se informó de los resultados obtenidos y se llevó a cabo el asesoramiento genético post-test. Durante el mismo, se explicó la magnitud del hallazgo y se ofreció, si existía, cualquier tipo de manejo adaptado, relacionado con el tratamiento o el seguimiento. Además, se realizó un asesoramiento reproductivo, indicando las probabilidades que existían de transmitir esta alteración genética a su descendencia, así como la probabilidad que tenían otros familiares de haberla heredado.
- Cuando se detectaron variantes heterocigotas en genes con herencia autosómica recesiva, se explicó la ausencia de efecto de éstas sobre la enfermedad del paciente.
- En cuanto a las variantes de significado clínico incierto, se informaron únicamente cuando existía la posibilidad de obtener evidencias adicionales que las reclasificaran como probablemente patogénicas, tal y como podría ocurrir con el estudio de segregación familiar u otros test complementarios. Sólo en estos casos, se informó al paciente de los resultados obtenidos y se ofreció continuar con el estudio con la finalidad de alcanzar un diagnóstico definitivo.

En cuanto al estudio de segregación familiar, se llevaron a cabo las siguientes recomendaciones:

- Cuando se identificó una variante patogénica o probablemente patogénica que podía explicar la enfermedad que presentaba el paciente, se recomendó el estudio de segregación en familiares de primer grado, sobre todo si se trataba de potenciales donantes de progenitores hematopoyéticos.
- Cuando se detectaron variantes heterocigotas en genes con herencia autosómica recesiva, no se llevó a cabo el estudio de segregación de estas variantes salvo que los familiares del paciente desearan conocer su estado de portador de cara a un asesoramiento reproductivo.
- En el caso de familiares menores de edad, el estudio de segregación se realizó sólo si existía riesgo de desarrollar cáncer durante la infancia y/o había medidas de seguimiento eficaces para prevenirlo.
- Como se ha mencionado previamente, en el caso de las variantes de significado clínico incierto, se llevó a cabo el estudio de segregación familiar siempre y cuando éste pudiera conllevar su reinterpretación y categorización como variante probablemente patogénica.

Por último, para facilitar una buena comprensión de los resultados obtenidos y una fácil comunicación con otros familiares, se aportó un informe escrito con los hallazgos encontrados y el significado de éstos.

Por su parte, los pacientes con un resultado genético negativo fueron informados al respecto, destacando la posibilidad de identificar hallazgos en el futuro a medida que avancen las tecnologías de diagnóstico.

Tabla 12. Actitud en función del tipo de variante detectada.

	¿Se incluyó la variante en el informe de laboratorio?	¿Se recomendó estudio de segregación a familiares?	Repercusión en el paciente
Patogénica	Sí	Sí (*tipo de herencia)	Manejo adaptado y asesoramiento reproductivo
Probablemente patogénica	Sí	Sí (*tipo de herencia)	Manejo adaptado y asesoramiento reproductivo
Significado clínico incierto	Sí/No (según sospecha)	Sí/No (según sospecha)	Se ampliaron estudios para reinterpretar la variante/Test genético irrelevante
Probablemente benigna	No	No	Test genético irrelevante
Benigna	No	No	Test genético irrelevante

*El tipo de herencia se tuvo en cuenta a la hora de reportar las variantes y su repercusión en el manejo de los pacientes.

4.2.5. Manejo y seguimiento de pacientes con una NHH y familiares portadores

- Los pacientes diagnosticados de neoplasia hematológica o insuficiencia medular continuaron su seguimiento en consultas externas de Oncohematología y Oncopediatría del Hospital La Fe o su centro de referencia. Además, en los casos en que se necesitó de un manejo multidisciplinar, fueron derivados a otras especialidades.
- A los familiares portadores asintomáticos del caso índice, se les ofreció un seguimiento anual con hemograma y frotis de sangre periférica, con el objetivo de ampliar estudios si fuera necesario. En cuanto a los familiares portadores con citopenias leves, se les recomendó un estudio medular basal, incluyendo análisis citogenético y molecular, y un seguimiento semestral con hemograma y frotis de sangre periférica.
- En los casos en que se propuso a familiares portadores como potenciales donantes de progenitores hematopoyéticos, se discutió de forma individualizada cada caso con la Unidad de Trasplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos del centro correspondiente.

En la **Tabla 13**, se resume la actitud que se tomó con pacientes y familiares portadores, y en la **Figura 11** se resume la estrategia que se siguió en la CGH/LGH para el despistaje y el manejo de NHHs.

Tabla 13. Estudio y seguimiento de individuos y familiares con una NHH.

	Pacientes con neoplasia hematológica o insuficiencia medular	
Repercusión en el manejo	Asesoramiento genético post-test Asesoramiento reproductivo Selección de donante de progenitores hematopoyéticos Derivación a otras especialidades	
Seguimiento	Hematología clínica según necesidades Aspirado/biopsia de médula ósea con citogenética y NGS según necesidades	
	Portadores sanos	Portadores con citopenias leves
General	Exploración Física Explicación de signos y síntomas de alarma Información sobre las limitaciones y beneficios del seguimiento	
Basal	Hemograma con frotis de sangre periférica	Hemograma Aspirado/biopsia de médula ósea con citogenética y NGS
Seguimiento	Hemograma anual con frotis de sangre periférica Si alteraciones en el hemograma: aspirado/biopsia de médula ósea con citogenética y NGS	Si citopenias leves y estables: hemograma semestral con frotis de sangre periférica Si empeoramiento de citopenias, estudio medular y derivación a Hematología clínica

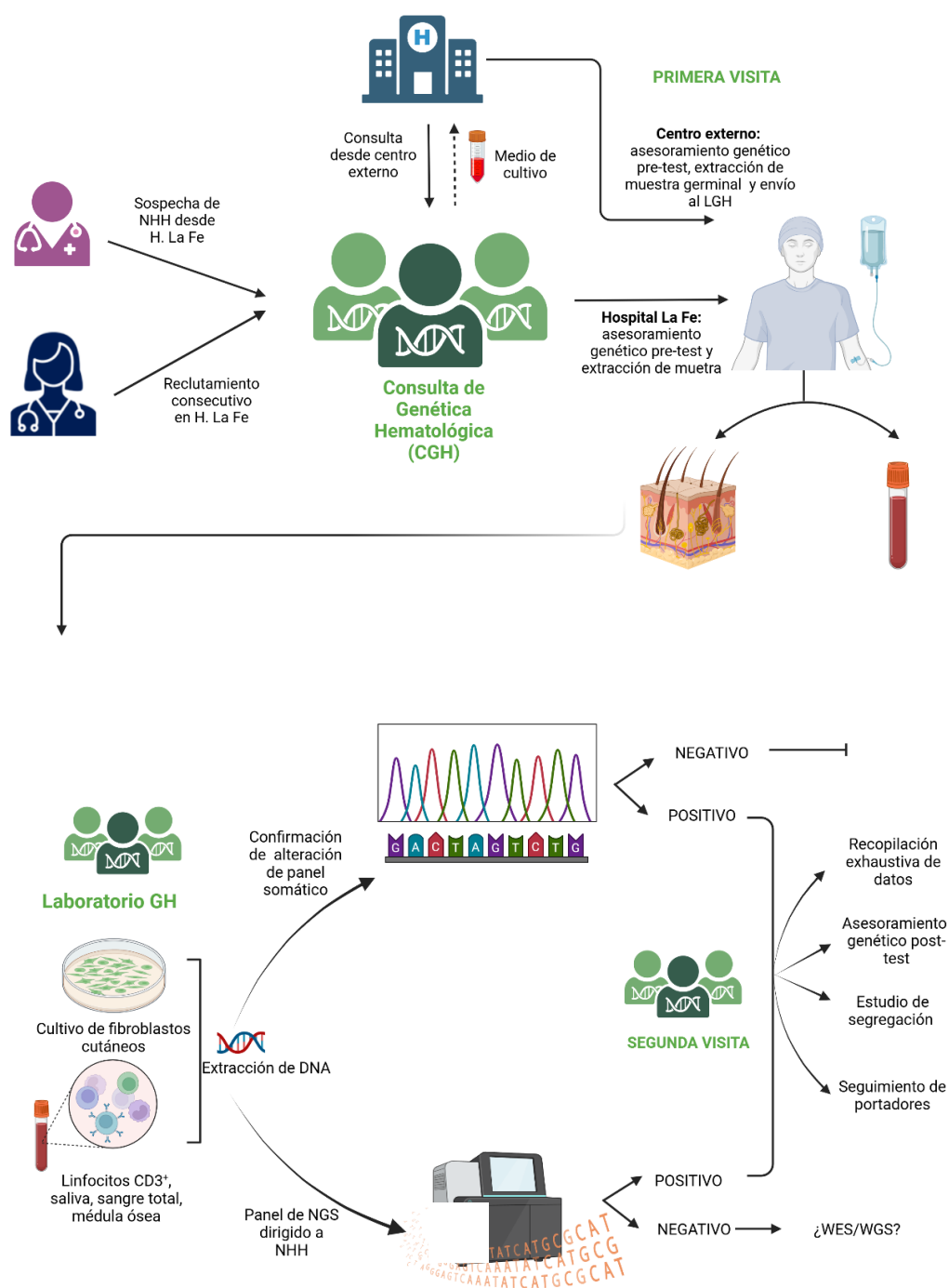


Figura 11. Resumen de la estrategia diagnóstica y clínica llevada a cabo por la Consulta/Laboratorio de Genética Hematológica durante este proyecto de Tesis Doctoral.

NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria. CGH: Consulta de Genética Hematológica; LGH: Laboratorio de Genética Hematológica; NGS: secuenciación de nueva generación (del inglés, *Next-Generation Sequencing*), WES: secuenciación del exoma completo (del inglés, *Whole Exome Sequencing*). WGS: secuenciación del genoma completo (del inglés, *Whole Genome Sequencing*).

4.3. DEFINICIONES Y HERRAMIENTAS

- **Sensibilidad:** se calcula mediante la fórmula matemática: verdaderos positivos/verdaderos positivos + falsos negativos.
- **Especificidad:** se calcula mediante la fórmula matemática: verdaderos negativos/verdaderos negativos + falsos positivos.
- **Valor predictivo positivo (VPP):** se calcula mediante la fórmula matemática: verdaderos positivos/verdaderos positivos + falsos positivos.
- **Valor predictivo negativo (VPN):** se calcula mediante la fórmula matemática: verdaderos negativos/verdaderos negativos + falsos negativos.
- **Single Nucleotide Polymorphism (SNP, del inglés Polimorfismo de un Único Nucleótido):** variante que difiere en un nucleótido respecto al genoma de referencia y que está presente en $\geq 1\%$ de la población (polimorfismo).
- **Single Nucleotide Variant (SNV, del inglés Variante de un Único Nucleótido):** variante genética que implica la sustitución de una única base en una secuencia de DNA específica, es decir, una variación que involucra a un solo nucleótido.
- **Copy Number Variant (CNV, del inglés Variación en el Número de Copias)** de un segmento de DNA. Las CNVs son comunes en el genoma humano y pueden tener consecuencias funcionales, como la alteración de la expresión génica, la regulación génica y la función de proteínas.
- **Variant allele frequency (VAF, del inglés Frecuencia Alélica de una Variante):** en secuenciación, hace referencia a la proporción de lecturas de la región de interés que contienen la secuencia alternativa (variante) respecto de las lecturas que contiene la secuencia de referencia.
- **Minor Allele Frequency (MAF, del inglés Frecuencia del Alelo Menor):** es una medida utilizada en Genética para describir la frecuencia con la que aparece el alelo menos común de un *locus* genético específico en una población determinada.
- **Cobertura:** se refiere al porcentaje del genoma o gen específico que ha sido leído o secuenciado durante el proceso de NGS.
- **Profundidad de lectura:** indica el número de veces que, de media, se lee/secuencia cada base.
- **Tipos de variantes:**
 - Variante *missense*: tipo de variante donde el cambio de un solo nucleótido dentro de la secuencia de DNA provoca la sustitución de un codón por otro que codifica un aminoácido diferente. Como resultado, la proteína producida puede tener una estructura y función alteradas, lo que podría afectar a su actividad biológica.
 - Variante *nonsense*: tipo de variante en la que el cambio de un solo nucleótido transforma un codón que normalmente codifica un aminoácido en un codón de terminación (*stop* codón). Esto provoca la finalización prematura de la traducción, resultando en una proteína truncada que, generalmente, es no funcional o tiene una funcionalidad reducida.
 - Variante *frameshift*: tipo de variante que genera un desplazamiento o cambio en el marco de lectura. Ocurre por la inserción o delección de un número de nucleótidos en la secuencia de DNA que no es múltiplo de tres. Esto altera el marco de lectura de los codones, cambiando la secuencia de aminoácidos desde el punto de la mutación en adelante. Las variantes *frameshift* suelen dar lugar a proteínas con secuencias anómalas y funcionalidad comprometida, a menudo con la aparición de un codón de terminación prematuro.

- Variante *in-frame*: tipo de variante que afecta a un número de nucleótidos que es múltiplo de tres. Este tipo de cambio no altera el marco de lectura de los codones, lo que significa que la secuencia de aminoácidos posterior a la mutación puede seguir siendo relativamente coherente. Sin embargo, la proteína resultante puede tener más o menos aminoácidos de lo normal, lo que podría afectar a su función, aunque generalmente no genera un codón de terminación prematuro.
- Variante sinónima: También conocida como variante silenciosa, es un cambio en un nucleótido que resulta en un codón que codifica el mismo aminoácido que el codón original. Aunque la secuencia de aminoácidos de la proteína no cambia, estas variantes pueden afectar otros aspectos de la expresión génica, como la estabilidad del mRNA, la eficiencia de la traducción o el *splicing* del RNA, lo que en ciertos contextos puede tener consecuencias biológicas.
- Variante de *splicing*: Este tipo de variante afecta al proceso de *splicing* del RNA mensajero (mRNA), un proceso post-transcripcional en el cual se eliminan los intrones (secuencias no codificantes) del pre-mRNA y se unen los exones (secuencias codificantes) para formar un mRNA maduro. Las variantes que afectan los sitios de *splicing* pueden llevar a la exclusión de exones, la inclusión de intrones o la creación de sitios de *splicing* alternativos, lo que puede resultar en una proteína alterada o no funcional.
- **Patrones de herencia**
 - Patrón de herencia autosómico dominante (AD): un solo alelo heredado es suficiente para manifestar un rasgo o enfermedad. Cada descendiente tiene un 50% de probabilidad de heredar el alelo dominante si uno de los padres está afectado. Los rasgos autosómicos dominantes tienden a aparecer en cada generación de una familia afectada y afectan tanto a hombres como a mujeres por igual.
 - Patrón de herencia autosómico recesivo (AR): ambos alelos deben ser heredados para que se manifieste un rasgo o enfermedad. Los individuos portadores tienen un solo alelo recesivo y, en principio, no presentan manifestación clínica. El riesgo de que un hijo herede la enfermedad es del 25% si ambos padres son portadores. Los rasgos autosómicos recesivos pueden saltar generaciones y afectan tanto a hombres como a mujeres por igual.
 - Patrón de herencia ligado a X: ocurre cuando los genes responsables de un rasgo específico se encuentran en el cromosoma X. Dado que los hombres tienen un solo cromosoma X (XY) y las mujeres tienen dos (XX), los rasgos ligados al cromosoma X tienden a mostrarse con mayor frecuencia en hombres que en mujeres. La herencia ligada al X puede ser, a su vez, dominante o recesiva.
- **Penetrancia**: Proporción de individuos con un genotipo específico que realmente muestran el fenotipo asociado con ese genotipo. Es un término que describe la probabilidad de que un gen o un conjunto de genes se exprese en el fenotipo de un individuo. La penetrancia puede ser completa (100%) cuando todos los individuos con un genotipo particular muestran el fenotipo correspondiente, o incompleta cuando sólo un porcentaje de los individuos con el genotipo presentan el fenotipo.
- **Expresividad**: Grado o intensidad con la que un fenotipo particular se manifiesta en los individuos que tienen un genotipo determinado. A diferencia de la penetrancia, que se enfoca en la presencia o ausencia de un fenotipo, la expresividad describe la variabilidad en la manifestación de ese fenotipo entre

diferentes individuos. La expresividad puede ser constante (cuando el fenotipo se manifiesta de la misma manera en todos los individuos) o variable (cuando el fenotipo se manifiesta de manera diferente en distintos individuos).

- **Principales bases de datos utilizadas para la categorización de variantes:**

- gnomAD (v2.1.1, v3.1.2 y v4.1.0): Base de datos genómicos de individuos sanos, recopilados de diversas poblaciones de todo el mundo (<https://gnomad.broadinstitute.org/>).
- Clinvar: Base de datos clínica acerca de la significancia y relaciones fenotípicas de las variaciones humanas (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>).
- HGMD: Base de datos de variantes genéticas publicadas para enfermedades humanas hereditarias (<https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).
- Mastermind: Base de datos genómica que permite la búsqueda exhaustiva de literatura biomédica relacionada con variantes genéticas (<https://mastermind.genomenon.com>).
- Pubmed: Base de datos que reúne referencias y resúmenes de literatura biomédica, principalmente de artículos de investigación en ciencias de la salud (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>).
- Mobidetails: Base de datos que recopila información sobre la estructura, función y variabilidad de regiones proteicas, así como sus implicaciones biológicas. Proporciona herramientas para explorar características de dominios móviles y su relación con enfermedades (<http://mobidetails.rub.de>).
- Base de datos propia: Base de datos interna de Alissa interpret que se utiliza para almacenar interpretaciones de variantes genéticas, facilitando así el acceso a estas anotaciones en futuros análisis.

- **Principales algoritmos *in silico* utilizados para la categorización de variantes:**

- REVEL: Herramienta que predice la patogenicidad de mutaciones *missense* integrando el score de MutPred, FATHMM v2.3, VEST 3.0, PolyPhen-2, SIFT, PROVEAN, MutationAssessor, MutationTaster, LRT, GERP++, SiPhy, phyloP y phastCons (<https://sites.google.com/site/revelgenomics/about>).
- SpliceAI: Herramienta que predice la probabilidad de que una variante genética afecte la función de un sitio de *splicing* del RNA (<https://github.com/Illumina/SpliceAI>).
- AutoPVS1: Herramienta diseñada para la clasificación automatizada de variantes genéticas según el criterio PVS1 del sistema ACMG, que evalúa la probabilidad de que una variante cause pérdida de función²⁶⁴ (<https://autopvs1.genetics.bgi.com>).

- **Otras plataformas de interpretación automática de variantes**

- Varsome: Plataforma integral para la interpretación de variantes genéticas, que proporciona información sobre su relevancia clínica, así como datos de múltiples fuentes, incluyendo literatura científica y bases de datos (<https://varsome.com>).
- Franklin: Plataforma de análisis genómico que integra datos de variantes genéticas y proporciona herramientas para la interpretación clínica. (<https://franklin.genoox.com>).

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La mayor parte del análisis estadístico de este proyecto de Tesis Doctoral consistió en un estudio descriptivo de la serie. Los resultados se expresaron como porcentajes en las variables categóricas y como medianas (extremos) para las variables continuas.

Para realizar la comparación entre variables cualitativas, se usó la prueba Chi-cuadrado de Pearson, salvo cuando el tamaño muestral era menor de 5, ya que entonces se aplicó el test exacto de Fisher. Para evaluar qué comparaciones concretas (dos a dos) eran realmente significativas, se planteó un análisis *post-hoc* mediante la corrección de Bonferroni.

Para el estudio de las variables continuas, se analizaron las diferencias entre los grupos empleando la prueba de U de Mann-Whitney para las variables que no seguían una distribución normal y la t de Student para las que sí presentaban esta distribución.

Para evaluar la relación entre distintas variables y la probabilidad de presentar una neoplasia hematológica hereditaria, se realizaron modelos de regresión logística. En la valoración del desempeño de los criterios de sospecha, se complementó el análisis con la curva AUC-ROC (AUC, del inglés, *area under the curve*; ROC, del inglés, *Receiver Operating Characteristic*), así como con la estimación de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Dado el reducido número de casos en la categoría menos representada, se exploraron diferentes modelos utilizando combinaciones de predictores por pares.

Para estudiar posibles agrupaciones entre los pacientes con o sin un síndrome de predisposición germinal y las alteraciones moleculares, se realizó un análisis de *clustering* jerarquizado no supervisado.

El estudio incluyó parámetros demográficos básicos (sexo y edad), parámetros hematológicos (valores de hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), recuento plaquetar y leucocitario, celularidad y displasia en médula ósea), parámetros relacionados con el propio proceso (tipo de neoplasia, tiempo de latencia), antecedentes onco-hematológicos personales y familiares, así como parámetros biológicos como cariotipo y perfil mutacional de los pacientes.

En todos los casos, el nivel de significación estadística se estableció con un valor de p inferior a 0,05. Todos los estudios estadísticos se realizaron con el software RStudio versión 4.2.2.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES A ESTUDIO

La cohorte global estudiada estuvo compuesta por 300 pacientes diagnosticados de una enfermedad hematológica, cuyas características demográficas y clínicas principales se detallan en la **Tabla 14**.

Tabla 14. Características demográficas y clínicas de los pacientes de la serie global.

Características demográficas y clínicas	Pacientes n= 300 (%)
Edad al debut (años: mediana, rango)	47 (0-80)
Sexo (masculino/femenino)	147/153
Procedencia	
Hospital La Fe	275 (92)
Centro externo	25 (8)
Sub-serie según el tipo de reclutamiento	
Serie dirigida	112 (37)
Serie consecutiva	188 (63)
Diagnóstico hematológico	
LMA	110 (37)
SMD	64 (21)
IM/citopenias	115 (38)
SMPC	1 (<1)
Linfoide	10 (3)
Muestra germinal	
Cultivo de fibroblastos cutáneos	145 (48)
Linfocitos T CD3 ⁺	30 (10)
Saliva/mucosa oral	1 (<1)
Sangre periférica/Médula ósea	124 (41)

LMA: Leucemia Mieloide Aguda; SMD: Síndrome Mielodisplásico; IM: Insuficiencia Medular; SMPC: Síndrome Mieloproliferativo Crónico.

Dado que la serie global fue dividida en 2 sub-series según el tipo de reclutamiento de pacientes, en la **Tabla 15**, se exponen las características demográficas y clínicas de cada uno de los subgrupos.

Tabla 15. Características demográficas y clínicas de la serie dirigida y la serie consecutiva.

Características demográficas y clínicas	Serie dirigida n=112 (%)	Serie consecutiva n=188 (%)
Edad al debut (años: mediana, rango)	10 (0-69)	55 (2-80)
Sexo (masculino/femenino)	51/61	96/92
Procedencia		
Hospital La Fe	87 (78)	188 (100)
Centro externo	25 (22)	0 (0)
Diagnóstico Hematológico		
LMA	3 (3)	107 (57)
SMD	5 (4)	59 (31)
IM/citopenias	93 (83)	22 (12)
SMPC	1 (1)	0 (0)
Linfoide	10 (9)	0 (0)
Muestra germinal		
Cultivo de fibroblastos cutáneos	15 (13)	130 (69)
Linfocitos T CD3 ⁺	1 (1)	29 (15)
Saliva/mucosa oral	0 (0)	1 (1)
Sangre periférica/médula ósea	96 (86)	28 (15)

LMA: Leucemia Mieloide Aguda; SMD: Síndrome Mielodisplásico; IM: Insuficiencia Medular; SMPC: Síndrome Mieloproliferativo Crónico.

5.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS DE ORIGEN GERMINAL

Como se ha mencionado previamente, se emplearon diferentes tipos de muestras germinales para el análisis genético de los pacientes. A continuación, se presentan los aspectos claves relacionados con las muestras, incluyendo la cantidad de DNA obtenida y la calidad de las muestras, evaluadas a través del grado de contaminación y otros factores relevantes.

La cantidad de DNA varió según el tipo de muestra utilizada. Los fibroblastos cutáneos fueron los que proporcionaron la mayor cantidad, con un promedio de 162 ng/μL, mientras que las muestras de linfocitos T CD3⁺ mostraron las cantidades más bajas, con un promedio de 18 ng/μL. Las muestras de sangre periférica o médula ósea, así como las de saliva o mucosa oral, también demostraron ser adecuadas, con un promedio de 134 ng/μL y 55 ng/μL, respectivamente.

En relación con la calidad de las muestras, evaluada principalmente en términos de contaminación y fallos en el procesamiento, se observó que en un 3% de los cultivos de fibroblastos cutáneos hubo contaminación con hongos en al menos uno de los frascos procesados. A pesar de ello, gracias al procesamiento por duplicado, la tasa de fallos fue baja,

afectando solo a 2 muestras (1%). En un caso, esta situación se debió a contaminación en ambos frascos, mientras que en otro se atribuyó a una falta de crecimiento celular por razones desconocidas. Por otro lado, las muestras de linfocitos T CD3⁺ presentaron una tasa de fallo del 28%, relacionada con dificultades en el aislamiento de linfocitos T viables, ya que el 40% de los pacientes mostró menos de 1000 linfocitos/mm³. Además, estas muestras tuvieron un promedio de pureza del 89%, lo que indicó una proporción de contaminación con células de estirpe mieloide. En cuanto a las muestras de sangre periférica y médula ósea, la tasa de fallo fue prácticamente nula. Sin embargo, en el 7% de los casos se observó contaminación potencial con DNA de células blásticas, lo que podría haber comprometido la interpretación genética. Finalmente, la muestra de saliva y mucosa oral, utilizada en un único paciente, no presentó incidencias.

Es importante señalar que no se observaron complicaciones hemorrágicas ni infecciosas en los pacientes a los que se les realizó una biopsia cutánea y que el promedio de días de cultivo fue de 22 (rango 19-28). Además, la eficiencia en la amplificación genética fue alta en las muestras de fibroblastos cutáneos, sangre periférica y saliva, con una tasa de éxito del 99%. Aunque las muestras de linfocitos T CD3⁺ también lograron buenos resultados, su menor consistencia en términos de cantidad y calidad del DNA pudo haber influido en la eficiencia del análisis en ciertos casos.

En la **Tabla 16**, se resumen los aspectos generales de las muestras germinales analizadas. La **Figura 12** ilustra la distribución de las muestras germinales utilizadas para el análisis genético tanto en la serie global como en las sub-series dirigida y consecutiva.

Tabla 16. Características de las muestras germinales analizadas.

Muestra germinal n= 300	Cantidad promedio de DNA (ng/μL)	Grado de contaminación	Tasa de fallos (%)	Comentarios adicionales
Fibroblastos cutáneos n= 145	162	Contaminación con hongos en el 3% de los casos	1	Tamaño del punch: 2 mm ² Tiempo promedio de cultivo: 22 días
Linfocitos T CD3 n= 30	18	Pureza promedio: 89%	28	Linfopenia habitual en pacientes hematológicos
Saliva/mucosa oral n= 1	55	0	<1	No valorable en pacientes con enfermedad clonal
Sangre/médula ósea n= 124	134	Potencial contaminación con células blásticas en el 7% de los casos analizados	<1	No valorable en pacientes con enfermedad clonal

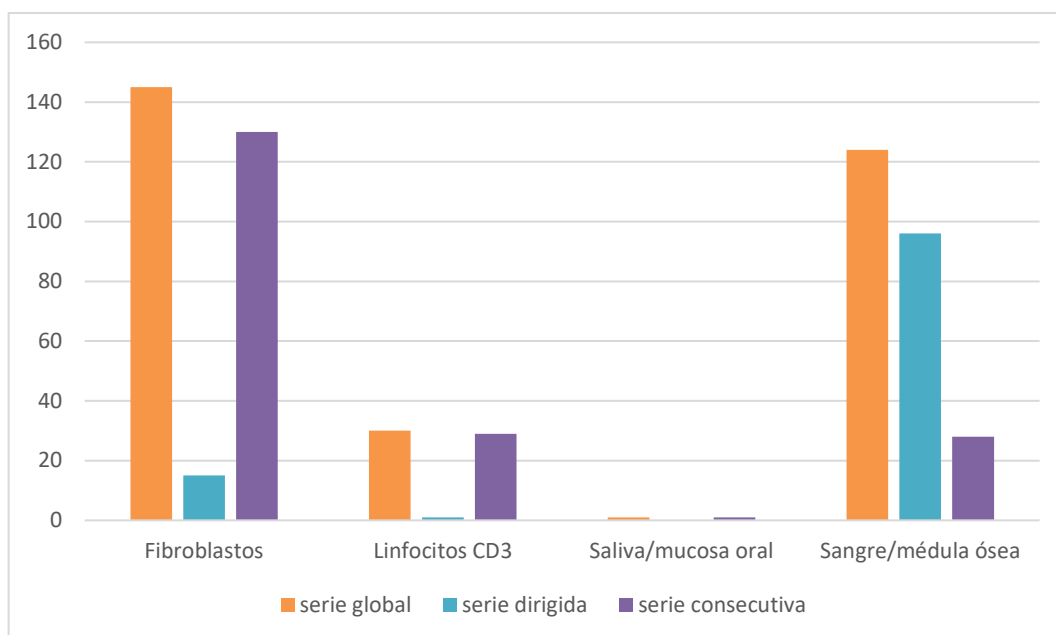


Figura 12. Distribución del tejido utilizado como muestra germinal

5.3. RENDIMIENTO TÉCNICO DEL PANEL DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS

El análisis del panel genético mostró un desempeño robusto en términos de cobertura y calidad de las lecturas. La cobertura media fue del 99% y la profundidad de lectura media superó los 200X, con un total de lecturas mapeadas por muestra superior a 2 millones.

Asimismo, entre los 110 genes incluidos en el panel, se observó que en 38 genes (34%) no se identificaron variantes deletéreas o de significado incierto en ninguno de los pacientes analizados. Estos genes fueron los siguientes: ABCB7, ACD, ATG2B, CEBPA, EPCAM, ETV6, FANCC, FANCG, FANCR (RAD51), FANCU (XRCC2), FANCV (MAD2L2), GATA1, HAX1, KIF23, KLF1, MECOM, NBN, NHP2, NOP10, PARN, PMS2, PPM1D, POT1, PUS1, RBM8A, RPL15, RPL26, RPL27, RPS7, RPS24, RPS29, TERC, TERF1, TERF2, TINF2, TSR2, USB1.

La repetitividad y reproducibilidad fueron del 100%, con un coeficiente de variación <20% en todas las réplicas (intra- e inter-ensayo). Además, la sensibilidad fue del 95% y la especificidad alcanzó el 90%.

5.4. ESPECTRO DE VARIANTES GENÉTICAS DE ORIGEN GERMINAL

5.4.1. Descripción de las variantes germinales detectadas en la serie global

Tras llevar a cabo el análisis en línea germinal en el total de pacientes de la serie (n= 300), se identificaron 190 variantes genéticas objeto de estudio, de las cuales 71 (37%) se clasificaron como deletéreas (probablemente patogénicas o patogénicas) y 119 (63%) de significado clínico incierto.

Las alteraciones deletéreas estuvieron presentes en 41 genes, de los cuales 24 (59%) tenían un patrón de herencia autosómico dominante (AD), 14 (34%) autosómico recesivo (AR) y 3 (7%) recesivo ligado al cromosoma X (X-recesivo) (**Figura 13, A**).

Las alteraciones de significado clínico incierto estuvieron representadas en 55 genes, cuyo patrón de herencia fue AD en 27 casos (49%), AR en 25 casos (45%) y X-recesivo en 3 casos (5%) (**Figura 13, B**). A su vez, las variantes inciertas se estratificaron en *hot* (n= 5, 4%), *warm* (n= 7, 6%), *tepid* (n= 17, 14%), *cool* (n= 18, 15%), *cold* (n= 51, 43%) y *ice cold* (n= 21, 18%) (**Figura 14**).

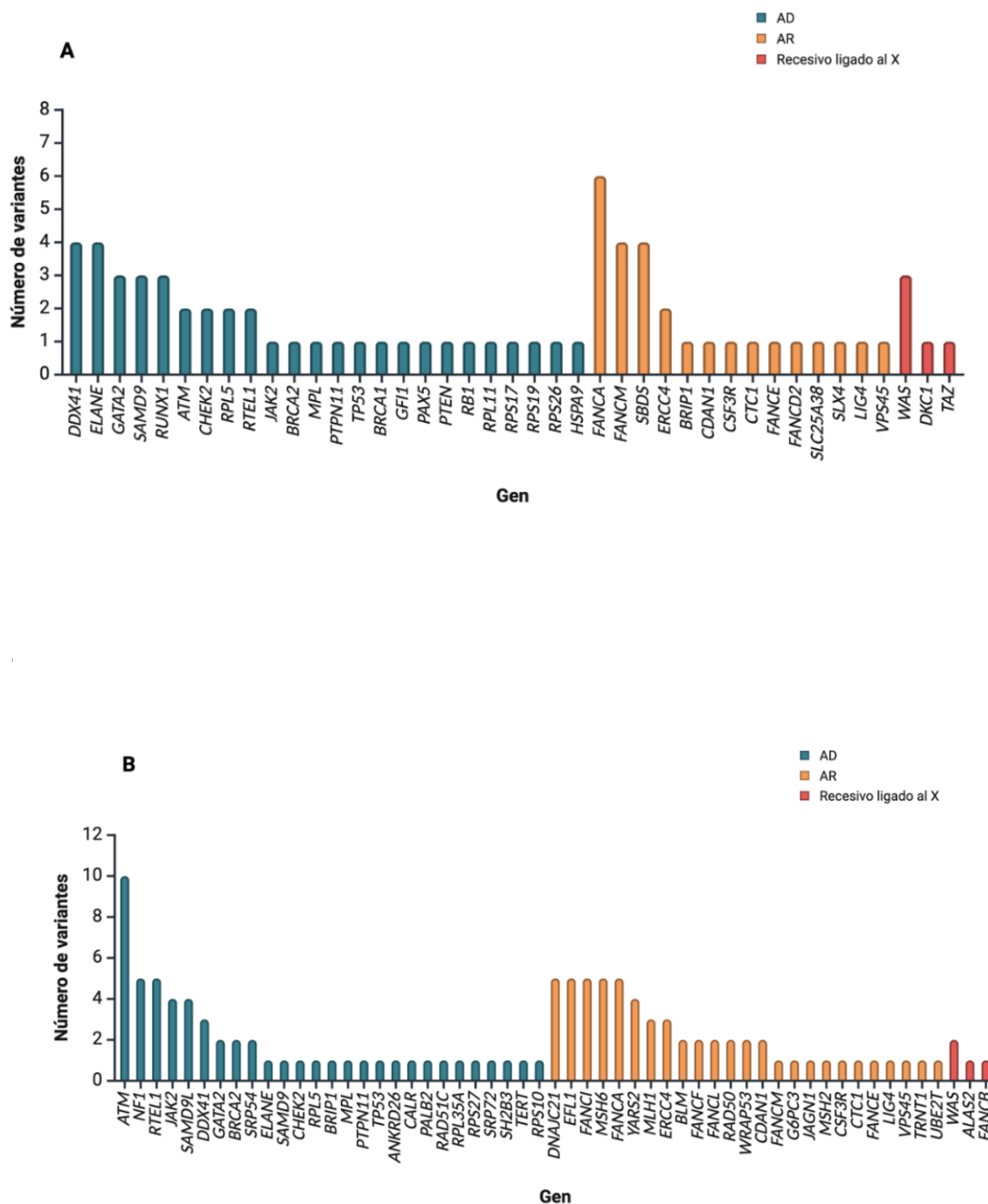


Figura 13. Distribución de genes con alteraciones deletéreas (**A**) y de significado clínico incierto (**B**) según el patrón de herencia.

AD: Autosómico Dominante; AR: Autosómico Recesivo.

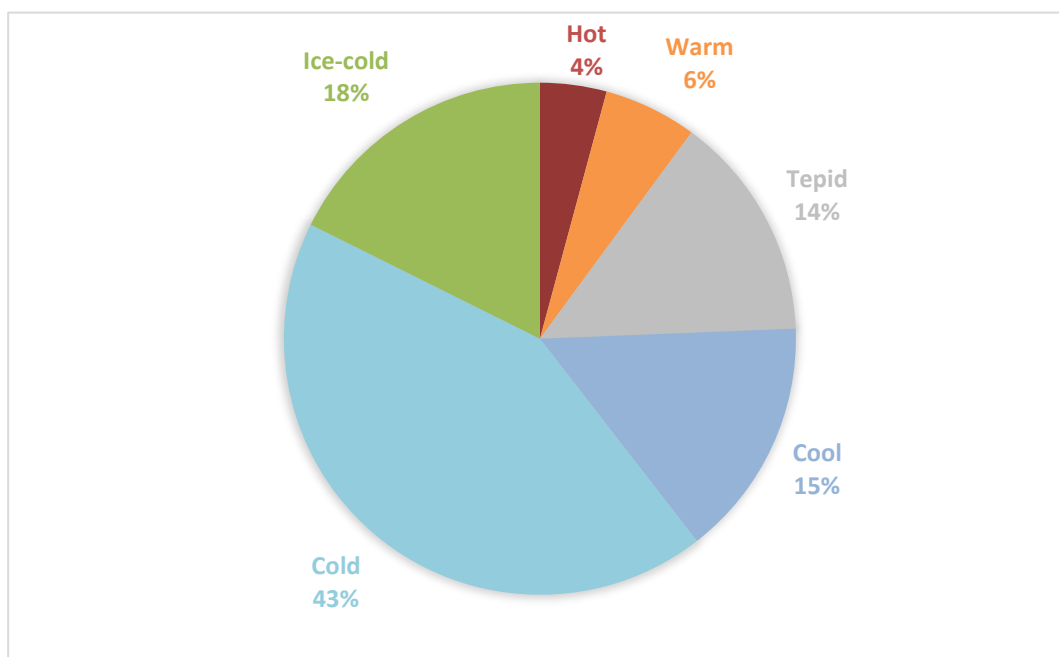


Figura 14. Estratificación de variantes de significado clínico incierto siguiendo las guías ACGS²³⁸.

En la **Tabla 17**, se describen cada una de las variantes encontradas en la serie global, indicando el gen, el modo de herencia, la alteración genética, la categorización y los criterios de la ACMG de cada una de ellas.

Tabla 17. Descripción de las alteraciones genéticas encontradas en la serie global.

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
<i>ALAS2</i> (NM_000032)	X-Recesivo	c.531T>A	p.Phe177Leu	VUS (cold)	PM2_supp
<i>ANKRD26</i> (NM_014915)	AD	c.-113A>C		VUS (cool)	PM1
<i>ATM</i> (NM_000051)	AD	c.2989G>A	p.Val997Ile	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.3431T>C	p.Leu1144Ser	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.4452_4462delGGATG TGTCAT	p.Met1484Ilefs*3	P	PVS1,PM2_supp, PM5_supp
		c.4916C>T	p.Pro1639Leu	VUS (cold)	PM2_supp
		c.6541G>A	p.Glu2181Lys	VUS (cool)	PM2_supp, PP3
		c.6610A>C	p.Lys2204Gln	VUS (cold)	PM2_supp
		c.7429G>A	p.Gly2477Arg	VUS (cold) (x2)	PM2_supp
		c.7456C>T	p.Arg2486*	P	PVS1,PM2_supp,PM5_supp
		c.8113G>A	p.Val2705Ile	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.8138G>A	p.Arg2713Lys	VUS (cold)	PM2_supp
		c.8560C>T	p.Arg2854Cys	VUS (cold)	PP3
<i>BLM</i> (NM_000057)	AR	c.2843C>T	p.Ala948Val	VUS (hot)	PM1,PM2_supp, PP3_mod
		c.3427G>A	p.Glu1143Lys	VUS (cool)	PM1
<i>BRCA1</i> (NM_007294)	AD	c.2527del	p.Thr843Glnfs*3	P	Patogénica conocida
<i>BRCA2</i> (NM_000059)	AD	c.383A>G	p.Asp128Gly	VUS (cold)	PM2_supp
		c.2981C>T	p.Ala994Val	VUS (cold)	PM2_supp

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.8961_8964delGAGT	p.Ser2988Phefs*12	P	Patogénica conocida
<i>BRIP1</i> (NM_032043)	AR	c.2210A>T	p.Glu737Val	VUS (cold)	PM2_supp
		c.2823_2824delAT	p.Ile94Metfs*9	LP	PVS1, PM2_supp
<i>CALR</i> (NM_004343)	AD	c.836A>G	p.Gln279Arg	VUS (cold)	PM1, BP4
<i>CDAN1</i> (NM_138477)	AR	c.278G>A	p.Ser93Asn	VUS (cool)	PM1,PM2_supp, BP4_supp
		c.2641A>G	p.Ile881Val	VUS (tepid)	PM1, PM2_supp
		c.2753delT	p.Leu918Cysfs*41	LP	PVS1, PM2_supp
<i>CHEK2</i> (NM_007194)	AD	c.349A>G	p.Arg117Gly	LP	PS3_mod,PS4_mod, PP3_strong
		c.591delA	p.Val198Phefs*7	P	PVS1, PS4, PM2_supp
		c.1421G>A	p.Arg474His	VUS (cool)	PP3_mod
<i>CSF3R</i> (NM_000760)	AR	c.1245delG	p.Thr416Profs*17	P	PVS1,PM2_supp, PM3_supp, PP4
		c.2257G>A	p.Gly753Arg	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
<i>CTC1</i> (NM_025099)	AR	c.248_251dupGCCA	p.His84Glnfs*8	VUS (hot)	PVS1
		c.2831delC	p.Pro944Leufs*7	P	PVS1, PS4, PM3
<i>DDX41</i> (NM_016222)	AD	c.27+1G>A		P	PVS1,PM2_supp, PP4_mod
		c.364G>T	p.Glu122*	P	PVS1, PS4, PM2_supp, PP4_strong
		c.536C>T	p.Pro179Leu	LP	PM2_supp,PM5,PP4_strong, BP4
		c.883G>A	p.Ala295Thr	VUS (cold)	PM2_supp, PP4, BP4

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.1015C>T	p.Arg339Cys	LP	PS4_mod,PM2_supp,PM5, PP4_strong
		c.1436G>A	p.Arg479Gln	VUS (cool)	PM2_supp + PP4
		c.1538T>C	p.Ile513Thr	VUS (tepid)	PP3_mod, PM2_supp
<i>DNAJC21</i> (NM_001012339)	AR	c.533G>A	p.Arg178His	VUS (cold)	PP3
		c.631C>T	p.Arg211Cys	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.632G>A	p.Arg211His	VUS (cold)	PM2_supp
		c.1368delA	p.Lys456Asnfs*10	VUS (warm)	PVS1_strong
		c.1615C>T	p.Arg539Trp	VUS (cold)	PM2_supp
<i>DKC1</i> (NM_001363)	X-Recesivo	c.1058C>T	p.Ala353Val	P	PS3, PS4, PM2_supp, PP2, PP3, PP4
<i>EFL1</i> (NM_024580)	AR	c.299C>T	p.Ser100Phe	VUS (tepid)	PM2_supp, PP3_mod
		c.310T>A	p.Ser104Thr	VUS (cold)	PM2_supp
		c.323G>A	p.Arg108His	VUS (tepid)	PM2_supp, PP3_mod
		c.496C>T	p.Leu166Phe	VUS (cool)	PM2_supp, PP3
		c.2641C>G	p.Pro881Ala	VUS (tepid)	PM2_supp, PP3_mod
<i>ELANE</i> (NM_001972)	AD	c.182C>A	p.Ala61Glu	VUS (tepid)	PM2_supp, PM5
		c.212G>A	p.Cys71Tyr	P	PS4, PM2_supp, PM5, PM6, PP3_supp, PP4
		c.275_289del	p.Arg92_Arg96del	LP	PM2_supp, PM4, PM6, PP4
		c.416C>T	p.Pro139Leu	P	PS4, PM2_supp, PM5, PM6, PP3_mod, PP4

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.561C>A	p.Cys187*	P	PVS1, PM2_supp, PM6, PP4
ERCC4 (NM_005236)	AR	c.22C>T	p.Arg8*	LP	PVS1, PM2_supp
		c.448C>T	p.Arg150Cys	VUS (hot)	PM1, PM2_supp, PP3_mod
		c.533T>C	p.Val178Ala	VUS (cold)	PM2_supp
		c.890A>G	p.Tyr297Cys	VUS (cold)	PM2_supp
		c.1484_1488delCTCAA	p.Thr495Asnfs*6	P	PVS1, PS4, PM3
FANCA (NM_000135)	AR	c.295C>T	p.Gln99*	P (x2)	PVS1,PS4,PM2_supp, PM3_supp, PP4
		c.511T>C	p.Trp171Arg	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.1594G>A	p.Glu532Lys	VUS (cold)	PM2_supp
		c.2507T>A	p.Phe836Tyr	VUS (cold)	PP3
		c.3373G>A	p.Ala1125Thr	VUS (cold)	PM2_supp
		c.3551G>C	p.Arg1184Pro	VUS (cold)	PP3
		c.3558dupG	p.Arg1187Glufs*28	P	PVS1, PM3, PM2_supp, PP4
		c.3788_3790delTCT	p.Phe1263del	P (x2)	PS3, PS4, PM4_supp, PP1
		Delección exón 21 y 22		P	PVS1, PM6, PP4
FANCB (NM_001018113)	X-Recesivo	c.1957G>A	p.Ala653Thr	VUS (cold)	PM1, PM2_supp, BP4_mod
FANCD2 (NM_001018115)	AR	c.2444G>A	p.Arg815Gln	P	PS4, PM3_strong, PP3, PP4
FANCE (NM_021922)	AR	c.1300C>T	p.Gln434*	LP	PVS1, PM2_supp
		c.1378C>T	p.Arg460Trp	VUS (ice cold)	PM1, BP4_mod
FANCF (NM_022725)	AR	c.370G>C	p.Ala124Pro	VUS (ice cold)	PM1, PM2_supp, BP4_strong

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.633G>T	p.Gln211His	VUS (ice cold)	PM1, BP4_mod
<i>FANCI</i> (NM_001113378)	AR	c.1510C>G	p.Gln504Glu	VUS (tepid)	PM1,PM2_supp
		c.1537A>G	p.Met513Val	VUS (cold)	PM1, PM2_supp, BP4_mod
		c.2393A>G	p.Asn798Ser	VUS (cold)	PM1, PM2_supp, BP4_mod
		c.2617A>G	p.Asn873Asp	VUS (cold)	PM1, PM2_supp, BP4_mod
		c.3473G>T	p.Cys1158Phe	VUS (warm)	PM1, PP3_mod
<i>FANCL</i> (NM_018062)	AR	c.104A>T	p.Asp35Val	VUS (cold)	PM2_supp
		c.1007_1008insGCTTAT	p.Gln335_Ile336insMet Leu	VUS (tepid)	PM2_supp, PM4
<i>FANCM</i> (NM_020937)	AR	c.5101C>T	p.Gln1701*	P (x2)	PVS1, PS3
		c.5135C>T	p.Ser1712Phe	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.5766_5769delGACT	p.Thr1923Profs*2	LP	PVS1, PM2_supp
		c.5791C>T	p.Arg1931*	P	PVS1, PS3
<i>G6PC3</i> (NM_138387)	AR	c.451T>C	p.Cys151Arg	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
<i>GATA2</i> (NM_032638)	AD	c.395G>A	p.Gly132Glu	VUS (tepid)	PM1, PM2_supp
		c.616G>T	p.Glu206*	P	PVS1, PM2_supp, PM6, PP4
		c.1045T>A	p.Cys349Ser	P	PM2_supp, PM5_strong, PM6, PP3_strong, PP4
		c.1117T>C	p.Cys373Arg	LP	PM2_supp,PM5,PP1, PP3_strong, PP4
		c.1415C>G	p.Pro472Arg	VUS (tepid)	PM1, PM2_supp

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
<i>GFI1</i> (NM_005263)	AD	c.1145A>G	p.Asn382Ser	P	PS3,PS4,PM2_supp, PP1_strong, PP4, BP4
<i>HSPA9</i> (NM_004134)	AD/ pseudoAR	c.632dupT	p.Ser212Ilefs*10	P	PVS1, PM2_supp, PM3
<i>JAGN1</i> (NM_032492)	AR	c.334A>G	p.Ile112Val	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
<i>JAK2</i> (NM_004972)	AD	c.886A>G	p.Ile296Val	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.1249G>A	p.Gly417Ser	VUS (cold)	PP3
		c.2429C>T	p.Thr810Ile	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.2696T>C	p.Ile899Thr	VUS (cool)	PP3_mod
		c.2984T>C	p.Phe995Ser	LP	PM2_supp, PP3_strong, PP4
<i>LIG4</i> (NM_206937)	AR	c.1271_1275delAAAGA	p.Lys424Argfs*20	P	PVS1_strong, PS3, PM3, PP1
		c.1913T>C	p.Ile638Thr	VUS (ice cold)	PM2_supp + BP4
<i>MLH1</i> (NM_000249)	AR	c.539T>G	p.Val180Gly	VUS (cool)	PP3_mod
		c.1013A>G	p.Asn338Ser	VUS (cold)	PP3
		c.1270G>A	p.Ala424Thr	VUS (cold)	PM2_supp
<i>MPL</i> (NM_005373)	AD	c.305G>C	p.Arg102Pro	LP	PS3_mod, PM5_strong
		c.430G>A	p.Gly144Arg	VUS (cold)	PM2_supp
<i>MSH2</i> (NM_000251)	AR	c.1159C>G	p.Leu387Val	VUS (warm)	PM1, PM2_supp, PP3
<i>MSH6</i> (NM_000179)	AR	c.682G>A	p.Glu228Lys	VUS (cold)	PM2_supp
		c.837C>A	p.Ser279Arg	VUS (cold)	PM2_supp

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.1820C>G	p.Thr607Arg	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.3260C>A	p.Pro1087His	VUS (cold)	PP3
		c.3425C>T	p.Thr1142Met	VUS (cool)	PM1
NF1 (NM_001042492)	AD	c.368C>G	p.Thr123Ser	VUS (warm)	PM1, PM2_supp, PP2
		c.2065G>A	p.Val689Met	VUS (cool)	PM1, PP2, BP4
		c.3374C>T	p.Ala1125Val	VUS (cold)	PM1, PP2, BP4_mod
		c.5380G>A	p.Val1794Ile	VUS (warm)	PM1, PM2_supp, PP2
		c.6535C>T	p.Arg2179Cys	VUS (cool)	PM1, PP2, BP4
PALB2 (NM_024675)	AD	c.1247T>C	p.Met416Thr	VUS (cold)	PM2_supp
PAX5 (NM_016734)	AD	c.101C>G	p.Pro34Arg	LP	PM2_supp, PM5_supp, PP3_strong
PTEN (NM_000314)	AD	c.278A>C	p.His93Pro	P	PS4_vs, PM1, PM2_supp, PP2, PP3_strong
PTPN11 (NM_002834)	AD	c.28A>G	p.Asn10Asp	VUS (warm)	PM1, PM2_supp, PP2
		c.923A>G	p.Asn308Ser	P	PS3, PS4, PM2_supp, PM5, PP2, PP3, PP4
RAD50 (NM_005732)	AR	c.34G>A	p.Val12Met	VUS (cold)	PM2_supp
		c.3758T>A	p.Ile1253Lys	VUS (cold)	PM2_supp
RAD51C (NM_058216)	AD	c.428A>G	p.Gln143Arg	VUS (cool)	PS3_supp, PP3
RB1 (NM_000321)	AD	c.1818T>G	p.Tyr606*	P	PVS1, PS4, PM2_supp, PP4
RPL5 (NM_000969)	AD	c.74-1G>A		P	PVS1, PS4, PM2_supp, PP4.

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.103C>T	p.Arg35Cys	VUS (cool)	PP3_mod
		c.228delC	p.Cys76Trpfs*13	P	PVS1, PM2_supp, PP4
<i>RPL11</i> (NM_000975)	AD	Delección de genes contiguos, afectando a la totalidad de <i>RPL11</i>		P	1 A, 2 A, 3 A
<i>RPL35A</i> (NM_001316311.1)	AD	c.26C>G	p.Ala9Gly	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
<i>RPS10</i> (NM_001014)	AD	c.239G>A	p.Arg80His	VUS (warm)	PM1, PM2_supp, PP3_mod
<i>RPS17</i> (NM_001021)	AD	Delección de genes contiguos, afectando a la totalidad de <i>RPS17</i>		P	1 A, 2 A, 3 A
<i>RPS19</i> (NM_001022)	AD	c.3G>T	p.Met1Ile	P	PVS1, PS1, PS4, PM2_supp, PP4
<i>RPS26</i> (NM_001029)	AD	c.3+1G>A		P	PVS1, PM2_supp, PM6, PP4
<i>RPS27</i> (NM_001030)	AD	c.89C>T	p.Ser30Phe	VUS (cold)	PM2_supp
<i>RTEL1</i> (NM_001283009)	AD/AR	c.350C>T	p.Ser117Leu	VUS (cold)	PP3
		c.392A>G	p.Tyr131Cys	VUS (cool)	PM2_supp, PP3
		c.421C>T	p.Arg141Trp	VUS (hot)	PM1, PM2_supp, PP3_mod
		c.658G>A	p.Asp220Asn	LP	PM1, PM2_supp, PM3, PP4
		c.2920C>T	p.Arg974*	P	PVS1, PS3, PS4, PM2_supp, PM3_supp, PP4
		c.3175G>C	p.Ala1059Pro	VUS (cold)	PM2_supp
		c.3659C>G	p.Pro1220Arg	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
<i>RUNX1</i> (NM_001754)	AD	c.319C>G	p.Arg107Gly	LP	PS4_supp, PM1, PM2_supp, PP3_mod

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
		c.597dupG	p.Pro200Alafs*13	P	PVS1, PS4_supp, PM1_supp, PM2_supp
		c.601C>T	p.Arg201*	P	PVS1, PS4, PM1, PM2_supp, PP1_strong
SAMD9 (NM_017654)	AD	c.661C>T	p.Arg221*	LP	PVS1_strong, PP4_mod
		c.1046_1047delCT	p.Ser349*	P	PVS1, PM2_supp, PP4
		c.1479C>G	p.Phe493Leu	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.4432A>G	p.Ile1478Val	LP	PM2_supp, PM5, PM6, PP4_strong, BP4_mod
SAMD9L (NM_152703)	AD	c.2069G>A	p.Gly690Asp	VUS (cool) (x2)	PP3_mod
		c.2089A>T	p.Asn697Tyr	VUS (cold)	PM2_supp
		c.3880A>T	p.Lys1294*	VUS (cold)	PM2_supp
SBDS (NM_016038)	AR	c.258+2T>C		P (x3)	PVS1, PS3, PS4, PP1, PP3
		Deleción del exón 2		LP	PVS1, PM2_supp, PP4
SH2B3 (NM_005475)	AD/AR	c.1665C>G	p.Tyr555*	VUS (tepid)	PVS1_mod, PM2_supp
SLC25A38 (NM_017875)	AR	c.324_325delCT	p.Tyr109Leufs*43	P	PVS1, PS4
SLX4 (NM_032444)	AR	c.4453C>T	p.Gln1485*	LP	PVS1 + PM2_supp
SRP54 (NM_003136)	AD	c.93G>T	p.Met31Ile	VUS (cold)	PM2_supp, PP2, BP4
		c.636A>G	p.Ile212Met	VUS (tepid)	PM2_supp, PP2, PP4
SRP72 (NM_006947)	AD	c.1916G>A	p.Ser639Asn	VUS (cold)	PM2_supp
TAZ (NM_000116)	X-Recesivo	c.110-2A>G		P	PVS1, PM2_supp, PP4

Gen (transcrito)	Modo de herencia	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Categorización	Criterios ACMG
<i>TERT</i> (NM_198253.2)	AD/AR	c.2228G>A	p.Arg743Gln	VUS (cold)	PM2_supp, PP2, BP4
<i>TP53</i> (NM_000546)	AD	c.844C>T	p.Arg282Trp	P	PS3, PS4_supp, PM5, PM6, PP3_mod
		c.845G>A	p.Arg282Gln	VUS (tepid)	PM1, PP3_supp
<i>TRNT1</i> (NM_182916)	AR	c.271_273delGAG	p.Glu91del	VUS (cool)	PM2_supp, PM4_supp
<i>UBE2T</i> (NM_014176)	AR	c.16C>T	p.Arg6Cys	VUS (cold)	PM2_supp
<i>VPS45</i> (NM_001279354)	AR	c.19G>A	p.Glu7Lys	VUS (tepid)	PM2_supp, PP3_mod
		c.674delC	p.Pro225Hisfs*3	LP	PVS1 + PM2_supp
<i>WAS</i> (NM_000377)	X-Recesivo	c.175_176delCCinsTT	p.Pro59Phe	VUS (cold)	PM2_supp
		c.217T>C	p.Cys73Arg (hemiz)	P	PS4, PM2_supp, PM5_strong, PP3_strong, PP4
		c.626G>A	p.Ser209Asn	VUS (cold)	PM2_supp
		c.881T>C	p.Ile294Thr	P (x2)	PS4, PS3, PM2_supp, PP3_mod, PP4
<i>WRAP53</i> (NM_001143992)	AR	c.935G>A	p.Cys312Tyr	VUS (tepid)	PM1, PM2_supp
		c.1049delG	p.Gly350Valfs*62	VUS (hot)	PVS1
<i>YARS2</i> (NM_001040436)	AR	c.296T>G	p.Phe99Cys	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.506C>T	p.Thr169Ile	VUS (ice cold)	PM2_supp, BP4
		c.666G>C	p.Gln222His	VUS (cold)	PM2_supp
		c.1240C>T	p.Arg414Cys	VUS (cold)	PM2_supp

ACMG: colegio americano de genética médica y genómica (del inglés, *American College of Medical Genetics and Genomics*); AD: Autosómico Dominante; AR: Autosómico Recesivo; VUS: variante de significado incierto (del inglés, *Variant of Uncertain Significance*); P: patogénica (del inglés, *Pathogenic*); LP: probablemente patogénica (del inglés, *Likely Pathogenic*).

5.4.2. Distribución de las variantes germinales en los pacientes de la serie global

A continuación, se describe la distribución de variantes genéticas de significado clínico incierto o carácter deletéreo (probablemente patogénicas o patogénicas) entre los 300 pacientes de nuestra serie. En 156 (52%) casos, no se detectó ninguna alteración de interés. En 76 (25%) pacientes, sólo se detectaron variantes de significado clínico incierto y en 68 (23%) pacientes se detectaron variantes deletéreas (17 de éstos asociaron, además, una variante incierta). Por su parte, los 68 pacientes con una variante deletérea se dividieron en 3 grupos: 46 pacientes presentaban alteraciones genéticas que se consideraron causantes de enfermedad, 4 pacientes presentaban variantes en heterocigosis en genes con un patrón de herencia AD, aunque con dudosa relación con su enfermedad de base, y 18 fueron portadores en heterocigosis de variantes con un patrón de herencia AR. Éstos suponían un 16%, 1% y 6% de la serie global, respectivamente. En la **Figura 15**, se esquematiza la distribución de pacientes según las alteraciones genéticas que presentaban.

Entre los 46 pacientes portadores de una alteración genética que se consideró causante de su enfermedad de base y que fueron, por tanto, diagnosticados de una NHH (16% de la serie global, representados en azul claro en la **Figura 14**), 34 (74%) tenían una alteración genética en heterocigosis con un patrón de herencia AD, 7 (15%) presentaban una alteración en homocigosis o heterocigosis compuesta en un gen con un patrón de herencia AR y 5 (11%) presentaban una alteración en un gen con un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X (4 varones en hemicigosis y una mujer en heterocigosis). Los genes causantes de una NHH en la serie global se representan en la **Figura 16**.

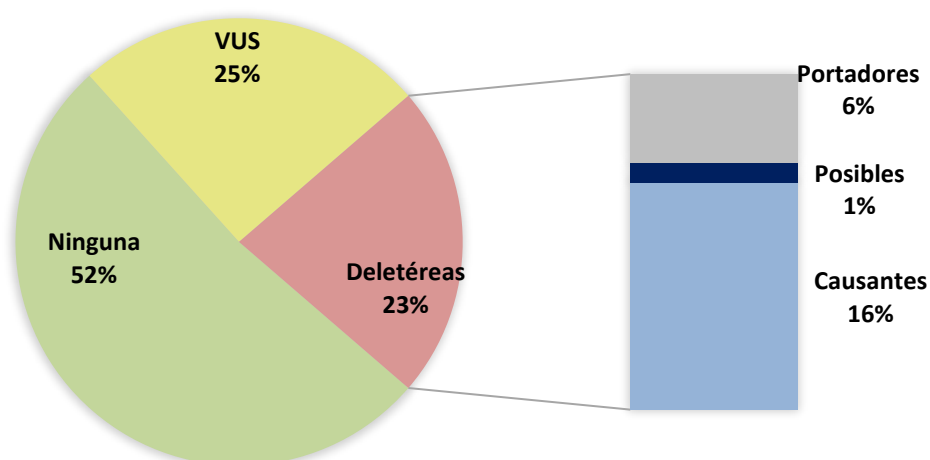


Figura 15. Distribución de variantes dentro de la serie global.

En verde, los pacientes que no presentaron ninguna alteración genética de interés. En amarillo, los que presentaron sólo variantes inciertas, y en rojo los que presentaron, al menos, una variante deletérea. Dentro de este grupo, se distinguen en gris los pacientes portadores asintomáticos, en azul oscuro los pacientes con una alteración con dudosa relación con su enfermedad de base, y en azul claro los pacientes con una NHH. VUS: variante de significado incierto (del inglés, *Variant of Uncertain Significance*).

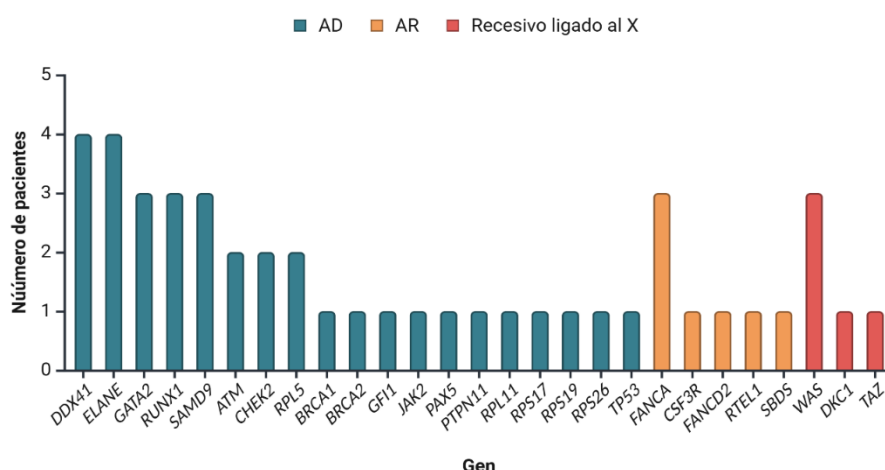


Figura 16. Genes causantes de una NHH en nuestra serie.

AD: Autosómico Dominante; AR: Autosómico Recesivo.

5.5. CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE GLOBAL

Como se ha explicado en el apartado anterior, 46 pacientes de la serie global (16%) fueron diagnosticados con una NHH. El resto de los pacientes ($n = 254$, 84%) fue diagnosticado con una enfermedad hematológica de origen esporádico.

El conjunto de NHHs ($n = 46$) detectadas en la serie global se representa en la **Figura 17**, y se compone de las siguientes entidades: Síndrome Mielodisplásico Familiar asociado a *DDX41* (*DDX41*, $n = 4$, 9%), Síndrome de Li Fraumeni (*TP53*, $n = 1$, 2%), Trastorno Plaquetar Familiar (*RUNX1*, $n = 3$, 7%), Síndrome de haploinsuficiencia de *GATA2* ($n = 3$, 7%), Neoplasia Hematológica Familiar asociada a *SAMD9* (*SAMD9*, $n = 3$, 7%), Anemia de Fanconi (*FANCA*/*FANCD2*, $n = 4$, 9%), Telomeropatía (*RTEL1*/*DKC1*, $n = 2$, 4%), Neutropenia Severa Congénita (*ELANE*/*CSF3R*/*GF11*/*TAZ*, $n = 7$, 15%), Síndrome de Wiscott-Aldrich (*WAS*, $n = 3$, 7%), Anemia de Blackfan-Diamond (*RPL5*/*RPL11*/*RPS17*/*RPS19*/*RPS26*, $n = 6$, 13%), Síndrome de Shwachman-Diamond (*SBDS*, $n = 1$, 2%), Síndrome de Noonan (*PTPN11*, $n = 1$, 2%), Síndrome de predisposición a cáncer (*ATM* heterocigoto, $n = 2$, 4%; *BRCA1*, $n = 1$, 2%; *BRCA2*, $n = 1$, 2%; *CHEK2*, $n = 2$, 4%), Leucemia Aguda Linfoblástica familiar asociada a *PAX5* (*PAX5*, $n = 1$, 2%) y Síndrome Mieloproliferativo Familiar asociado a *JAK2* (*JAK2*, $n = 1$, 2%). Cada uno de estos pacientes se describe de forma exhaustiva en el siguiente apartado de Resultados.

De forma pragmática, estas entidades se agruparon en categorías siguiendo las clasificaciones actuales^{55,56} (categorías 1-3). En base a las recomendaciones de la *ELN*⁵⁴, se incluyó una cuarta categoría (pan-cáncer) con el objetivo de representar a los pacientes con riesgo de desarrollar tanto cáncer sólido como hematológico. Las entidades no clasificadas en ninguna de las categorías anteriores fueron agrupadas en la categoría 5.

1. Categoría 1: síndrome de predisposición sin alteraciones plaquetares previas ni disfunción orgánica, presente en 5 pacientes (11% de las NHH de la serie global).
2. Categoría 2: síndrome de predisposición con alteraciones plaquetares previas, presente en 3 pacientes (7% de las NHH de la serie global).

3. Categoría 3: síndrome de predisposición con disfunción orgánica, presente en 30 pacientes (65% de las NHH de la serie global).
4. Categoría 4: síndrome de predisposición pan-cáncer, presente en 6 pacientes (13% de las NHH de la serie global).
5. Categoría 5: síndrome de predisposición a otras neoplasias hematológicas, presente en 2 pacientes (4% de las NHH de la serie global).

En cuanto al diagnóstico hematológico, 22 (48%) de los 46 pacientes con una NHH desarrollaron una neoplasia (14 casos de SMD, 6 de LMA, 1 de LLA y 1 de SMPC), mientras que los 24 pacientes restantes (52%) presentaron insuficiencia medular (IM).

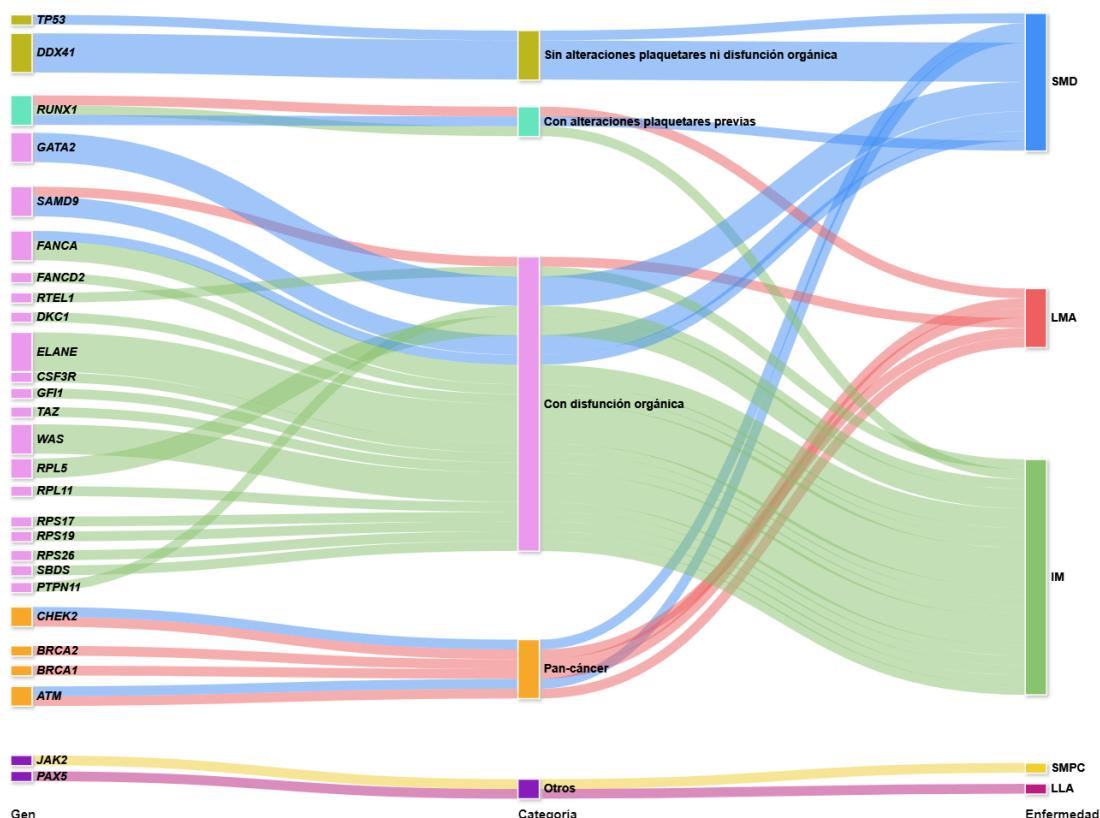


Figura 17. Conjunto de pacientes con una NHH en la serie global representados mediante un gráfico *Sankey plot*.

En la parte izquierda de la figura, se representa cada una de las entidades detectadas genéticamente definidas. En la parte central, se representa la categoría a la que pertenece cada entidad. El tamaño de las cajas situadas a la izquierda de cada epígrafe indica el número de pacientes representados. El color de las cajas indica la categoría en la que se agrupan los pacientes (categoría 1 en verde, categoría 2 en azul, categoría 3 en rosa, categoría 4 en naranja y categoría 5 en violeta). Por último, en la parte derecha de la figura, se representa la enfermedad hematológica que desarrolló cada uno de los pacientes. El grosor de cada línea varía en función del número de pacientes representados. El color de cada línea varía en función del diagnóstico hematológico (SMD en azul, LMA en rojo, IM en verde, SMPC en amarillo y LLA en fucsia). SMD: Síndrome Mielodisplásico; LMA: Leucemia Mieloide Aguda, IM: Insuficiencia Medular; SMPC: Síndrome Mieloproliferativo Crónico; LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda.

Como se observa en la **Figura 17**, 23 de los 30 (77%) pacientes de la categoría 3 desarrollaron insuficiencia medular, mientras que 15 de los 16 (94%) pacientes del resto de categorías presentaron neoplasias hematológicas. Ambas asociaciones fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Considerando la edad al debut y agrupando a los pacientes según las categorías previamente descritas, la mediana de edad para desarrollar la enfermedad hematológica fue de 53 años (rango: 3-73 años), 50 años (rango: 45-68 años), 7,5 años (rango: 0-59 años), 58,5 años (rango: 55-67 años) y 32 años (rango: 3-61 años) en las categorías 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente.

Si se agrupa a los pacientes por el diagnóstico hematológico que recibieron, los pacientes con una neoplasia mieloide desarrollaron la enfermedad a una mediana de edad de 55 años (rango: 3-73 años); mientras que los pacientes con IM fueron diagnosticados a una mediana de edad de 1,5 años (rango: 0-45 años). Por su parte, el único paciente con enfermedad de estirpe linfóide fue diagnosticado a los 3 años.

Se observa por tanto que la mayoría de los pacientes pertenecientes a la categoría 3 eran pediátricos o adultos jóvenes, mientras que las otras categorías estaban representadas principalmente por pacientes adultos. Por otro lado, los pacientes diagnosticados con neoplasias mieloides eran significativamente mayores que aquellos con insuficiencia medular ($p < 0,0001$). La **Figura 18** muestra la edad de los pacientes al momento del diagnóstico de su NHH en función del gen alterado.

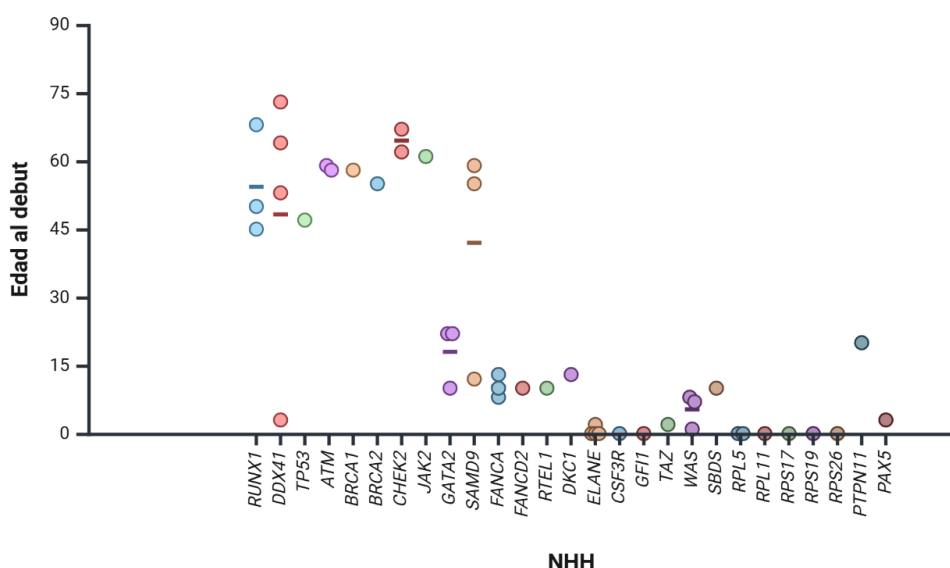


Figura 18. Edad de los pacientes con una NHH al debut de su enfermedad hematológica.

Cada círculo representa un paciente y cada raya la mediana de edad al debut en cada gen.

Posteriormente, se compararon la edad al debut, el nivel de hemoglobina, el volumen corpuscular medio (VCM), la cifra de plaquetas, la cifra de leucocitos, la celularidad y la displasia en médula ósea al diagnóstico de enfermedad mieloide (incluyendo LMA, SMD, SMPC) (**Tabla 18**) e insuficiencia medular (**Tabla 19**) de origen germinal respecto a origen esporádico. En las enfermedades de estirpe linfóide (incluyendo LLA y SLPC), sólo estaba disponible el dato de la edad. En la **Figura 19**, se representan gráficamente estos resultados.

Tabla 18. Comparación de parámetros al diagnóstico en enfermedad mieloide germinal vs. esporádica.

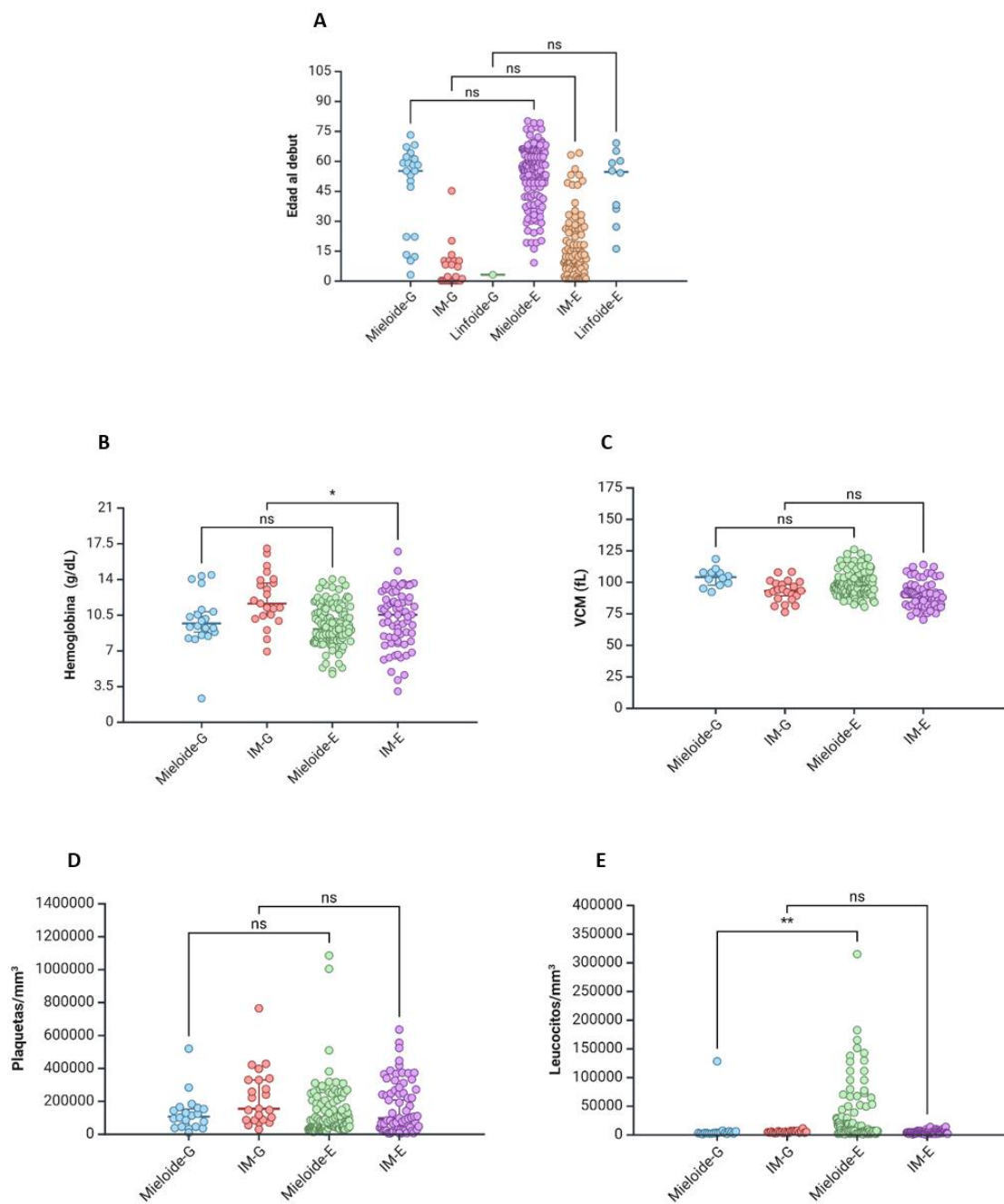
Variable (mediana, rango)		Mieloide-G (n = 21)	Mieloide-E (n = 154)	p valor
Edad al diagnóstico		55 (3-73)	57 (9-80)	1
Hemograma	Hemoglobina (g/dL)	9,6 (2,3-14,4)	9,1 (4,7-14)	1
	VCM (fL)	103,8 (92-118)	97,4 (80-126)	0,41
	Plaquetas/mm ³	104.500 (7.000-517.000)	80.500 (12.000-1.083.000)	1
	Leucocitos/mm ³	2.600 (570-127.500)	5.005 (500-314.000)	0,009
Médula ósea	Hipocel, n (%)	7 (32)	23 (15)	0,11
	Normocel, n (%)	2 (9)	26 (17)	
	Hipercel, n (%)	6 (27)	74 (48)	
	Displasia, n (%)	15 (68)	101 (66)	0,36

Mieloide-G: enfermedad Mieloide de origen Germinal; Mieloide E: enfermedad Mieloide de origen Esporádico; VCM: Volumen Corpuscular Medio; Hipocel: Hipocelularidad; Normocel: Normocelularidad; Hipercel: Hipercelularidad.

Tabla 19. Comparación de parámetros al diagnóstico en insuficiencia medular germinal vs. esporádica.

Variable (mediana, rango)		IM-G (n = 24)	IM-E (n = 91)	p valor
Edad al diagnóstico		1,5 (0-45)	12,5 (1-64)	0,4
Hemograma	Hemoglobina (g/dL)	11,6 (6,9-17)	10,5 (3-16,7)	0,02
	VCM (fL)	92,7 (76-108)	87,7 (70-113,7)	1
	Plaquetas/mm ³	152.000 (27.000-762.000)	93.500 (3.000-633.000)	0,08
	Leucocitos/mm ³	4.300 (2.110-10.600)	3.800 (370-13.100)	1
Médula ósea	Hipocel, n (%)	7 (29)	36 (40)	0,10
	Normocel, n (%)	9 (37)	19 (21)	
	Hipercel, n (%)	0 (0)	0 (0)	
	Displasia, n (%)	2 (8)	10 (11)	1

IM-G: Insuficiencia Medular de origen Germinal; IM-E: Insuficiencia Medular de origen Esporádico; VCM: Volumen Corpuscular Medio; Hipocel: Hipocelularidad; Normocel: Normocelularidad; Hipercel: Hiper celularidad.



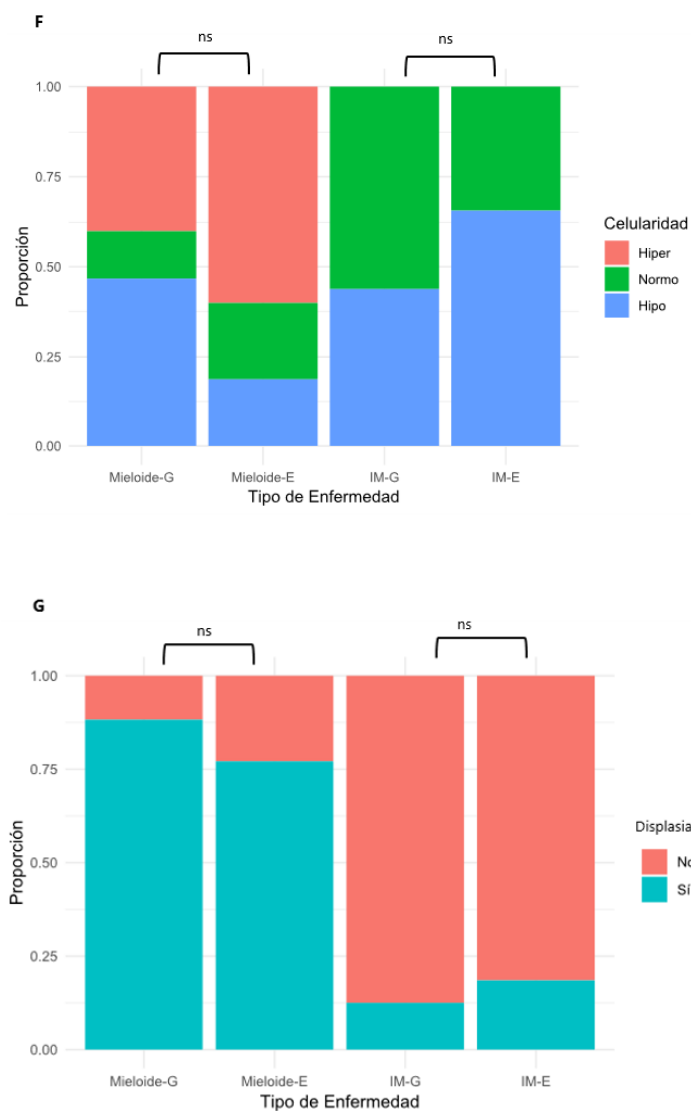


Figura 19. Comparación de parámetros entre pacientes con enfermedad germinal (G) vs. enfermedad esporádica (E). A) Edad al diagnóstico; B) Hemoglobina; C) VCM; D) Plaquetas; E) Leucocitos; F) Celularidad; G) Displasia.

Ns: no significativo; IM: Insuficiencia Medular; Hiper: Hiper celular, Normo: Normocelular; Hipo: Hipocelular.

Como se muestra, los pacientes con enfermedad mieloide de origen germinal presentaron un recuento de leucocitos significativamente menor al diagnóstico en comparación con los pacientes con enfermedad mieloide esporádica ($p = 0,02$). A su vez, los pacientes con insuficiencia medular de origen esporádico presentaron niveles de hemoglobina más bajos que los pacientes con insuficiencia medular de origen germinal ($p = 0,009$). Las demás comparaciones no arrojaron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se observó un patrón distintivo en la distribución por edad: los casos de enfermedad mieloide de origen germinal mostraron una distribución bimodal, mientras que los de origen esporádico afectaron predominantemente a adultos. En cuanto a la insuficiencia medular de origen germinal se observó mayormente en niños y adultos jóvenes. Las demás formas de la enfermedad se distribuyeron de manera uniforme en todas las edades.

5.5.1. Descripción clínica y familiar de los pacientes con una NHH.

A continuación, se describen los 46 pacientes diagnosticados de una NHH en la serie global, estableciendo las 5 categorías previamente mencionadas según el gen afectado. Cada tipo de cáncer está representado con un color distintivo en el conjunto de pedigrís. Las palabras “cáncer” y “años” se indican con las abreviaturas “ca” y “a”, respectivamente. En la **Tabla 20**, se muestra una leyenda con la relación de colores con los que se representa cada tipo de cáncer. En las **Tablas suplementarias 5-7 del Anexo 7**, se resumen las principales características clínicas y analíticas asociadas a estos pacientes.

Tabla 20. Relación de colores en función del tipo de cáncer representado.

Color	Tipo de cáncer
	ano
	cáncer no especificado
	cerebro
	citopenias/citosis sin filiar
	colon
	endometrio
	esófago
	estómago
	faringe
	hígado
	laringe
	leiomioma
	leucemia/síndrome mielodisplásico/insuficiencia medular
	mama
	mieloma múltiple
	osteosarcoma
	ovario
	páncreas
	piel
	próstata
	pulmón
	riñón
	testículo
	vejiga

Categoría 1: Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal sin alteraciones plaquetarias previas o disfunción orgánica

Síndrome de predisposición germinal con alteración en *DDX41*

Caso 1

Caso índice: Varón de 73 años con SMD (tipo: EB-1).

Antecedentes personales: papiloma vesical con 54 años y carcinomas basocelulares de repetición.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,3g/dL, VCM 107,5fL, leucocitos 1.640/mm³, plaquetas 43.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos, 7% blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: *DDX41* (p.Pro379Gln), *ASXL1*, *NRAS*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

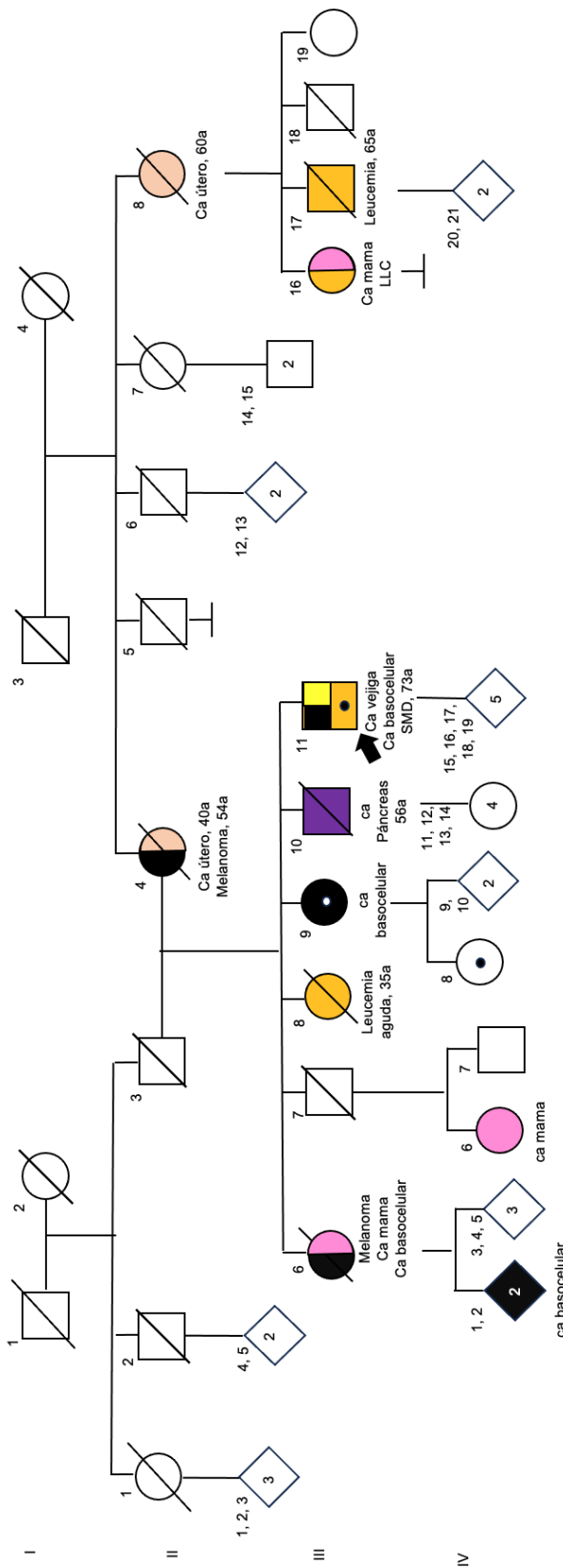
Resultado: *DDX41* (NM_016222): c.27+1G>A (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos III.9 y IV.8 son portadores de la variante.
- Los individuos III.6, III.16, IV.6, IV.7, IV.14, IV.18 y IV.19 no son portadores de la variante.

Evolución: El SMD permanece estable, en seguimiento por Hematología.

Seguimiento de familiares: los individuos III.9 y IV.8 acuden a la CGH para control de hemograma de forma anual, sin alteraciones analíticas hasta el momento.



SMD: Síndrome Mielodisplásico; LLC: Leucemia Linfática Crónica

Caso 2

Caso índice: Mujer de 64 años con SMD (tipo: EB-2).

Antecedentes personales: No.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,4g/dL, VCM 102,2fL, leucocitos 570/mm³, plaquetas 92.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos, 14% blastos.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: *DDX41* (p.Glu345Asp).

Árbol familiar: ver pedigrí.

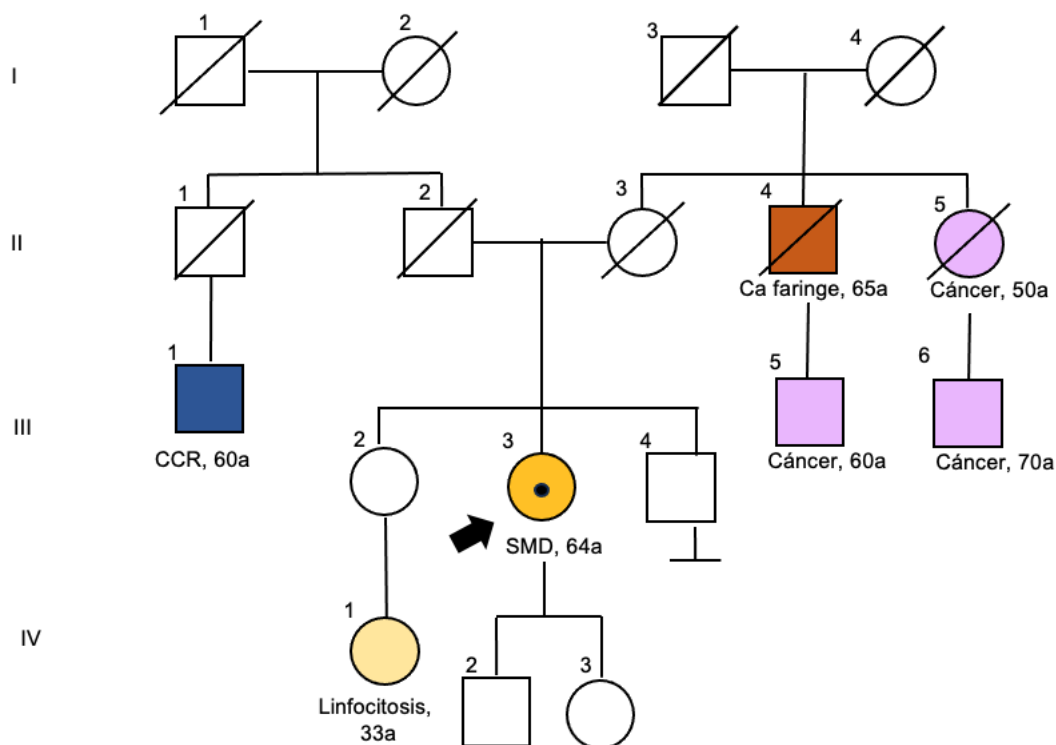
Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: *DDX41* (NM_016222): c.1015C>T; p.Arg339Cys (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo III.4 no es portador de la variante.

Evolución: la paciente ha sido trasplantada de su hermano (no portador), encontrándose actualmente en respuesta completa.



SMD: Síndrome Mielodisplásico; CCR: Cáncer Colo-Rectal

Caso 3

Caso índice: Varón de 53 años con SMD (tipo: EB-1).

Antecedentes personales: No.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 10,3g/dL, VCM 110,4fL, leucocitos 2.600/mm³, plaquetas 141.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos, 6% blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: *DDX41* (p.Arg471Pro), *SRSF2*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

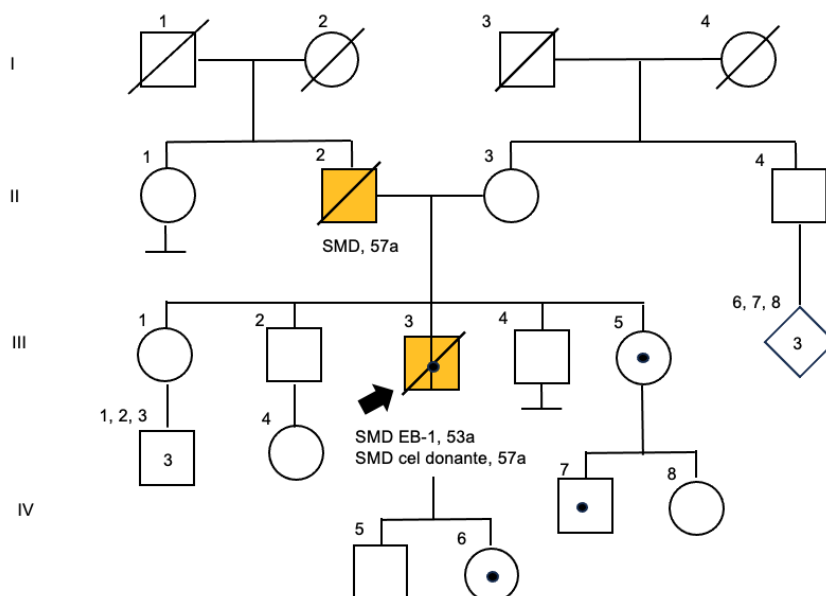
Resultado: *DDX41* (NM_016222): c.536C>T; p.Pro179Leu (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos III.5, IV.6 y IV.7 son portadores de la variante.
- El individuo IV.8 no es portador de la variante.

Evolución: El paciente fue trasplantado de su hermana HLA-idéntica (portadora III.5). Tras dos años de respuesta, desarrolló un SMD en células del donante, que progresó a LMA en células del donante y causó su fallecimiento.

Seguimiento de familiares: los individuos III.5, IV.6 y IV.7 están en seguimiento con hemograma anual, sin alteraciones analíticas hasta el momento.



SMD: Síndrome Mielodisplásico; SMD EB-1: Síndrome Mielodisplásico con Exceso de Blastos tipo 1; SMD cel donante: Síndrome Mielodisplásico en células del donante

Caso 4

Caso índice: Niño de 3 años con SMD (tipo: citopenia refractaria).

Antecedentes personales: neutropenia desde el primer año de vida (cifra más baja: 520 PMN/mm³); infecciones de repetición (algunas de gravedad que requirieron ingreso en UCI); a los 2 años de vida, retraso del lenguaje y rasgos de trastorno del espectro autista.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 13,6g/dL, VCM 107,1fL, leucocitos 2.740/mm³, plaquetas 157.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos. No incremento de blastos.
- Cariotipo: 45,XY,-7[6].
- Molecular somática: no.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

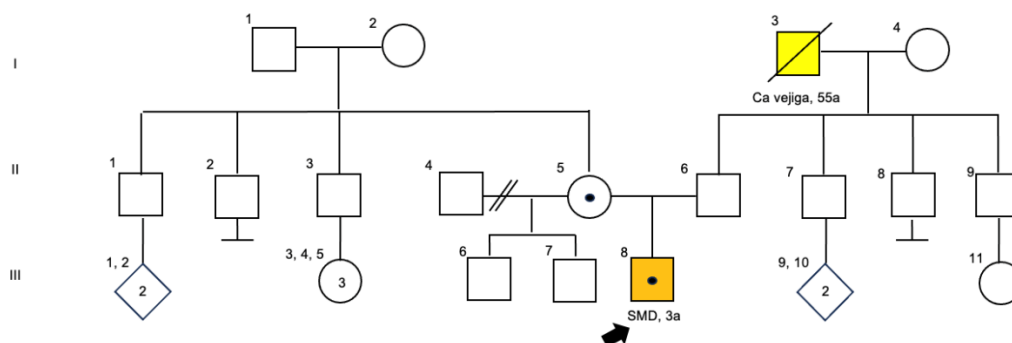
Resultado: *DDX41* (NM_016222): c.364G>T; p.Glu122* (heterocigosis)

Segregación familiar:

- El individuo II.5 es portador de la variante.

Evolución: el paciente ha sido trasplantado de donante no emparentado, encontrándose actualmente en respuesta completa.

Seguimiento de familiares: el individuo II.5 está en seguimiento con hemograma anual, sin alteraciones analíticas hasta el momento.



SMD: Síndrome Mielodisplásico

Síndrome de Li Fraumeni**Caso 5**

Caso índice: Varón de 47 años con SMD-t (tipo: EB-1, secundario a terapia).

Antecedentes personales: osteosarcoma maxilar (29 años), adenocarcinoma de próstata (45 años), leiomiomas maxilar (46 años), extirpación de múltiples carcinomas basocelulares.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 10,5g/dL, VCM ND, leucocitos 2.160/mm³, plaquetas 162.000/mm³
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos y 8% blastos.
- Cariotipo: complejo (fórmula ND).
- Molecular somática: no.

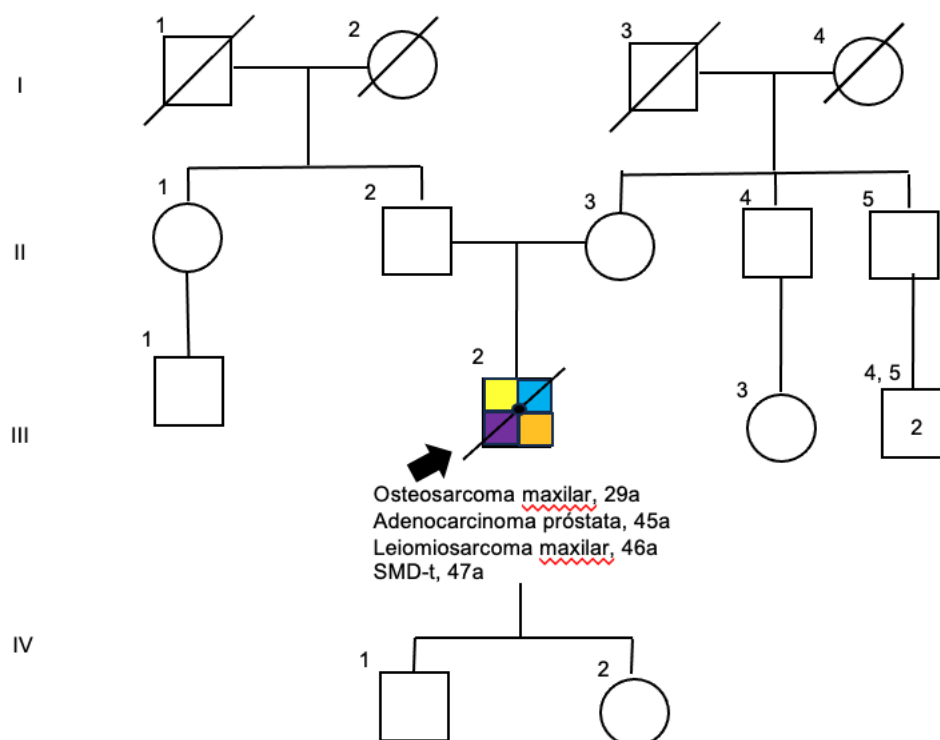
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: TP53 (NM_000546): c.844C>T; p.Arg282Trp (heterocigosis)

Segregación familiar: la familia no ha querido llevar a cabo el estudio de segregación familiar.

Evolución: el paciente progresó a LMA (tipo: relacionada con la mielodisplasia) y falleció unos meses después del diagnóstico.



SMD-t: Síndrome Mielodisplásico relacionado con la terapia.

Categoría 2: Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y alteraciones plaquetarias previas

Trastorno plaquetar familiar asociado a neoplasia mieloide

Caso 6

Caso índice: Mujer de 50 años con LMA (tipo: con cambios relacionados con la mielodisplasia).

Antecedentes personales: no.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 8,2g/dL, VCM 94,8fL, leucocitos 2.430/mm³, plaquetas 35.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos y 23% blastos.
- Cariotipo: 46,XX,del(5)(q13q31)[2]/46,XX[18].
- Molecular somática: *NF1*, *PHF6*, *RUNX1*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

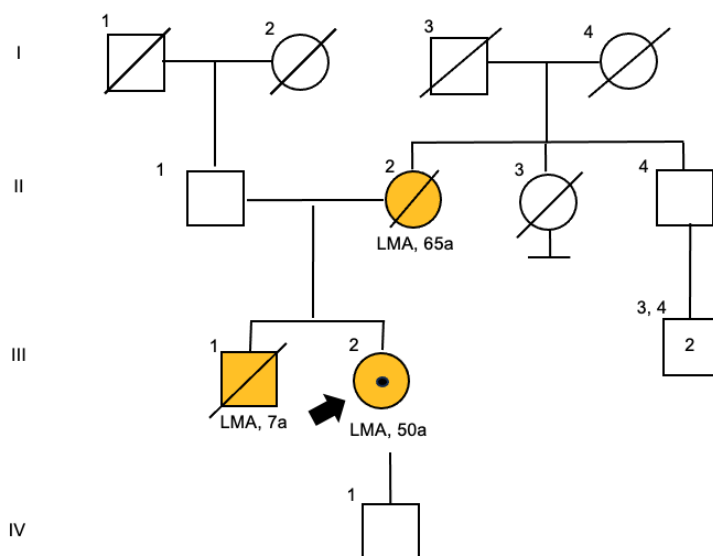
Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: *RUNX1* (NM_001754): c.319C>G; p.Arg107Gly (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo IV.1 no es portador de la variante.
- Los individuos II.2 y III.1 fallecieron antes de realizarse el estudio genético y no había muestra disponible para confirmar la variante.
- La paciente no quiso extender el estudio a otros miembros de la familia.

Evolución: la paciente ha sido trasplantada de su hijo (no portador), encontrándose actualmente en respuesta completa.



LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda

Caso 7

Caso índice: Varón de 68 años con SMD (tipo: EB-1).

Antecedentes personales: Trombocitopenia leve desde los 60 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 8,8g/dL, VCM ND, leucocitos 1.740/mm³, plaquetas 33.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos, 9% blastos.
- Cariotipo: 47,XY,+21[15]/46,XY[5].
- Molecular somática: *ZRSR2*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

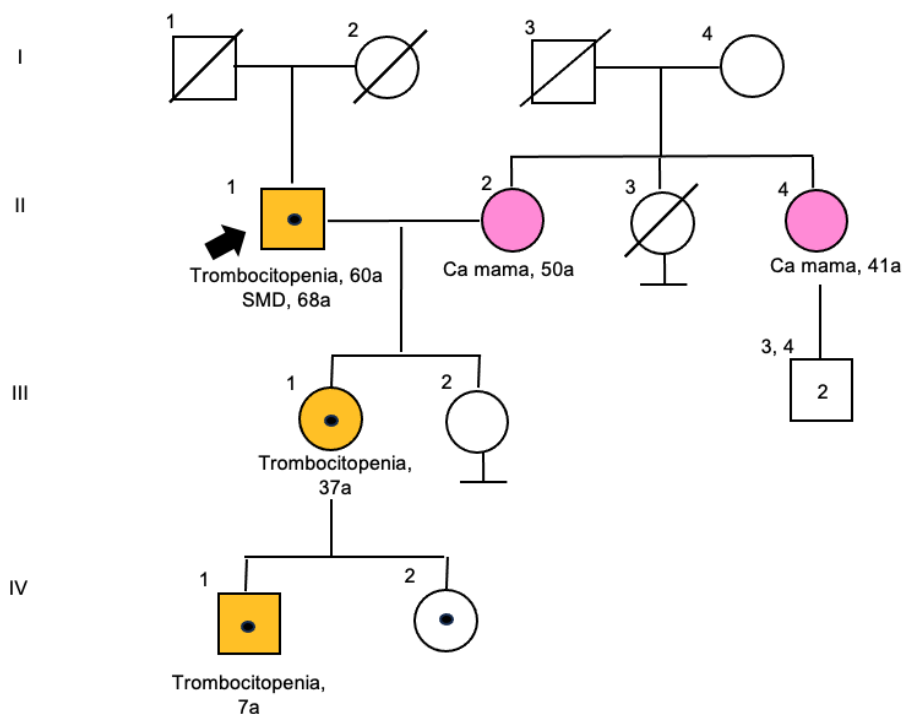
Resultado: *RUNX1* (NM_001754): c.601C>T; p.Arg201* (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos III.1, IV.1 y IV.2 son portadores de la variante.
- El individuo III.2 no es portador de la variante.

Evolución: el paciente ha sido trasplantado de su hija no portadora, encontrándose actualmente en respuesta completa.

Seguimiento de familiares: paciente III.1 en seguimiento de su trombocitopenia de forma anual. Los pacientes IV.1 y IV.2 continúan seguimiento en Pediatría en su centro de referencia.



SMD: Síndrome Mielodisplásico

Caso 8

Caso índice: Mujer de 69 años con trombocitopenia moderada.

Antecedentes personales: Trombocitopenia moderada desde los 45 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 11,1g/dL, VCM ND, leucocitos 6.500/mm³, plaquetas 69.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

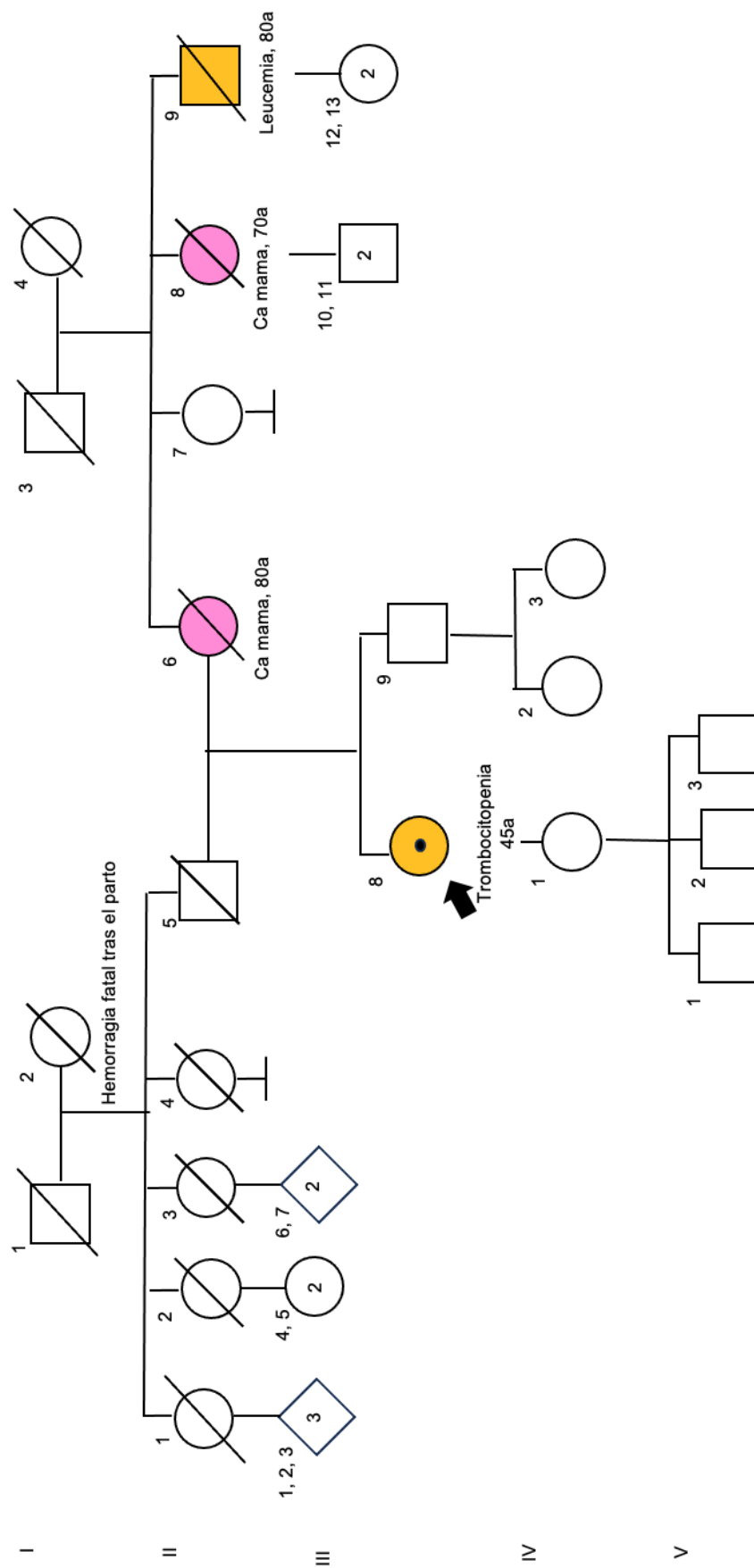
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *RUNX1* (NM_001754): c.597dupG; p.Pro200Alafs*13 (heterocigosis).

Segregación familiar: los familiares de la paciente no desean realizarse el estudio genético.

Evolución: la paciente ha sido tratada de forma crónica como una púrpura trombocitopénica idiopática, incluso tras conocer el resultado genético. Actualmente, se encuentra en tratamiento con agonistas de la trombopoyetina en el servicio de Hematología de su centro de referencia.



Categoría 3: Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y potencial disfunción orgánica

Síndrome de haploinsuficiencia de GATA2

Caso 9

Caso índice: Mujer de 22 años con SMD (tipo: EB-1).

Antecedentes personales: bicitopenia (anemia y leucopenia) desde los 19 años, infección por VPH con 19 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,1g/dL, VCM 66,6 fL, leucocitos 1.840/mm³ (linfopenia 840/mm³ y monocitopenia 40/mm³), plaquetas 98.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos y 7% blastos.
- Cariotipo: ND (FISH: 7q-, +8).
- Molecular somática: no.

Árbol familiar: ver pedigrí.

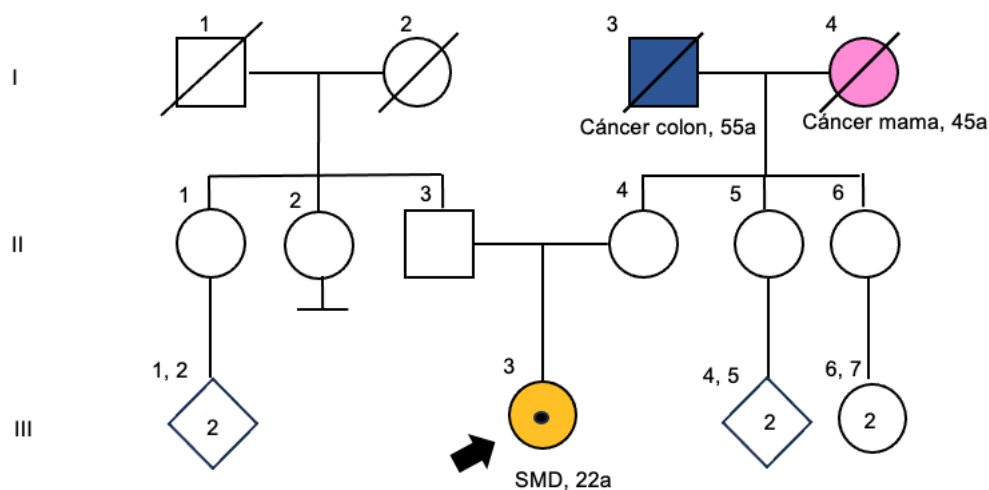
Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: GATA2 (NM_032638): c.1045T>A; p.Cys349Ser (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.3 y II.4 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en la paciente.

Evolución: la paciente ha sido trasplantada de un donante no emparentado, encontrándose actualmente en respuesta completa y en seguimiento por la unidad de trasplante.



SMD: Síndrome Mielodisplásico

Caso 10

Caso índice: Mujer de 46 años con SMD (tipo: displasia multilínea).

Antecedentes personales: tuberculosis (15 años); diagnóstico de SMD (tipo: anemia refractaria simple) con 22 años; neumonía por gripe A, requiriendo ingreso en UCI (35 años); leucemia de linfocitos grandes granulares (36 años); enfermedad relacionada con VPH (alto y bajo riesgo) (33 años): neoplasia intraepitelial vulvar grado III (VIN III) con focos de microinvasión, condilomatosis perianal y vulvar, progresión a carcinoma anal con posibles oligometástasis (43 años), linfedema en miembro inferior derecho (45 años); neumonía por SarsCov2, requiriendo ingreso en UCI (46 años); esplenomegalia 18cm.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 10,2g/dL, VCM 105fL, leucocitos 890/mm³ (linfopenia 280/mm³ y monocitopenia 10/mm³), plaquetas 68.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos. Sin incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: no.

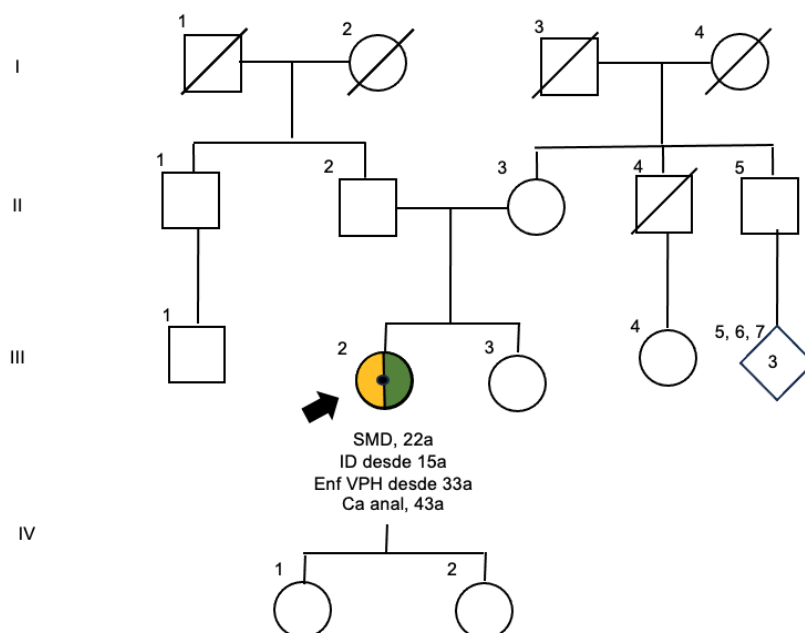
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: GATA2 (NM_032638): c.616G>T; p.Glu206* (heterocigosis).

Segregación familiar: por el momento, la familia no ha querido realizarse el estudio de segregación.

Evolución: complicaciones infecciosas que requieren ingreso hospitalario, enfermedad intersticial pulmonar difusa con trastorno leve de la capacidad de difusión de CO₂. En seguimiento por distintas unidades (ginecología, oncología, neumología y unidad de linfedemas). Por parte de hematología, se encuentra pendiente de decisión de alo-TPH.



SMD: Síndrome Mielodisplásico; ID: Inmunodeficiencia; Enf VPH= enfermedad relacionada con Virus del Papiloma Humano.

Caso 11

Caso índice: Varón de 23 años con SMD diagnosticado en la infancia.

Antecedentes personales: muy bajo peso al nacer, ductus arterioso persistente, retraso constitucional del crecimiento, hidrocele derecho, diagnóstico de SMD (tipo: citopenia refractaria) con 10 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 10,8g/dL, VCM 104,6 fL, leucocitos 5.500/mm³ (linfopenia 810/mm³, monocitopenia 50/mm³), plaquetas 150.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos. Sin incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

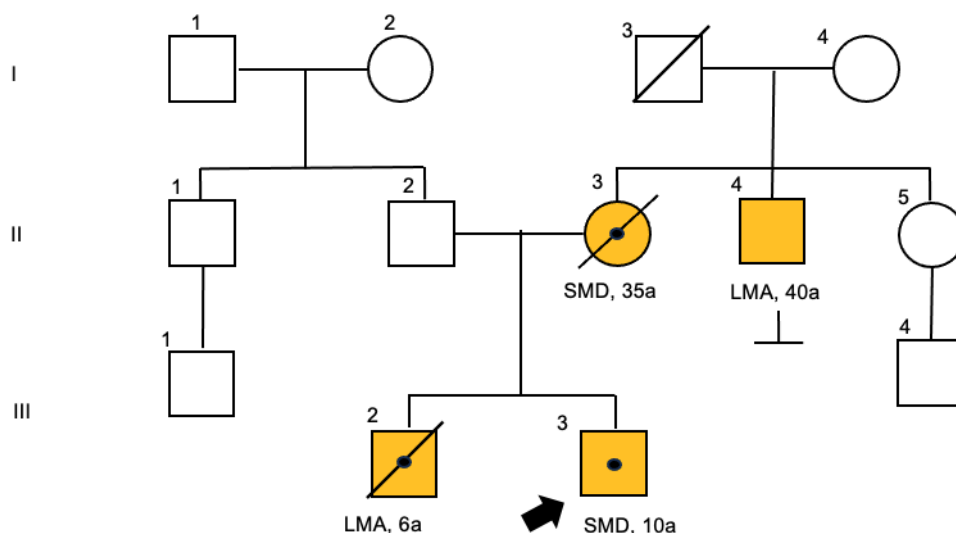
Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: GATA2 (NM_032638): c.1117T>C; p.Cys373Arg (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.3 y III.2 eran portadores de la variante. El caso índice (individuo III.3) fue el donante emparentado del trasplante que precisó su hermano (III.2) por su LMA. Meses después del alo-TPH, el individuo III.2 recayó de su enfermedad y falleció.
- El individuo II.4 ha sido diagnosticado recientemente de LMA (tipo: inv(16)), pero no es portador de la variante.

Evolución: El SMD permanece estable, en seguimiento por Hematología. Si hay empeoramiento de citopenias, se hará nuevo estudio medular.



SMD: Síndrome Mielodisplásico; LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda

Neoplasia hematológica con alteración germinal en *SAMD9***Caso 12**

Caso índice: Mujer de 55 años con LMA (tipo: NOS).

Antecedentes personales: No.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,9g/dL; VCM ND, leucocitos 1.600/mm³, plaquetas 127.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad y displasia ND, 66% blastos.
- Cariotipo: ND (FISH: -7).
- Molecular somática: *CSF3R*, *DNMT3A*, *IDH1*.

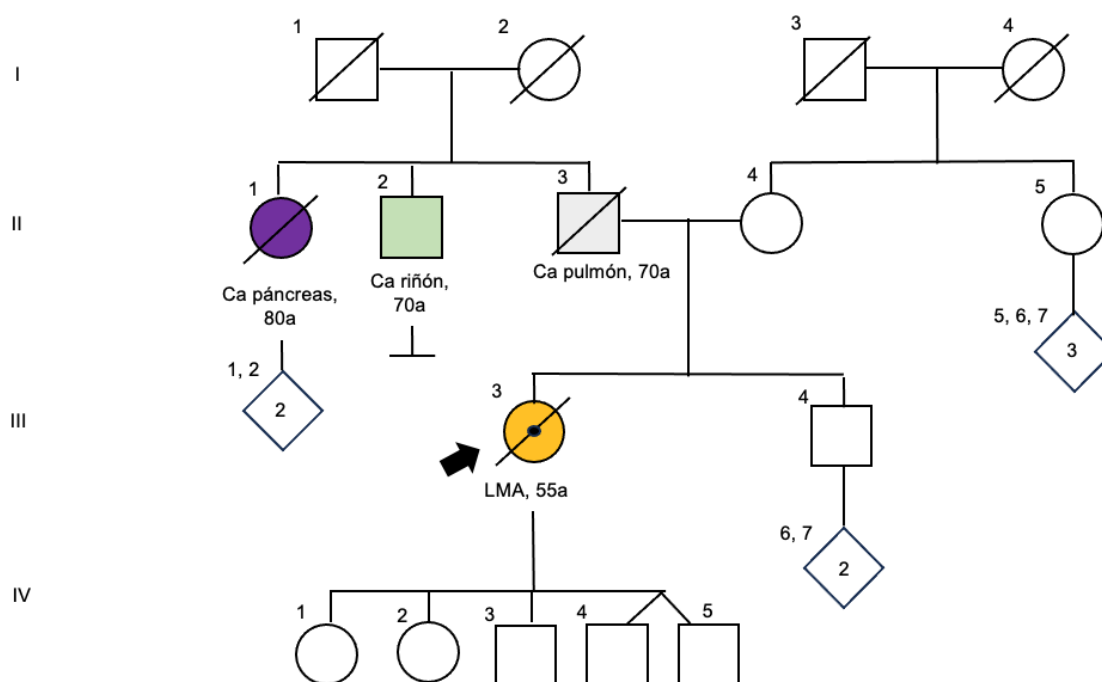
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: *SAMD9* (NM_017654): c.661C>T; p.Arg221* (heterocigosis).

Segregación familiar: la paciente falleció antes de conocer el resultado, por lo que éste no se comunicó a su familia inicialmente.

Evolución: la paciente fue trasplantada de un donante no emparentado y recayó a los 2 años, motivo que causó su fallecimiento. Cabe destacar la neurotoxicidad que presentó en el periodo post alo-TPH (leucoencefalopatía).



LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda

Caso 13

Caso índice: Varón de 28 años con SMD diagnosticado en la infancia.

Antecedentes personales: diagnóstico de SMD con 12 años (tipo: citopenia refractaria).

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 14,3g/dL, VCM 99fL, leucocitos 3.700/mm³, plaquetas 74.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos, sin incremento de blastos.
- Cariotipo: 45,XY,-7[8]/46,XY[12] (FISH: -7).
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

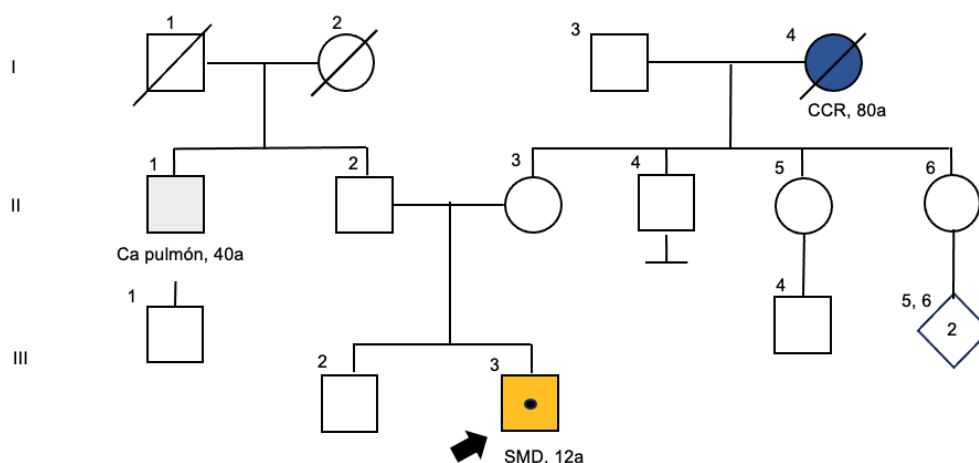
Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: *SAMD9* (NM_017654): c.4432A>G; p.Ile1478Val (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.2, II.3 y III.2 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en el paciente.

Evolución: El SMD permanece estable, en seguimiento por Hematología. Si hay empeoramiento de citopenias, se hará nuevo estudio medular.



CCR: Cáncer Colo-Rectal; SMD: Síndrome Mielodisplásico

Caso 14

Caso índice: Mujer de 59 años con SMD (tipo: EB-2).

Antecedentes personales: tumor seroso ovárico no tratado (57 años).

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 8,1g/dL, VCM ND, leucocitos 1.700/mm³, plaquetas 30.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad ND, con signos displásicos y 11% blastos.
- Cariotipo: 46,XX,del(12)(p12),del(17)(p13)[2]/46,XX[1].
- Molecular somática: no.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

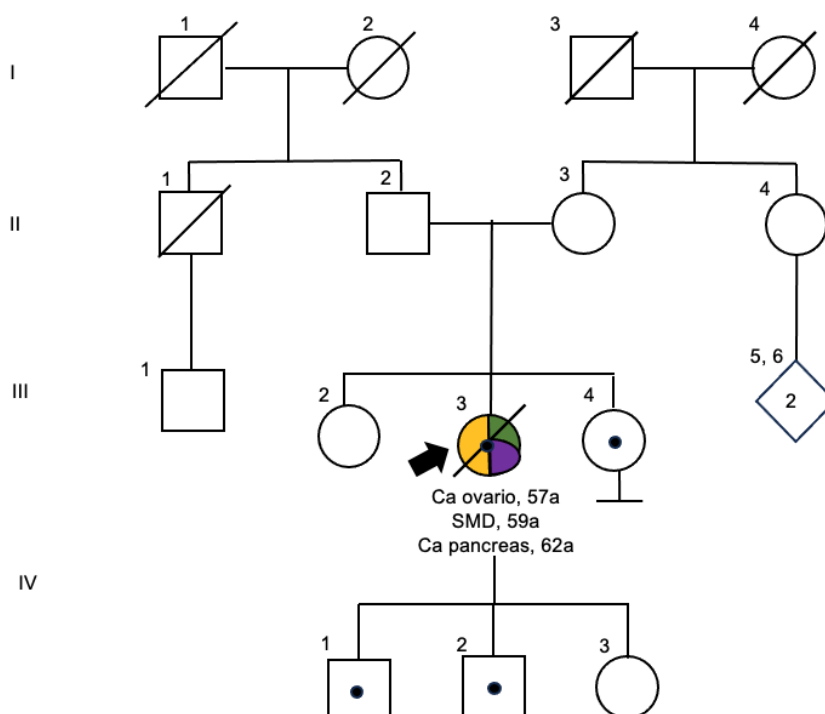
Resultado: *SAMD9* (NM_017654): c.1046_1047delCT; p.Ser349* (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos III.4, IV.1 y IV.2 son portadores de la variante.
- Los individuos III.2 y IV.3 no son portadores de la variante.

Evolución: la paciente fue trasplantada de su hija no portadora, entrando en respuesta completa de su enfermedad hematológica. Con 62 años, desarrolló una neoplasia de páncreas y falleció por este motivo.

Seguimiento de familiares: ante la falta de datos clínicos que apoyen el beneficio en el seguimiento de estos individuos, no se ha llevado a cabo ningún control por nuestra parte.



SMD: Síndrome Mielodisplásico

Síndrome de insuficiencia medular: Anemia de Fanconi**Caso 15**

Caso índice: Niño de 13 años con SMD (tipo: EB-1).

Antecedentes personales: No.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 2,3g/dL, VCM 103fL, leucocitos 1.320/mm³, plaquetas 7.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos, 6% blastos.
- Cariotipo: 46,XY,add(7)(p10),i(17)(q10)[20].
- Test de fragilidad cromosómica: positivo.
- Molecular somática: no.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

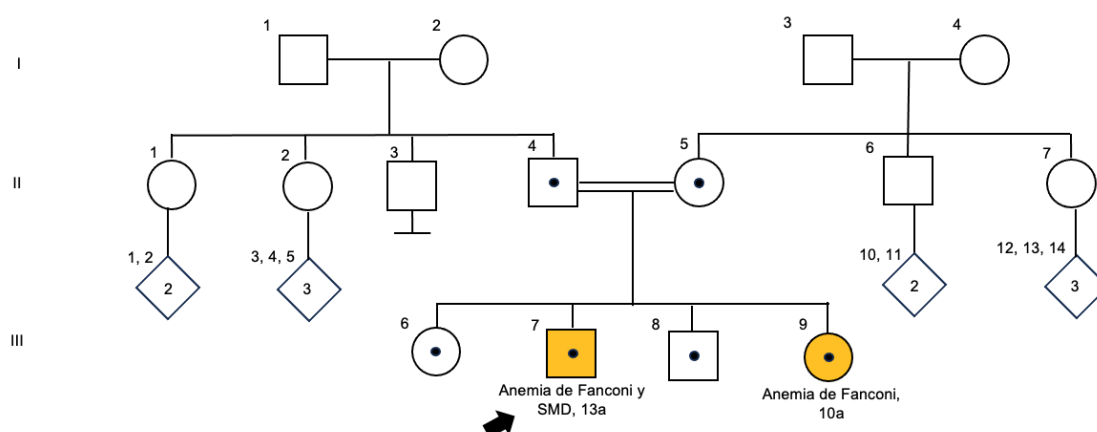
Resultado: *FANCA* (NM_000135): c.295C>T; p.Gln99* (homocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.4, II.5, III.6 y III.8 son portadores heterocigotos de la variante, siendo por tanto sanos
- El individuo III.9 es portador homocigoto de la variante, siendo por tanto enfermo.

Evolución: El paciente fue trasplantado de su hermana (portadora sana). Tras un año de respuesta, recayó de su enfermedad de base, por lo que ha sido sometido a un segundo alo-TPH de la misma donante, presentando actualmente respuesta completa. Como complicaciones de interés, al diagnóstico presentó un cuadro infeccioso grave consistente en fascio-miositis cérvico-facial. Presenta también verrugas plantares (hallazgos microbiológicos ND).

Seguimiento de familiares: su hermana con anemia de Fanconi está en seguimiento en el servicio de Hematología Infantil.



SMD: Síndrome Mielodisplásico

Caso 16

Caso índice: Niño de 8 años con bicitopenia.

Antecedentes personales: Estenosis de píloro neonatal, ingresos hospitalarios reiterados por episodios infecciosos, hipoacusia neurosensorial por agenesia nervio coclear con 3 años, fimosis.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

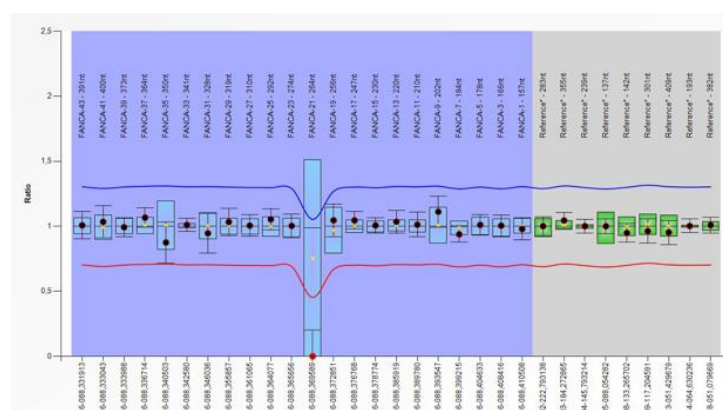
- Sangre periférica: Hb 11,2g/dL, VCM 97,8fL, leucocitos 4.260/mm³, plaquetas 82.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[5].
- Test de fragilidad cromosómica: posible mosaicismo.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: FANCA (NM_000135): delección exones 21 y 22 en homocigosis por pérdida de heterocigisidad (LOH, del inglés, *Loss of Heterozygosity*) materna, mostrada en la **Figura 20**.

A



B

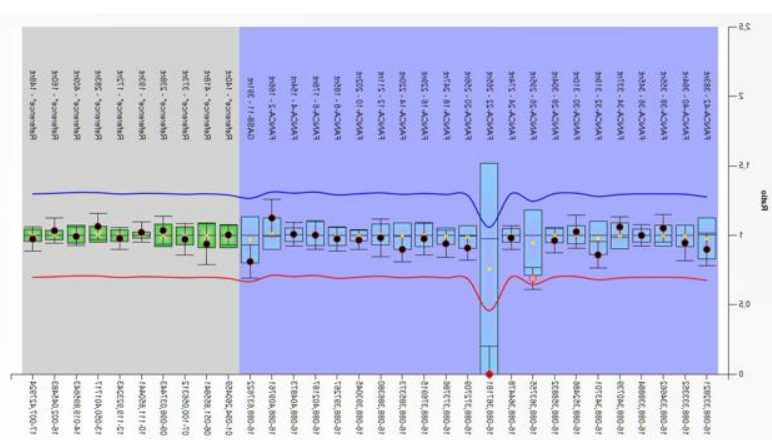
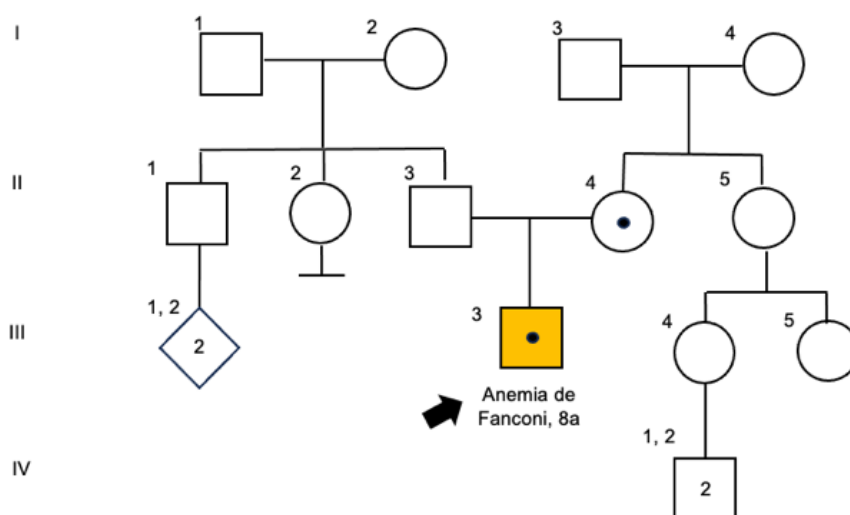


Figura 20. Resultados del análisis por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) que muestran una delección en homocigisidad de los exones 21 (A) y 22 (B) del gen FANCA.

Segregación familiar:

- El individuo II.4 es portador heterocigoto de la delección exónica, siendo por tanto sano.
- El individuo II.3 no es portador de la delección exónica.

Evolución: El paciente ha sido trasplantado de un donante no emparentado, estando actualmente en respuesta completa.



SMD: Síndrome Mielodisplásico

Caso 17

Caso índice: Niño de 10 años con pancitopenia.

Antecedentes personales: Talla baja, pielonefritis aguda y reflujo vésico-ureteral (RVU) intervenido por Urología al nacer.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 11,6g/dL, VCM 93,8fL, leucocitos 2.580/mm³, plaquetas 114.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Test de fragilidad cromosómica: ND.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica

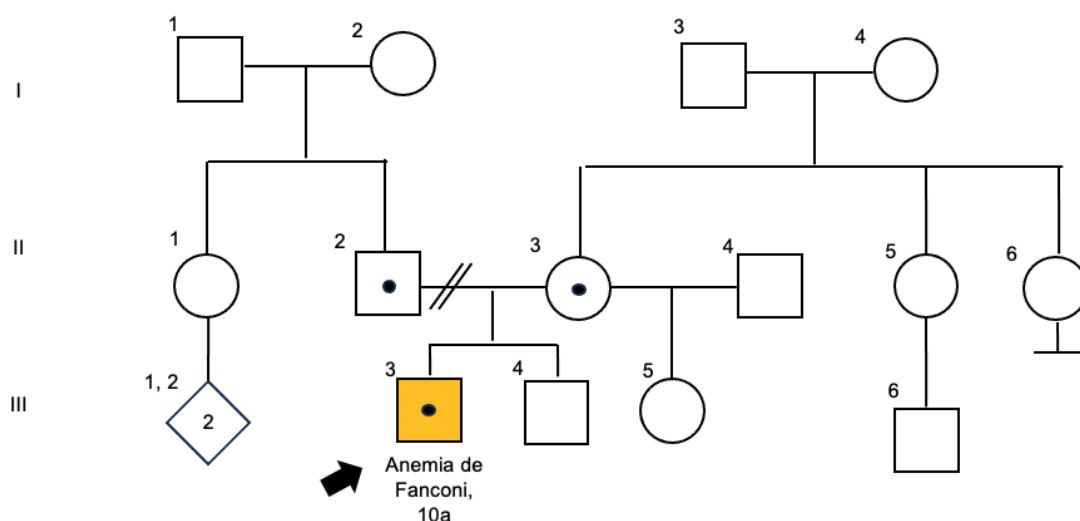
Resultado: *FANCA* (NM_000135) (heterocigosis compuesta):

- V1: c.295C>T; p.Gln99*.
- V2: c.3558dupG; p.Arg1187Glufs*28.

Segregación familiar:

- Los individuos II.2 y II.3 son portadores heterocigotos de las variantes, siendo por tanto sanos.
- El individuo III.4 no es portador de ninguna de las dos variantes, siendo por tanto sano.
- El individuo II.4 no es portador de ninguna variante en el gen *FANCA*, por lo que no se continuó con la segregación con el individuo III.5 (menor de edad).

Evolución: El paciente está en seguimiento por Hematología infantil, con fenotipo leve (tipo mosaico).



Caso 18

Caso índice: Varón de 37 años con sospecha clínica de Anemia de Fanconi (diagnosticado en la infancia).

Antecedentes personales: Hipoplasia del primer metacarpiano y falanges de pulgar derecho, agenesia del primer metacarpiano e hipoplasia de las falanges pulgar izquierdo, hipospadias y frenillo hipoplásico, RVU, estenosis de uretra membranosa.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 14,7g/dL, VCM 94,3fL, leucocitos 4.800/mm³, plaquetas 238.000/mm³.
- Médula ósea: ND.
- Cariotipo: ND.
- Test de fragilidad cromosómica: positivo.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *FANCD2* (NM_001018115) (heterocigosis compuesta):

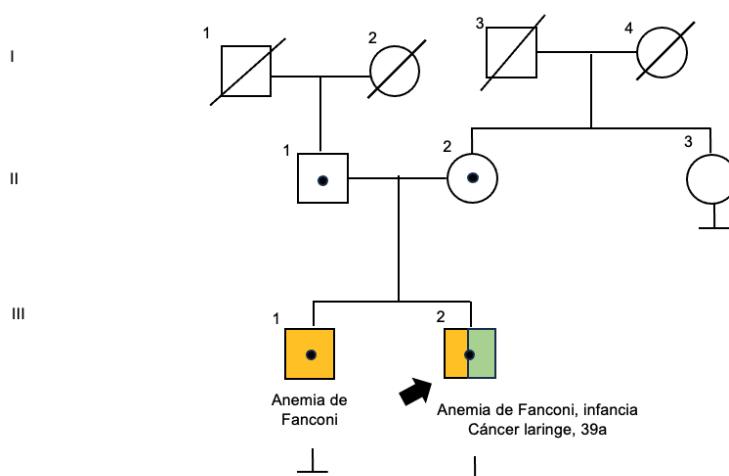
- V1: c.2444G>A; p.Arg815Gln.
- V2: c.2613A>C; p.Lys871Asn.

Segregación familiar:

- Los individuos II.1 y II.2 son portadores heterocigotos de las variantes, siendo por tanto sanos.
- El individuo III.1 presenta ambas variantes en heterocigosis compuesta, siendo por tanto enfermo.

Evolución: carcinoma de raíz dental, intervenido. Seguimiento en hematología con hematopoyesis conservada.

Seguimiento de familiares: su hermano con anemia de Fanconi está en seguimiento clínico.



Síndrome de insuficiencia medular: Telomeropatías**Caso 19**

Caso índice: Varón de 17 años con aplasia medular no grave.

Antecedentes personales: aplasia medular (AM) diagnosticada a los 10 años, para la que recibió ciclosporina. Además: miopía, astigmatismo, esteatosis hepática, pie plano, distrofia ungueal en dedo pulgar de mano izquierda.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,9g/dL, VCM 106 fL, leucocitos 3.200/mm³, plaquetas 66.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20]
- Molecular somática: ND.
- Longitud telomérica: acortada (percentil <5).

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

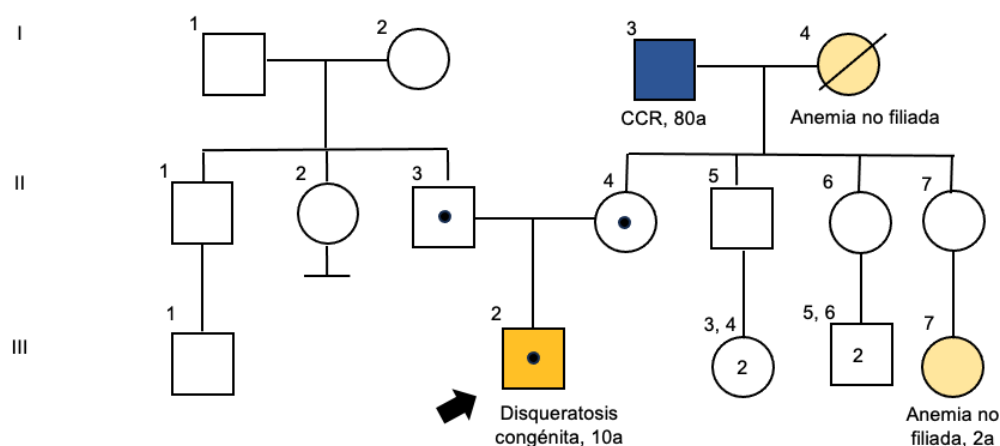
Resultado: *RTEL1* (NM_001283009) (heterocigosis compuesta):

- V1: c.2920C>T; p.Arg974*.
- V2: c.658G>A; p.Asp220Asn.

Segregación familiar:

- Los individuos II.3 y II.4 son portadores heterocigotos de las variantes, siendo por tanto sanos.

Evolución: Tras el diagnóstico de la disqueratosis congénita (DC), el paciente recibió danazol. Por progresión a aplasia medular muy grave, ha sido trasplantado de médula ósea de donante no emparentado, permaneciendo en respuesta completa. Actualmente, presenta afectación pulmonar con patrón restrictivo leve (EICR crónico vs manifestación de la DC).



CCR: Cáncer Colo-Rectal

Caso 20

Caso índice: Niño de 13 años con bicitopenia.

Antecedentes personales: distrofia ungueal, leucoplasia de mucosa yugal, esplenomegalia, dificultad para tragar.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 13,4g/dL, VCM 86,8fL, leucocitos 3.180/mm³ (Ne 1.400/mm³), plaquetas 84.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos leves. No incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: no.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

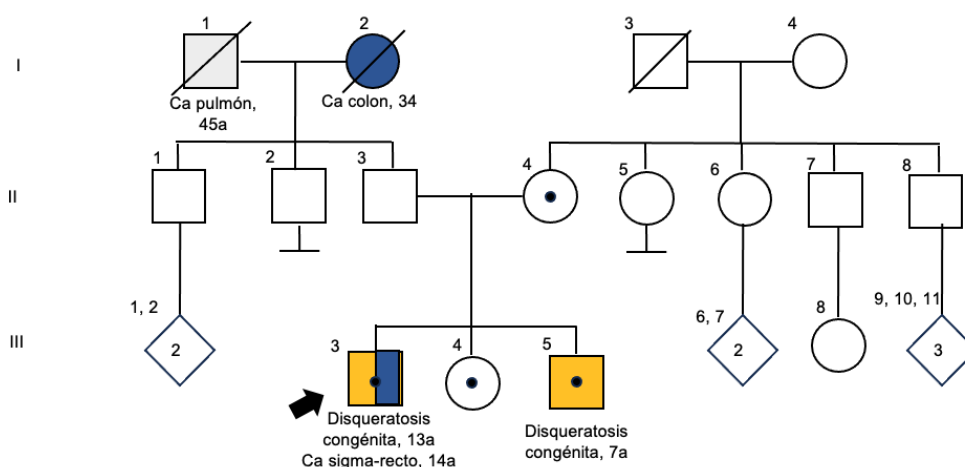
Resultado: *DKC1* (NM_001363): c.1058C>T; p.Ala353Val (hemicigosis).

Segregación familiar:

- El individuo III.5 es portador hemicigoto de la variante, habiéndose diagnosticado de disqueratosis congénita.
- Los individuos II.4 y III.4 son portadores heterocigotos de la variante, siendo por tanto sanos.
- El individuo II.3 no es portador de la variante.

Evolución: un año después del diagnóstico de DC, el paciente fue diagnosticado de estenosis esofágica secundaria a esofagitis no eosinofílica y ha precisado varias dilataciones. Además, se detectó un adenocarcinoma en sigma-recto, que fue extirpado con estudio de extensión negativo. Con 15 años, se ha detectado en la ecografía hepática de control una ecoestructura heterogénea por presencia de múltiples lesiones hipoeoicas.

Seguimiento de familiares: el individuo III.5 fue remitido a Hematología infantil tras el diagnóstico genético. Presenta distrofia ungueal, leucoplasia en la mucosa yugal y estenosis esofágica que ha precisado dilatación. Desde el punto de vista hematológico se encuentra estable y en seguimiento. Ocasionalmente, presenta anemia ferropénica.



Síndrome de insuficiencia medular: Neutropenia Severa Congénita**Caso 21**

Caso índice: Mujer de 12 años con neutropenia cíclica grave.

Antecedentes personales: Neutropenia severa detectada con 2 años, ingresos reiterados por tiflitis, ileitis, absceso perianal y cuadros respiratorios, que han requerido G-CSF.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 11,9g/dL, VCM 86fL, leucocitos 2,110/mm³ (Ne 20/mm³), plaquetas 220,000/mm³,
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Detención madurativa total en mielocito.
- Cariotipo: 46,XX[6],
- Molecular somática: *CSF3R* no mutado. Otras alteraciones: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

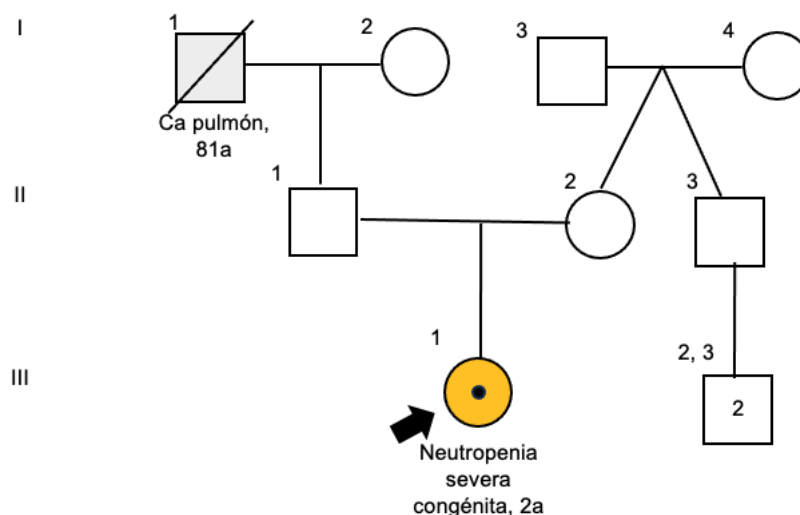
Estudio en línea germinal: sangre periférica,

Resultado: *ELANE* (NM_001972): c.416C>T; p.Pro139Leu (heterocigosis),

Segregación familiar:

- Los individuos II.1 y II.2 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en la paciente.

Evolución: En los últimos años, mantiene neutrófilos con ciclos variables de 3-4 semanas. Los padres cursan con neutropenia muy severa con clínica habitual de gingivitis y aftas.



Caso 22

Caso índice: Niña recién nacida con neutropenia grave.

Antecedentes personales: retraso en la caída del cordón umbilical con onfalitis leve.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 16,5g/dL, VCM 98,7fL, leucocitos 2.620/mm³ (Ne 70/mm³), plaquetas 256.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Detención madurativa total en mielocito.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: *CSF3R* no mutado. Otras alteraciones: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

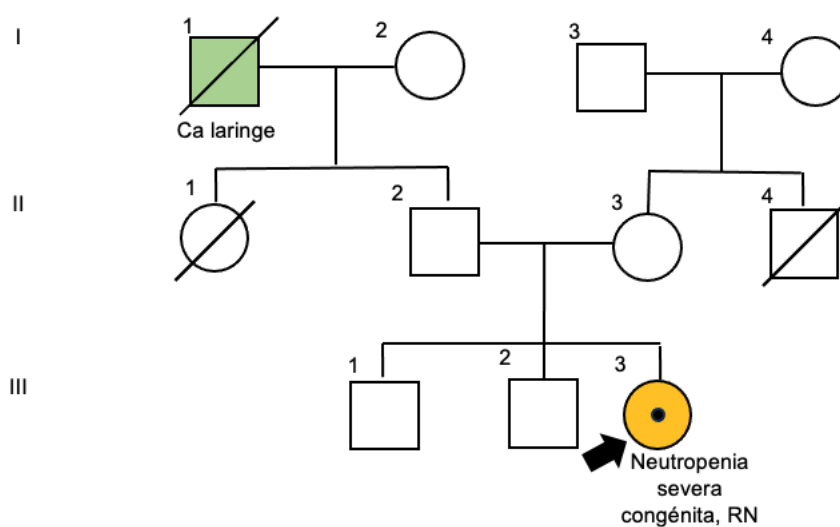
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *ELANE* (NM_001972): c.212G>A; p.Cys71Tyr (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.2, II.3, III.1 y III.2 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en la paciente.

Evolución: Repetidos ingresos por infecciones pulmonares/digestivas que han requerido G-CSF.



RN: Recién Nacido

Caso 23

Caso índice: Niño recién nacido con neutropenia grave.

Antecedentes personales: retraso en la caída del cordón umbilical con onfalitis leve.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 10,4g/dL, VCM 92,5fL, leucocitos 5.750/mm³ (Ne 40/mm³), plaquetas 419.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Detención madurativa total en mielocito.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: *CSF3R* no mutado. Otras alteraciones: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

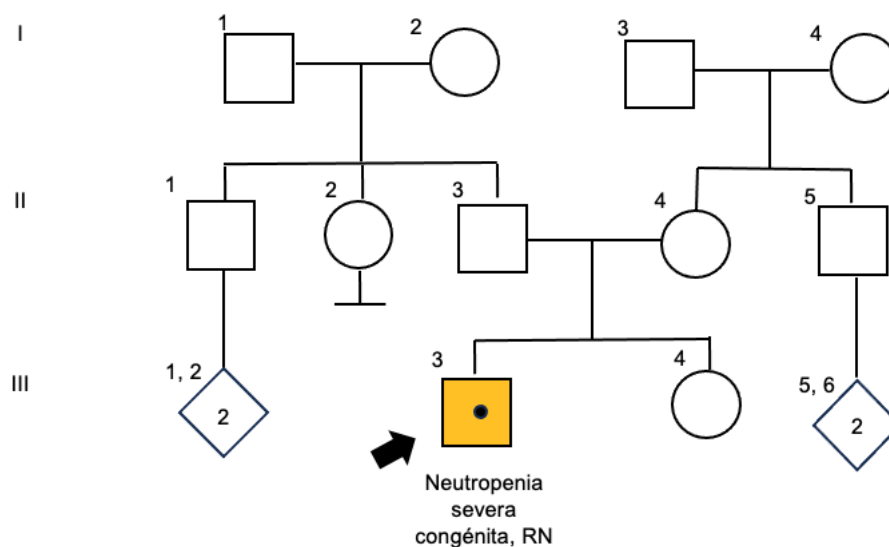
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *ELANE* (NM_001972): c.275_289del; p.Arg92_Arg96del (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.3 y II.4 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en el paciente.

Evolución: Múltiples ingresos por otitis, absceso perianal, faringitis o infecciones respiratorias, que han requerido G-CSF.



RN: Recién Nacido

Caso 24

Caso índice: Niña recién nacida con neutropenia grave.

Antecedentes personales: no.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 15,3g/dL, VCM 80,7fL, leucocitos 4.400/mm³ (Ne 0/mm³), plaquetas 272.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Detención madurativa total en mielocito.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: *CSF3R* no mutado. Otras alteraciones: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

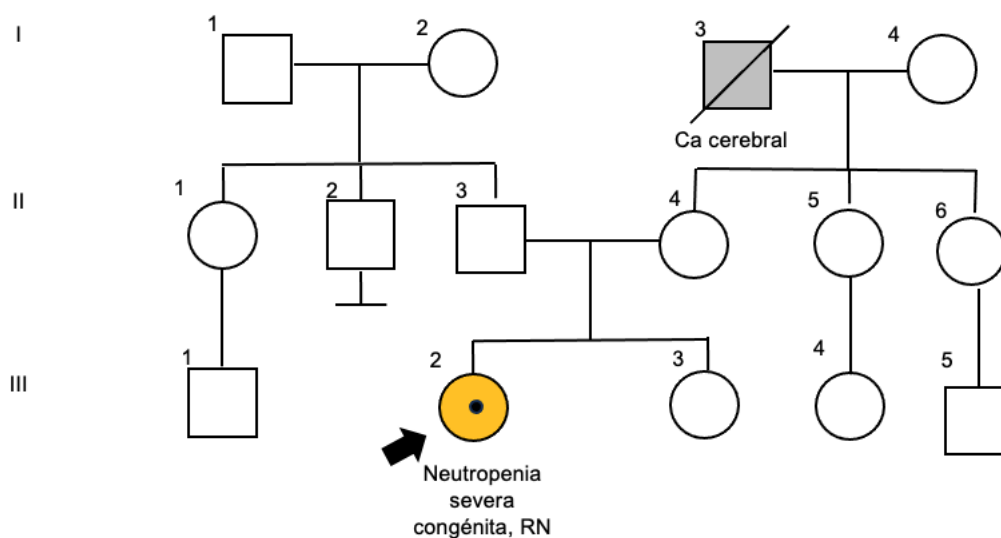
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *ELANE* (NM_001972): c.561C>A; p.Cys187* (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.3, II.4 y III.3 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en la paciente.

Evolución: repetidos ingresos por infecciones que han requerido G-CSF.



RN: Recién Nacido

Caso 25

Caso índice: Mujer de 16 años con neutropenia crónica (moderada).

Antecedentes personales: conducto arterioso abierto, anemia por eritroblastopenia neonatal (que se resolvió), neutropenia grave en el primer año de vida ($<500 \text{ Ne/mm}^3$). A partir de los 4 años, la cifra de neutrófilos ascendió y fluctuó en torno a 700 Ne/mm^3 . Actualmente, la paciente presenta una neutropenia moderada-leve.

En la infancia, requirió varios ingresos por complicaciones infecciosas, sobre todo neumonías que precisaron ingreso en UCI. La respuesta al tratamiento con G-CSF es parcial.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 13g/dL, VCM 91fL, leucocitos $4.900/\text{mm}^3$ (Ne $700/\text{mm}^3$), plaquetas $327.000/\text{mm}^3$.
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni incremento de blastos. No presencia de arresto madurativo.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

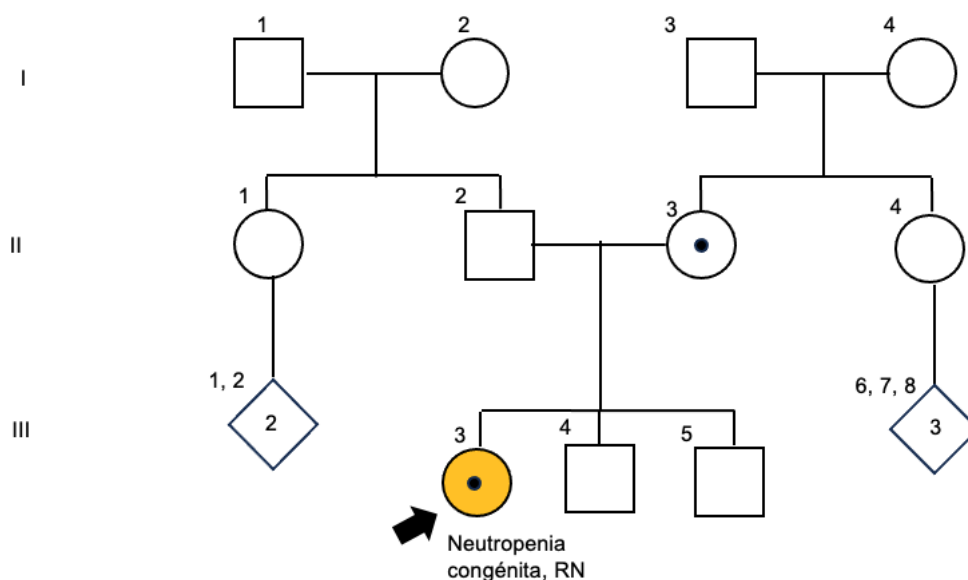
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *CSF3R* (NM_000760): c.1245delG; p.Thr416Profs*17 (homocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo II.3 es portador heterocigoto de la variante, siendo por tanto sano.
- El resto de la familia se encuentra pendiente de estudio de segregación.

Evolución: En los últimos años, infecciones urinarias y ORL ambulatorias. La paciente ha desarrollado un síndrome de Gilles de la Tourette.



RN: Recién Nacido

Caso 26

Caso índice: Varón de 15 años con neutropenia cíclica (moderada-grave) y monocitosis.

Antecedentes personales: neutropenia congénita moderada-grave de carácter cíclico (Ne 500-1.000/mm³), con escasas complicaciones infecciosas, sordera neurosensorial desde los 11 años, dermatitis atópica, hipospadias y aftas orales.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 13,9g/dL, VCM 92fL, leucocitos 3.300/mm³ (Ne 260/mm³, M 1.400/mm³), plaquetas 152.000/mm³.
- Médula ósea: detención madurativa total en mielocito, resto de información ND.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

*Aclaración: RN= Recién nacido.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

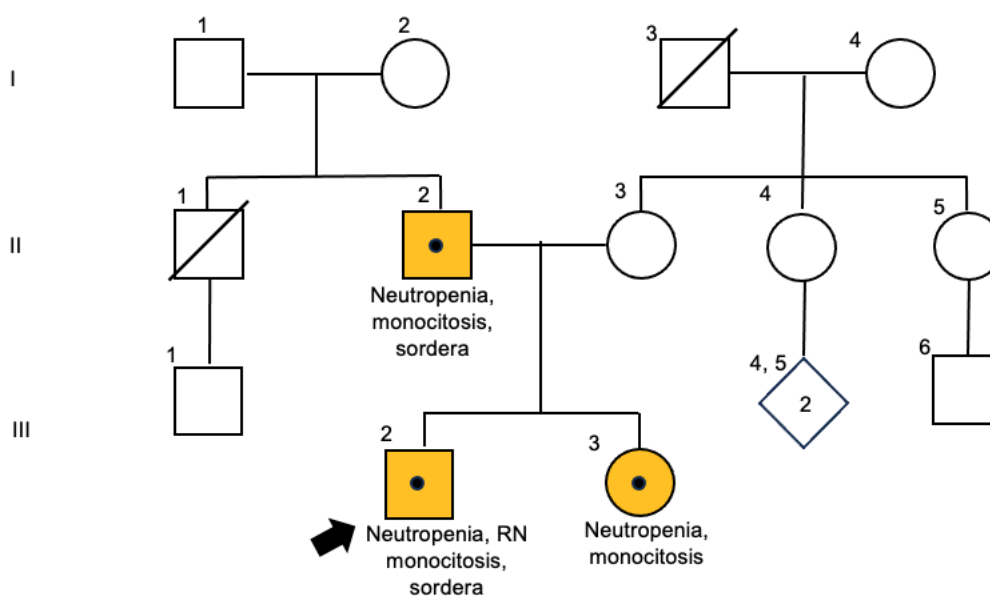
Resultado: *GFI1* (NM_005263): c.1145A>G; p.Asn382Ser (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.2 y III.3 son portadores de la variante, siendo por tanto enfermos.
- El individuo II.3 no es portador de la variante.

Evolución: infecciones leves ambulatorias. Seguimiento por Otorrino.

Seguimiento de familiares: los individuos II.2 y III.3 llevan un seguimiento en hematología.



RN: Recién Nacido

Caso 27

Caso índice: Niño de 2 años con neutropenia severa congénita.

Antecedentes personales: talla baja al nacer, recuperada. Neutropenia grave desde el nacimiento, que fluctúa entre grave-moderada y que ha ocasionado ingresos por complicaciones infecciosas. Excreción aumentada de ácido 3-metilglutacónico y ácido 3-metilglutárico.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,9g/dL, VCM 81,6fL, leucocitos 5.600/mm³ (Ne 300/mm³), plaquetas 336.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Detención madurativa parcial en mielocito.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

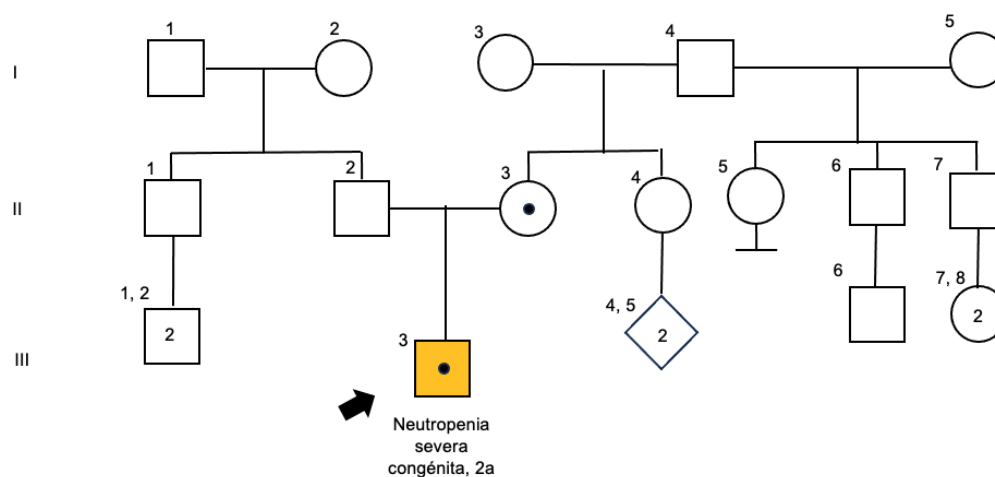
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: TAZ (NM_000116): c.110-2A>G (hemicigosis).

Segregación familiar:

- El individuo II.3 es portador heterocigoto de la variante, siendo por tanto sano.
- La familia no se ha realizado más estudios de segregación.

Evolución: El paciente continúa requiriendo ingresos por infecciones, precisando G-CSF en alguna ocasión. No presenta miocardiopatía. En el examen neurológico, presenta afectación de la motricidad gruesa (correr, saltar) y fina (escribir), asociando cierta hipotonía.



Caso 28

Caso índice: Varón de 40 años con neutropenia crónica (moderada-grave) y trombocitopenia leve.

Antecedentes personales: neutropenia congénita (moderada-grave) de inicio a los 8 años (Ne 300/mm³). Inicialmente, recibió tratamiento con inmunoglobulinas y plasmaféresis por sospecha de autoinmunidad. Ha requerido algún ingreso por fiebre neutropénica, recibiendo G-CSF (con respuesta parcial). Con los años, ha aumentado las cifras de Ne: 500-1.000/mm³, con descensos esporádicos. No eccema ni historia hemorrágica, aunque sí trombocitopenia leve crónica.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 17g/dL, VCM 93fL, leucocitos 3.160/mm³ (Ne 800/mm³), plaquetas 100.000/mm³.
- Médula ósea: ND.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

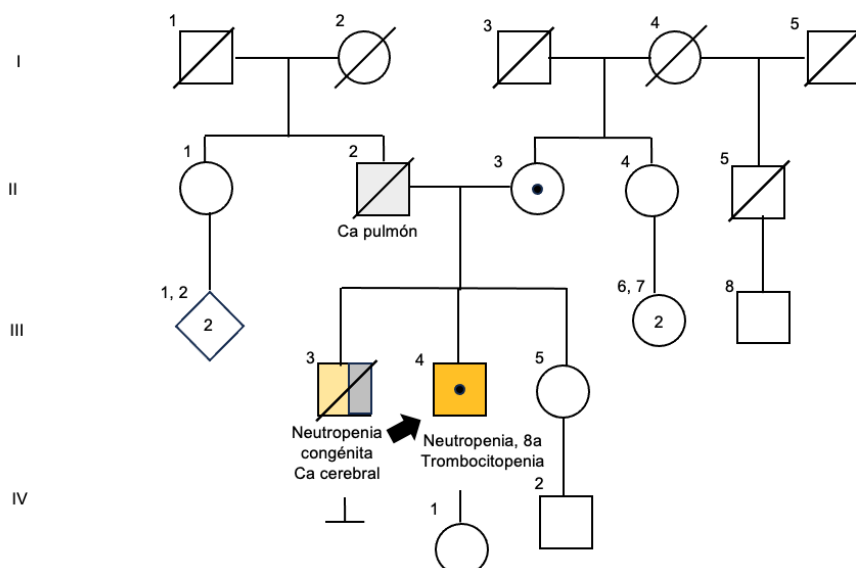
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: WAS (NM_000377): c.881T>C; p.Ile294Thr (hemicigosis).

Segregación familiar:

- El individuo II.3 es portador heterocigoto de la variante, asintomático.
- El individuo III.5 no es portador de la variante.
- El resto de la familia no se ha realizado el estudio de segregación. El individuo III.3, fallecido, presentaba neutropenia congénita leve, sin estudio genético realizado.

Evolución: el paciente continúa seguimiento por Hematología, sin complicaciones infecciosas de gravedad.



Caso 29

Caso índice: Niña de 14 años con neutropenia crónica leve.

Antecedentes personales: infecciones leves de repetición, sin ingresos hospitalarios; pubertad precoz.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 13,6g/dL, VCM 81fL, leucocitos 4.300/mm³ (Ne 1.200/mm³), plaquetas 144.000/mm³.
- Médula ósea: ND.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

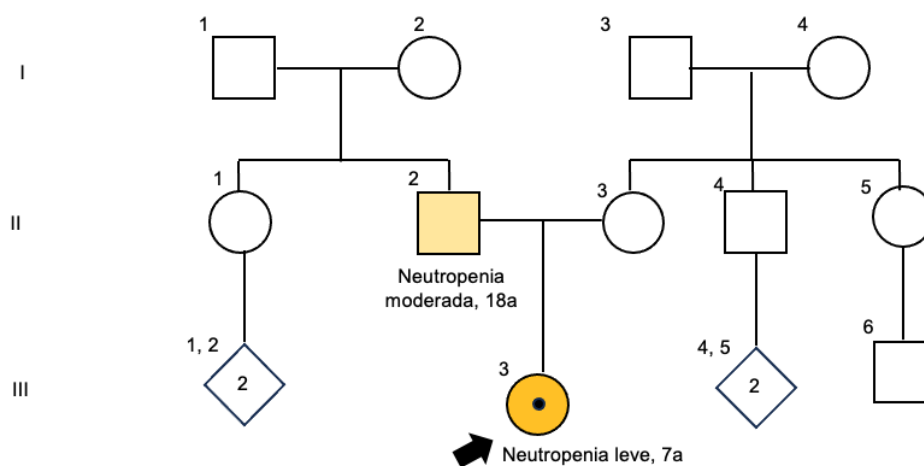
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: WAS (NM_000377): c.881T>C; p.Ile294Thr (heterocigosis).

Segregación familiar: la familia no se ha realizado estudio de segregación.

Evolución: la paciente continúa seguimiento por Hematología, sin complicaciones infecciosas de gravedad.

Seguimiento de familiares: el individuo II.2 está en seguimiento por Hematología por neutropenia crónica detectada a los 18 años (detención madurativa en médula ósea), con procesos infecciosos de repetición. Recientemente, ha iniciado tratamiento con G-CSF una vez/semana (Ne 800/mm³). Está pendiente del estudio genético.



Caso 30

Caso índice: Niño de 1 año con trombocitopenia y dermatitis atópica (eccema generalizado).

Antecedentes personales: epistaxis, que requiso taponamiento por ORL; trombocitopenia sin respuesta a inmunoglobulinas, tratada con corticoides (remisión parcial). No neutropenia ni complicaciones infecciosas.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 11,2g/dL, VCM 76fL, leucocitos 10.600/mm³, plaquetas 27.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

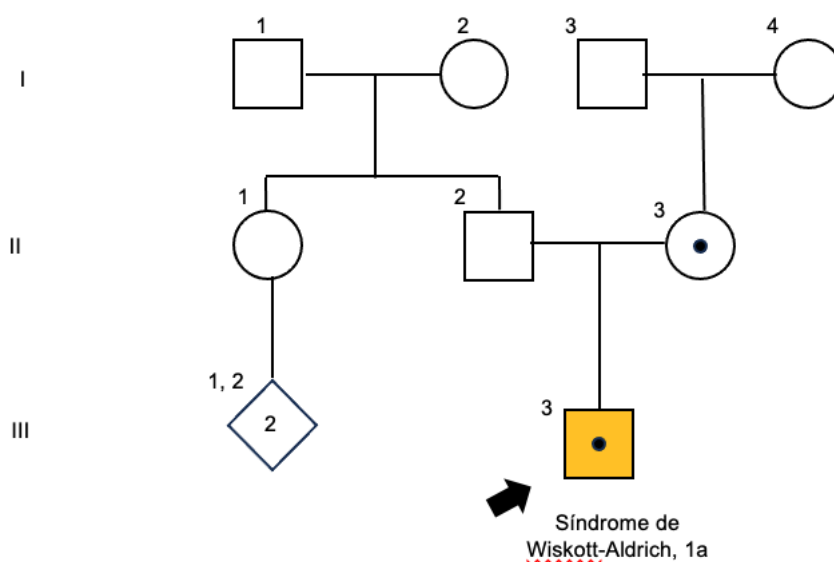
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: WAS (NM_000377): c.217T>C; p.Cys73Arg (hemicigosis).

Segregación familiar:

- El individuo II.3 es portador heterocigoto de la variante, asintomático.
- El resto de la familia no se ha realizado el estudio de segregación.

Evolución: el paciente ha sido trasplantado de un donante no emparentado. Desde el día +60, presenta quimera mixta, por lo que ha precisado infusión de linfocitos del donante. Actualmente, presenta una pérdida del injerto mieloide, con 16.000 plaquetas/mm³. Se encuentra en tratamiento con Eltrombopag por asociar un componente inmune.



Síndrome de insuficiencia medular: Anemia de Blackfan-Diamond

Caso 31

Caso índice: Varón de 30 años con anemia congénita, neutropenia fluctuante y malformaciones óseas.

Antecedentes personales: macrocefalia, polidactilia, ingresos por infecciones. El tratamiento para la anemia ha consistido en: soporte transfusional en periodo neonatal, corticoides desde los 2 a los 4 años y ácido fólico desde entonces hasta los 18 años, alcanzando una Hb de 10g/dL con 20 años. A los 27 años, el paciente volvió a presentar un nuevo descenso de Hb a 8g/dL, requiriendo nuevamente corticoides y progresando a cortico-dependencia y dependencia transfusional con 28 años. Por este motivo, se inició ciclosporina. A los 30 años, la anemia ha vuelto a empeorar, acompañándose de una neutropenia fluctuante que alcanza los 500 Ne/mm³.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 8,1g/dL, VCM 101fL, leucocitos 4.080/mm³ (Ne 1.200/mm³), plaquetas 144.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, sin signos displásicos, sin incremento de blastos. Disminución leve de la serie eritroide.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

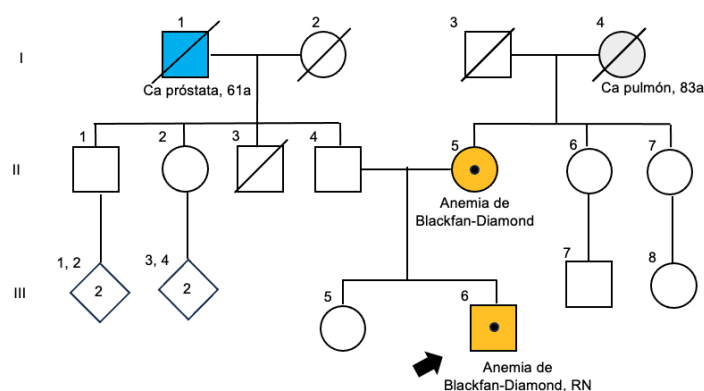
Resultado: *RPL5* (NM_000969): c.228delC; p.Cys76Trpfs*13 (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo II.5 es portador de la variante, siendo por tanto enfermo.
- Los individuos II.4 y III.5 no son portadores de la variante.

Evolución: El paciente se encuentra en seguimiento y tratamiento por Hematología. Actualmente, recibe eritropoyetina, transfusión de hemoderivados y ciclosporina, pendiente de valoración de alo-TPH.

Seguimiento de familiares: El individuo II.5 lleva un seguimiento analítico en Hematología, aunque su anemia es leve y no precisa tratamiento.



RN: Recién Nacido

Caso 32

Caso índice: Niña de 7 años con anemia congénita y síndrome polimalformativo.

Antecedentes personales: talla baja, CIA intervenida, riñón en herradura (ectopía renal izquierda fusionado al riñón derecho), múltiples efélides en la cara, máculas hipopigmentadas que alternan con otras hiperpigmentadas en las 4 extremidades, implantación baja de pabellones auriculares, caries de casi todas las piezas dentales, osteoporosis. Tratamiento recibido para la anemia: hierro desde los 3-4 meses, corticoides desde el 2º año de vida.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,1g/dL, VCM 89fL, leucocitos 3.900/mm³, plaquetas 452.000/mm³.
- Médula ósea: Médula ósea compatible con eritroblastopenia, resto de información ND.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: ND.

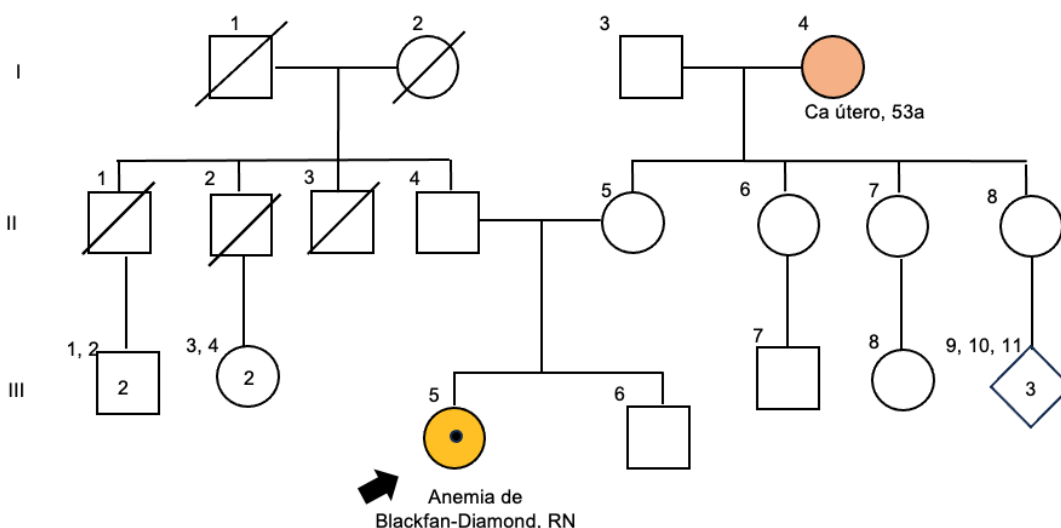
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: RPL5 (NM_000969): c.74-1G>A (heterocigosis).

Segregación familiar: La familia no se ha realizado el estudio de segregación.

Evolución: La paciente se encuentra en seguimiento por Hematología pediátrica y continúa tratamiento con corticoides. Además, está en seguimiento por Cardiología, Nefrología, Endocrinología y Reumatología pediátrica.



RN: Recién Nacido

Caso 33

Caso índice: Niño de 10 años con anemia congénita, neutropenia leve y síndrome polimalformativo.

Antecedentes personales: hipospadias, genitales ambiguos, criptorquidia derecha, arteria umbilical única, agenesia del pulgar derecho e hipoplasia del izquierdo, agenesia del radio derecho, plagiocefalia, leve hipotonía. Tratamiento recibido para la anemia: corticoides (alcanzando la cortico-dependencia).

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9g/dL, VCM 101fL, leucocitos 6.140/mm³ (Ne 1.290/mm³), plaquetas 425.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Disminución leve de la serie eritroide.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *RPL11*: delección completa del gen (heterocigosis), mostrada en la **Figura 21**.

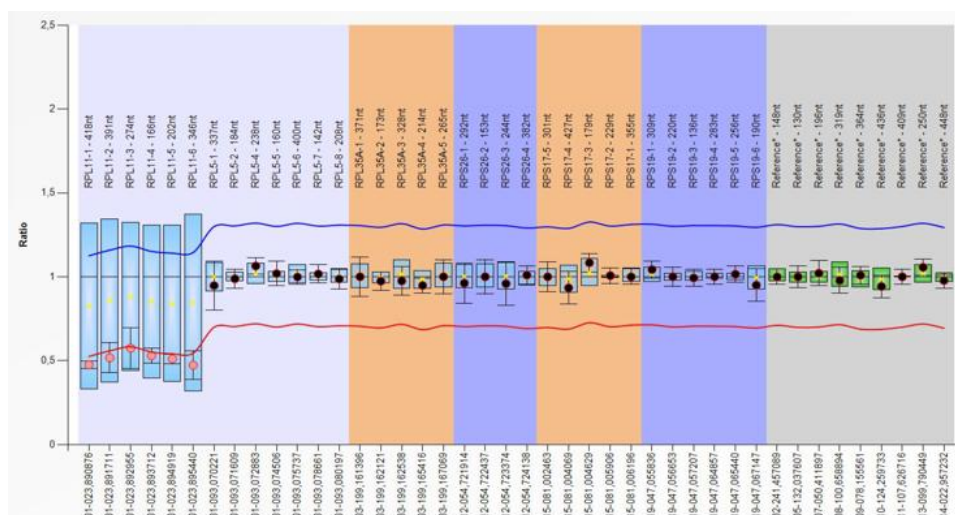
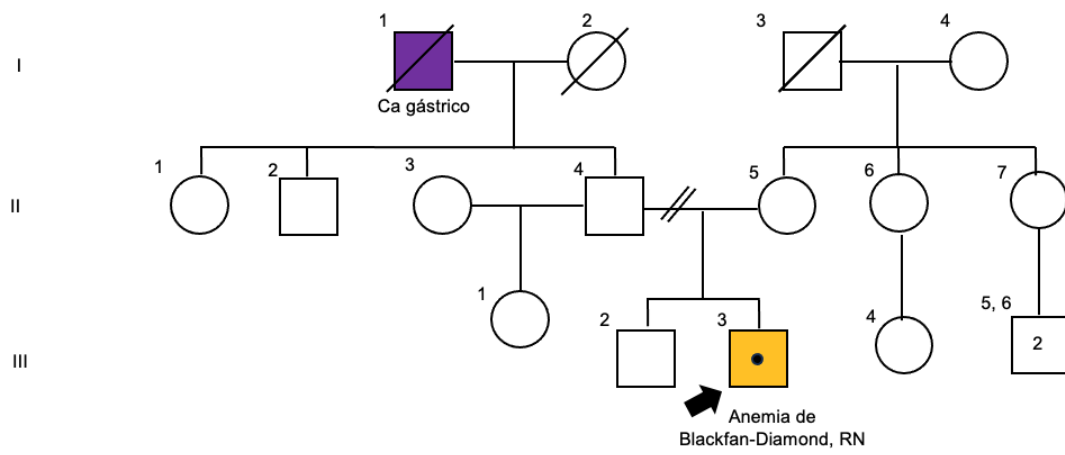


Figura 21. Resultados del análisis por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) que muestra una delección completa en heterocigosis del gen *RPL11*.

Segregación familiar: La familia no se ha realizado el estudio de segregación.

Evolución: El paciente se encuentra en seguimiento por Hematología pediátrica y continúa tratamiento con corticoides. En las últimas visitas, ha precisado un aumento de dosis por descenso progresivo de hemoglobina. Además, lleva un seguimiento multidisciplinar por distintas especialidades.



RN: Recién Nacido

Caso 34

Caso índice: Niño de 11 años que presentó anemia desde el nacimiento hasta los 8 años.

Antecedentes personales: síndrome de Wolff-Parkinson-White, soplo cardíaco, retraso en el lenguaje, adrenaquia prematura, intolerancia alimentaria, déficit de vitaminas liposolubles, posible trastorno del espectro autista. Evolución de la anemia: a los 8 años, se resolvió de forma espontánea. Se ha descartado un posible síndrome mieloproliferativo concomitante que compense la cifra de hemoglobina. Nunca ha precisado tratamiento para la anemia.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 16,1g/dL, VCM 98,2fL, leucocitos 8.510/mm³, plaquetas 262.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni incremento de blastos. Al diagnóstico, existía disminución de la serie eritroide, que se ha normalizado.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: estudio de *JAK2* negativo. No otros estudios moleculares realizados.

Árbol familiar: ver pedigrí.

*Aclaración: RN= Recién nacido.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: síndrome de genes contiguos que afecta a *RPS17* (heterocigosis), analizado mediante array genómico, mostrado en la **Figura 22**. Aunque se detectó una delección de 3.620kbp, la relación del resto de genes con la patología del paciente se considera incierta.

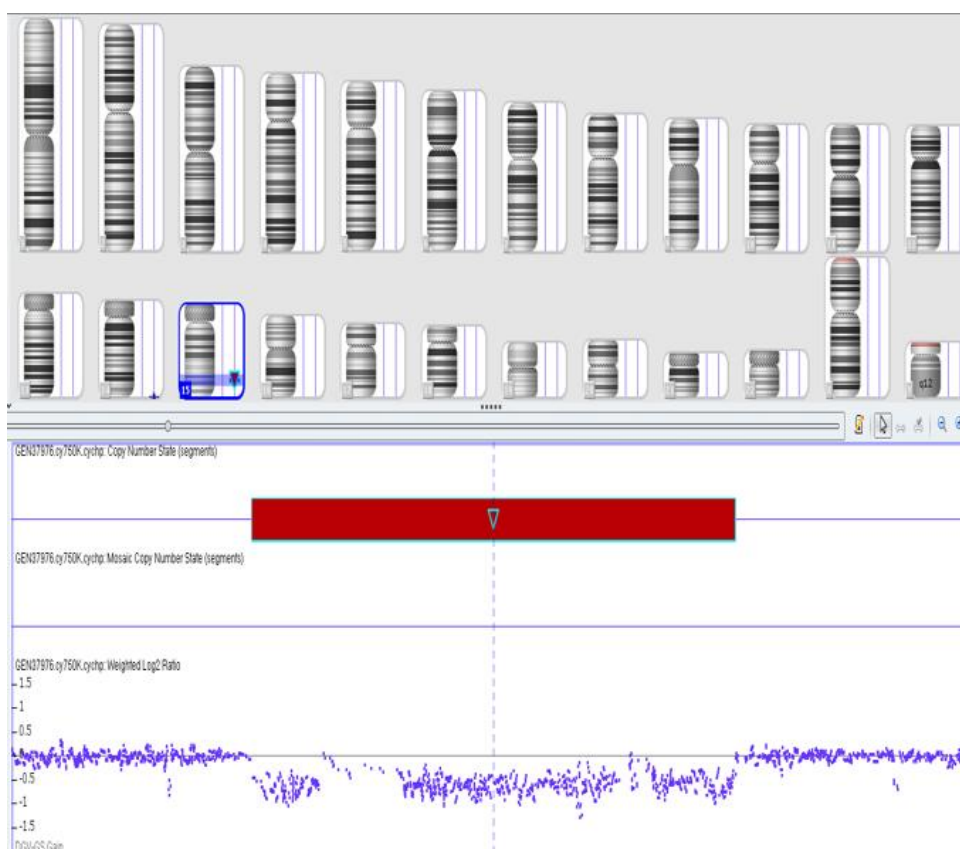
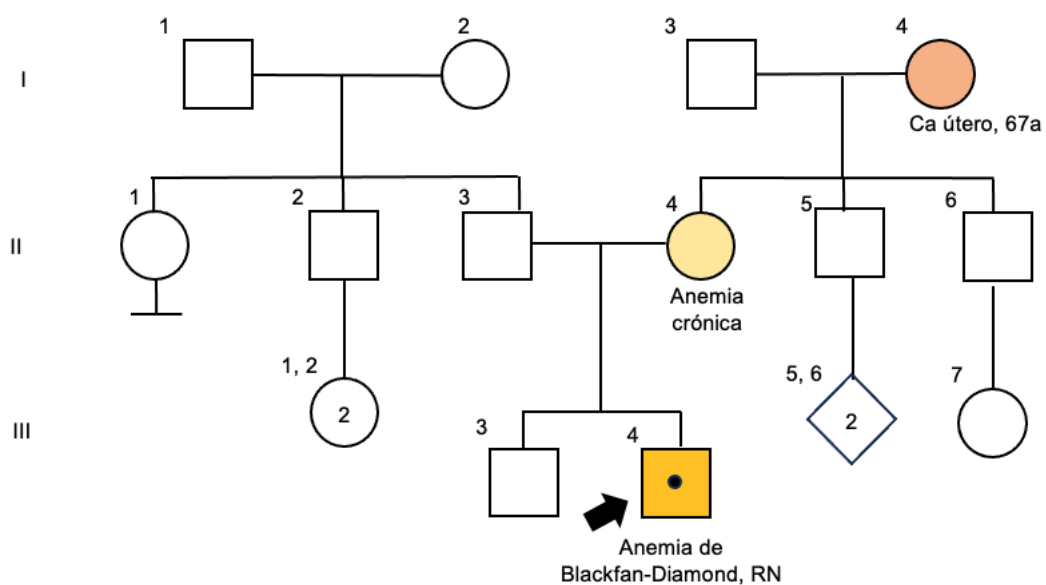


Figura 22. Imagen obtenida mediante array genómico, que muestra una delección de genes contiguos en heterocigosis, incluyendo el gen *RPS17*.

Segregación familiar: La familia no se ha realizado el estudio de segregación.

Evolución: el paciente continúa seguimiento en Hematología pediátrica, sin tratamiento.



RN: Recién Nacido

Caso 35

Caso índice: Mujer de 16 años con eritroblastopenia congénita.

Antecedentes personales: riñón ectópico. Tratamiento de la anemia: la paciente precisó transfusión de hematíes en el periodo neonatal. Estuvo en tratamiento con corticoides hasta los 3 años, consiguiendo una estabilización de la hemoglobina. Desde entonces, sin repercusión en sangre periférica, salvo un aumento de VCM y de la hemoglobina fetal (7,6%).

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 13,3g/dL, VCM 100fL, leucocitos 6.700/mm³, plaquetas 221.000/mm³.
- Médula ósea: hipoplasia eritroide medular, con normalidad del resto de series. Sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

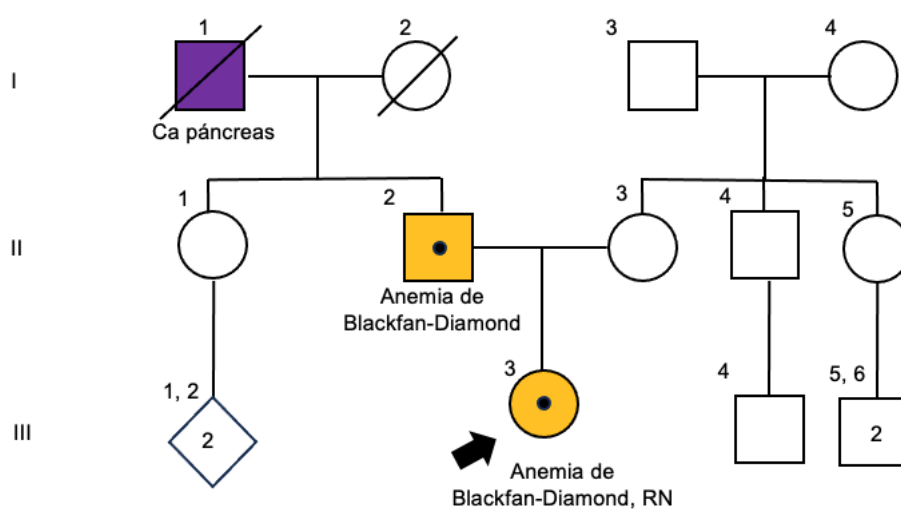
Resultado: *RPS19* (NM_001022): c.3G>T; p.Met1Ile (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo II.2 es portador de la variante, enfermo de anemia de Blackfan-Diamond en la infancia.
- El individuo II.3 no es portador de la variante.

Evolución: desde los 3 años, la paciente se mantiene estable, en seguimiento por Hematología y sin ningún tratamiento.

Seguimiento de familiares: el individuo II.2 presentó anemia hasta los 6 años. Posteriormente, se recuperó de forma espontánea. En la actualidad, no lleva seguimiento por Hematología.



RN: Recién Nacido

Caso 36

Caso índice: Varón de 23 años con anemia congénita.

Antecedentes personales: manchas acrómicas dispersas en el tronco y una mancha café con leche en la espalda. Tratamiento de la anemia: en el periodo neonatal, el paciente precisó transfusión de hematíes e inició corticoterapia a los 6 meses. Aunque se ha intentado en varias ocasiones su retirada, no ha sido posible (cortico-dependencia).

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 11,8g/dL, VCM 108fL, leucocitos 5.600/mm³, plaquetas 395.000/mm³.
- Médula ósea: hipoplasia de la serie eritroide, sin signos displásicos ni incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí.

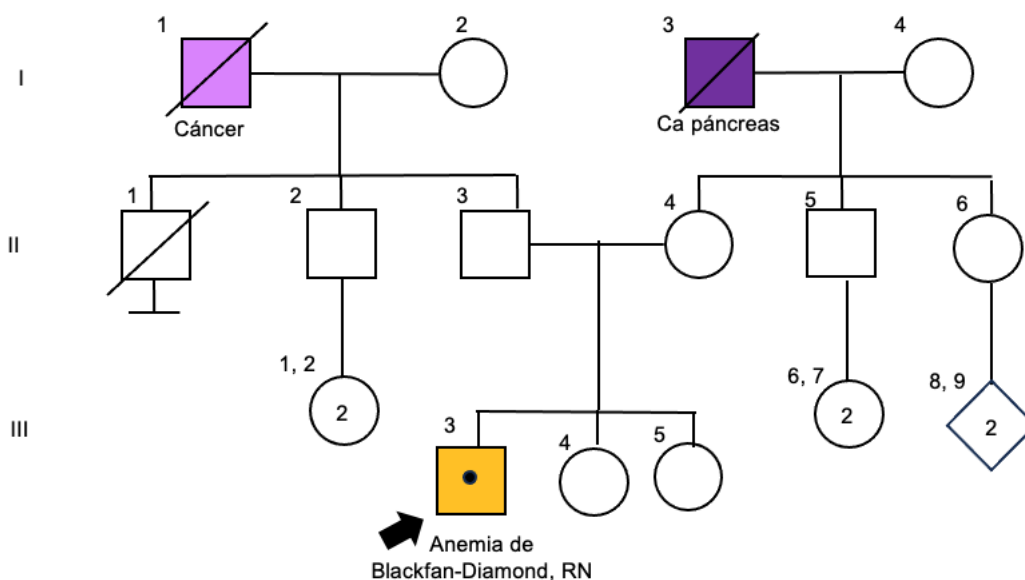
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: RPS26 (NM_001029): c.3+1G>A (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.3 y II.4 no son portadores de la variante, por lo que se confirma su origen *de novo* en el paciente.

Evolución: El paciente continúa en seguimiento por Hematología y en tratamiento con corticoides a dosis bajas.



RN: Recién Nacido

Síndrome de insuficiencia medular: Síndrome de Shwachman-Diamond

Caso 37

Caso índice: Varón de 16 años con sospecha clínica de Síndrome de Shwachman-Diamond (diagnosticado en la infancia).

Antecedentes personales: insuficiencia pancreática, esplenomegalia, infecciones de repetición en tratamiento con G-CSF crónico 3x semana (si se retrasa en la medicación: Ne $300/\text{mm}^3$), trombocitopenia.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 14g/dL, VCM 100fL, leucocitos $15.700/\text{mm}^3$ (Ne $6.700/\text{mm}^3$), plaquetas $68.000/\text{mm}^3$.
- Médula ósea: celularidad aumentada, sin signos displásicos. No incremento de blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: *IDH1*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

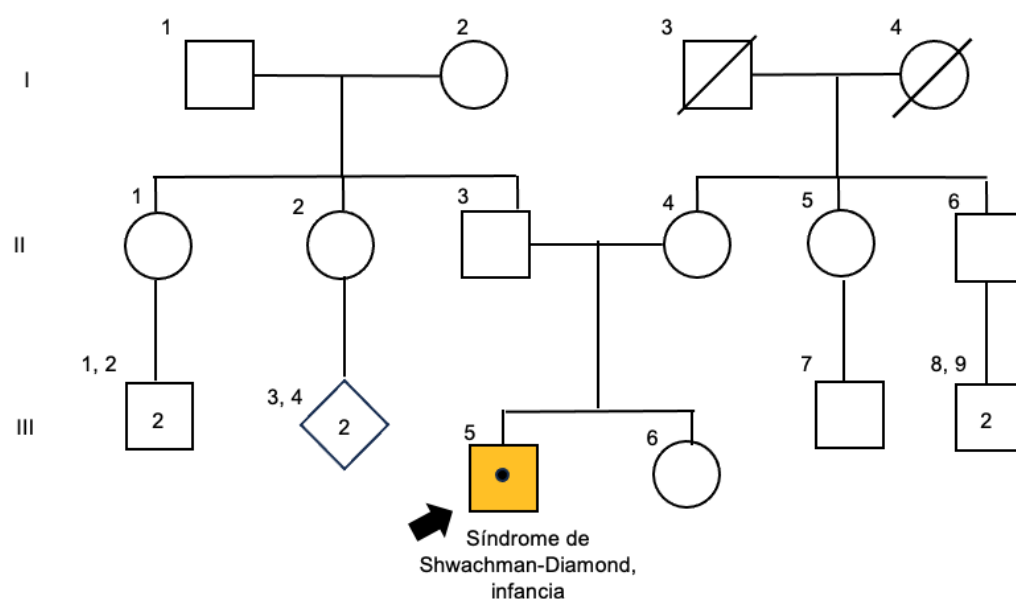
Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: SBDS (NM_016038) (heterocigosis compuesta):

- V1: c.258+2T>C .
- V2: Delección del exón 2.

Segregación familiar: La familia no se ha realizado el estudio de segregación.

Evolución: El paciente se encuentra en seguimiento por Hematología, donde continúa tratamiento con G-CSF crónico (3 x semana). Se está llevando a cabo un control estrecho con aspirado de médula ósea, citogenética y NGS anual. De momento, no tiene indicación de alo-TPH.



Rasopatías: Síndrome de Noonan**Caso 38**

Caso índice: Varón de 37 años con pancitopenia leve y esplenomegalia.

Antecedentes personales: pancitopenia leve y esplenomegalia desde hace, al menos, 20 años. Facies triangular, frente grande, talla corta y cabello rizado.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 12,5g/dL, VCM 90fL, leucocitos 3.000/mm³ (Ne 1.400/mm³), plaquetas 85,000/mm³.
- Médula ósea: ND.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

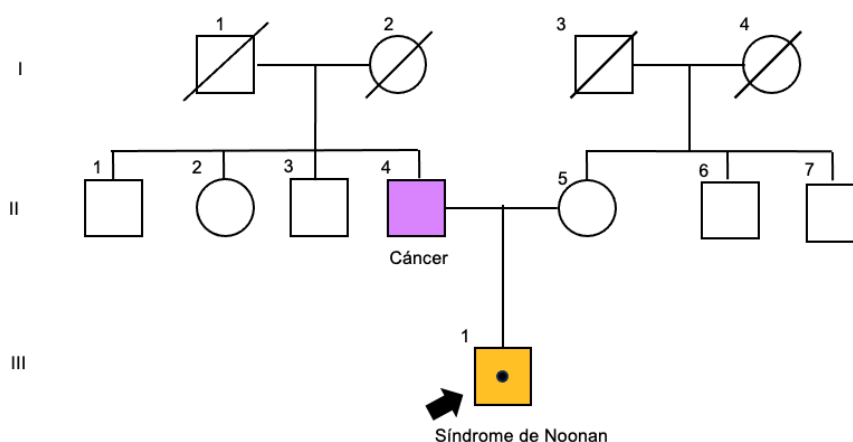
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica.

Resultado: *PTPN11* (NM_002834): c.923A>G; p.Asn308Ser (heterocigosis).

Segregación familiar: la familia está pendiente del estudio de segregación familiar.

Evolución: el paciente se encuentra en seguimiento por Hematología, sin ningún tratamiento activo. Ha iniciado controles en Cardiología.



Categoría 4: Síndromes de predisposición pan-cáncer

Alteración germinal en *ATM*

Caso 39

Caso índice: Varón de 59 años con LMA-t (tipo: secundaria a terapia).

Antecedentes personales: adenocarcinoma de próstata con 57 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 8,5g/dL, VCM 92fL, leucocitos 127.490/mm³, plaquetas 83.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos y 94% blastos.
- Cariotipo: 46,XY[20].
- Molecular somática: *IDH1*, *NPM1*, *PTPN11*.

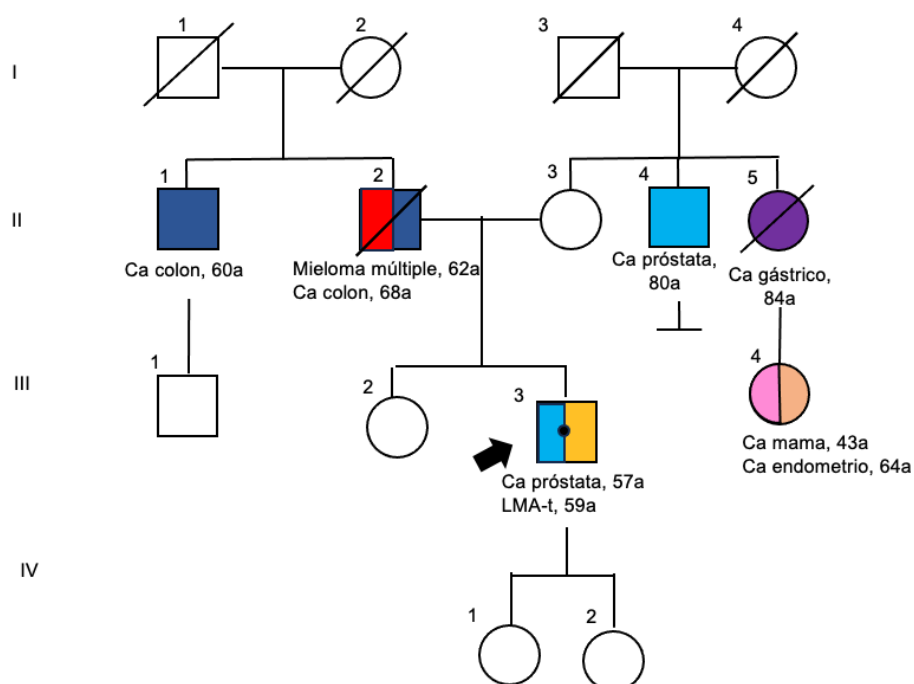
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: *ATM* (NM_000051): c.4452_4462delGGATGTGTCAT; p.Met1484Ilefs*3 (heterocigosis).

Segregación familiar: pendiente de estudio de segregación en la Unidad de Consejo Genético del Cáncer (CGC).

Evolución: el paciente fue trasplantado de su hermana HLA-idéntica (estado de portador desconocido), encontrándose actualmente en respuesta completa. Además, continúa seguimiento por Oncología y fue derivado a la Unidad de CGC, donde se realiza una prueba de imagen pancreática y/o endoscopia anualmente.



LMA-t: Leucemia Mieloblástica Aguda relacionada con la terapia

Caso 40

Caso índice: Mujer de 58 años con SMD-t (tipo: EB-1, secundario a terapia).

Antecedentes personales: LMA con 47 años (tipo: t(8;21)).

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 11g/dL, VCM ND, leucocitos 2.220/mm³, plaquetas 111.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad y morfología ND, 7% blastos.
- Cariotipo: complejo.
- Molecular somática: *ASXL1*.

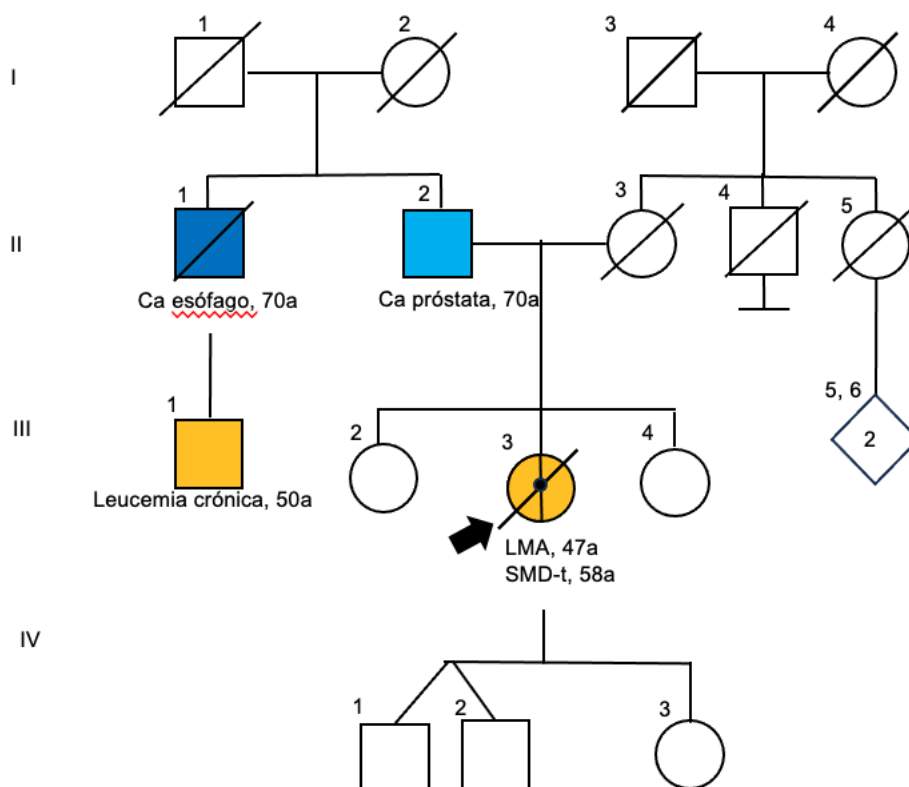
Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

Resultado: *ATM* (NM_000051): c.7456C>T; p.Arg2486* (heterocigosis).

Segregación familiar: la paciente falleció antes de conocer el resultado, por lo que éste no se comunicó a su familia inicialmente.

Evolución: la paciente recibió un trasplante de su hermana HLA-idéntica (estado de portador desconocido). Como principales complicaciones tras el trasplante, la paciente presentó un cuadro de EICR aguda intestinal y un shock séptico que causaron su fallecimiento.



LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda; SMD-t: Síndrome Mielodisplásico relacionado con la terapia

Alteración germinal en *BRCA1/2***Caso 41**

Caso índice: Mujer de 58 años con LMA-t (tipo: LMA con translocación (10;11), secundaria a terapia).

Antecedentes personales: adenocarcinoma de ovario con 54 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,2g/dL, VCM 118,2fL, leucocitos 3.090/mm³, plaquetas 281.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad aumentada, con signos displásicos y 76% blastos.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: reordenamiento *KMT2A::MLLT10* (*MLL::AF10*).

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: sangre periférica (el estudio se realizó antes del diagnóstico de la leucemia).

Resultado: *BRCA1* (NM_007294): c.2527del; p.Thr843Glnfs*3 (heterocigosis).

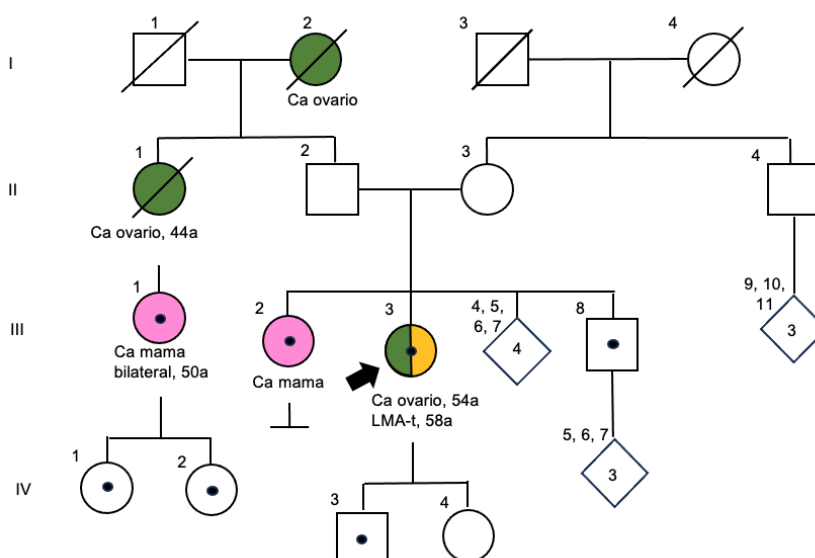
Segregación familiar:

- Los individuos III.1, III.2, III.8, IV.1, IV.2, IV.3 son portadores de la variante.
- Los individuos III.4, III.5, III.6, III.7 y IV.4 no son portadores de la variante.
- El resto de los familiares no se ha realizado el estudio de segregación.

Evolución: la paciente recibió un trasplante de médula ósea de su hermano HLA-idéntico (portador de mutación en *BRCA1*), encontrándose actualmente en respuesta completa. También se encuentra en respuesta completa de su neoplasia de ovario, para la que ha recibido un inhibidor de *PARP* de mantenimiento (Niraparib). Además, continúa seguimiento en la Unidad de CGC.

Seguimiento de familiares:

- Los familiares con cáncer (individuos III.1 y III.2) continúan seguimiento en Oncología.
- El resto de los individuos portadores continúan seguimiento en la Unidad de CGC.



LMA-t: Leucemia Mieloblástica Aguda relacionada con la terapia

Caso 42

Caso índice: Mujer de 55 años con LMA-t (tipo: secundaria a terapia).

Antecedentes personales: adenocarcinoma de ovario con 51 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 8,4g/dL, VCM 97,4fL, leucocitos 2.900/mm³, plaquetas 122.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad disminuida, con signos displásicos y 25% blastos.
- Cariotipo: complejo.
- Molecular somática: *TP53*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

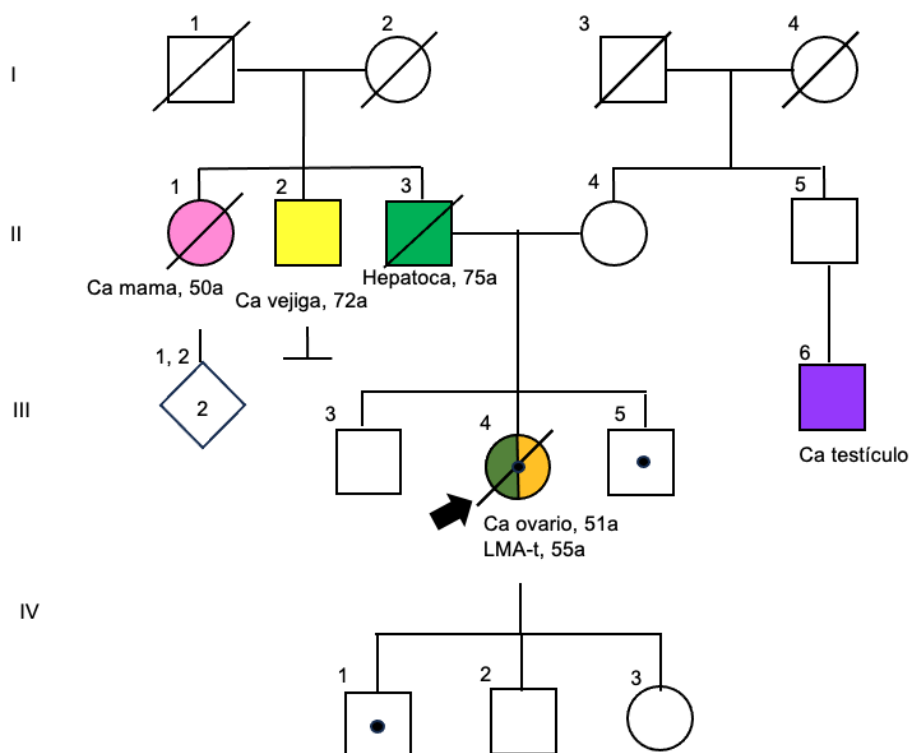
Resultado: *BRCA2* (NM_000059): c.8961_8964delGAGT; p.Ser2988Phefs*12 (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos III.5 y IV.1 son portadores de la mutación.
- Los individuos III.3, IV.2 y IV.3 no son portadores de la mutación.

Evolución: la paciente falleció durante la evolución de su enfermedad debido a una hemorragia cerebral. Había recibido un inhibidor de *PARP* de mantenimiento (Olaparib).

Seguimiento de familiares: Los individuos portadores continúan seguimiento en la Unidad de CGC.



Hepatoca: Hepatocarcinoma; LMA-t: Leucemia Mieloblástica Aguda relacionada con la terapia.

Síndrome de Li Fraumeni-like: alteración germinal en *CHEK2***Caso 43**

Caso índice: Mujer de 67 años con LMA-t (tipo: secundaria a terapia).

Antecedentes personales: adenocarcinoma de ovario con 64 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 9,2g/dL, VCM 107,4fL, leucocitos 3.820/mm³, plaquetas 43.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad normal, con signos displásicos, 65% blastos.
- Cariotipo: 46,XX[20].
- Molecular somática: *BCOR*, *NF1*, *PRPF8*, *RUNX1*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

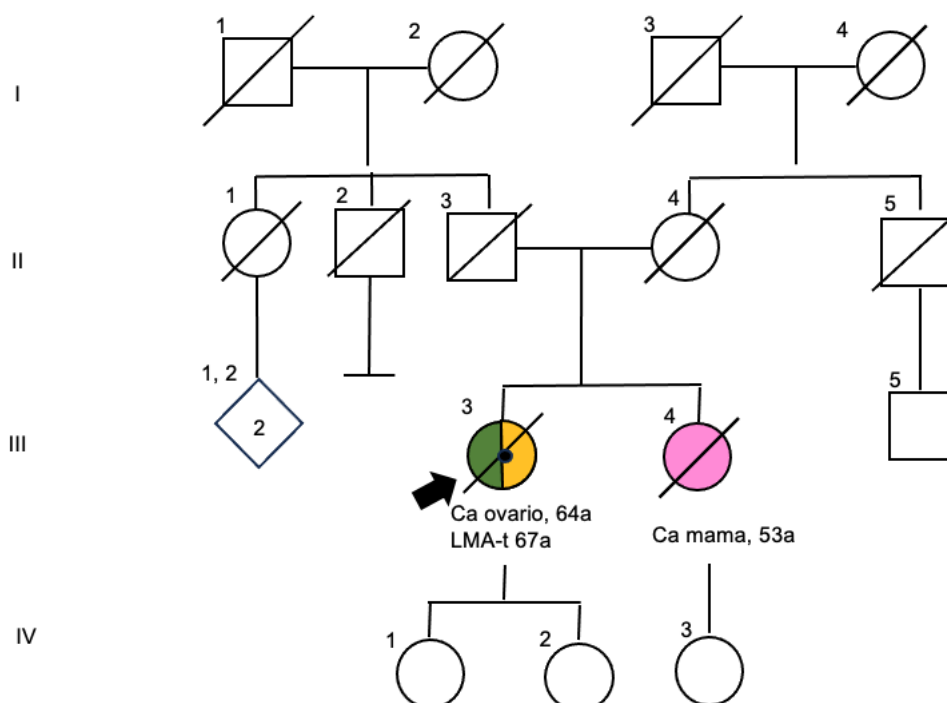
Estudio en línea germinal: selección de linfocitos T CD3⁺.

Resultado: *CHEK2* (NM_007194): c.591delA; p.Val198Phefs*7 (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo III.4 falleció antes de realizarse el estudio genético y no había muestra disponible para confirmar la variante.
- El resto de los familiares está pendiente del estudio de segregación en la Unidad de CGC.

Evolución: la paciente falleció por progresión de su enfermedad hematológica.



LMA-t: Leucemia Mieloblástica Aguda relacionada con la terapia.

Caso 44

Caso índice: Mujer de 62 años con SMD (tipo: EB-2).

Antecedentes personales: No.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 10,1g/dL, VCM ND, leucocitos 6.700/mm³, plaquetas 181.000/mm³.
- Médula ósea: ND.
- Cariotipo: complejo.
- Molecular somática: *CBL*.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

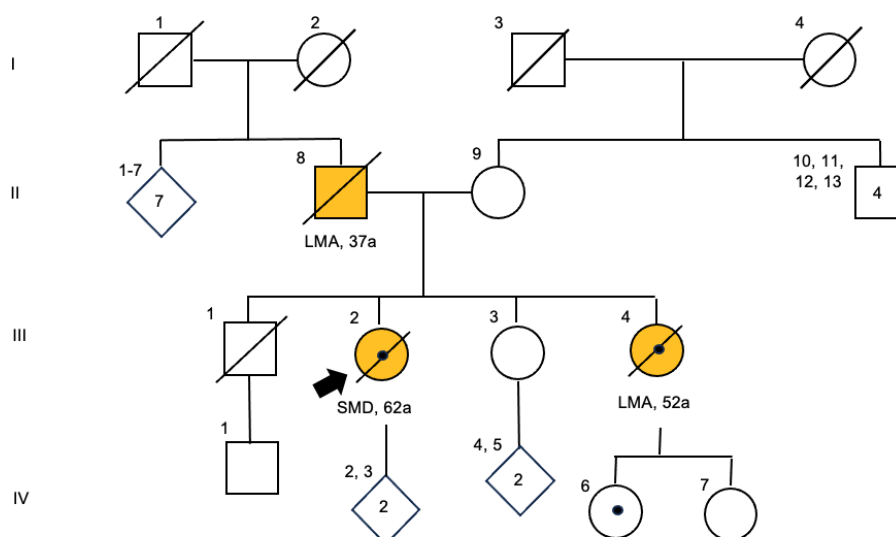
Resultado: *CHEK2* (NM_007194): c.349A>G; p.Arg117Gly (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo III.4 era portador de la variante (fallecida por LMA en recaída post alo-TPH). El individuo IV.6 también es portador de la variante (fue la donante de progenitores hematopoyéticos de su madre).
- Los individuos IV.2 y IV.3 no son portadores de la variante.
- El individuo II.8 falleció por LMA antes de realizarse el estudio genético y no había muestra disponible para confirmar la variante.
- El resto de los familiares está pendiente del estudio de segregación en la Unidad de CGC.

Evolución: la paciente fue trasplantada de un donante no emparentado HLA-idéntico, encontrándose en respuesta completa en su última visita. Ha fallecido recientemente por causas desconocidas. Por otra parte, la paciente había iniciado un seguimiento en la Unidad de CGC tanto para cáncer de mama como para cáncer de colon.

Seguimiento de familiares: los individuos portadores continúan seguimiento en la Unidad de CGC.



LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda; SMD: Síndrome Mielodisplásico

Categoría 5: Otros síndromes de predisposición a neoplasias hematológicas

Leucemia aguda linfoblástica con mutación germinal en PAX5

Caso 45

Caso índice: Varón de 20 años con antecedente de leucemia linfoblástica aguda de estirpe B (LLA-B) diagnosticada con 3 años.

Antecedentes personales: LLA-B diagnosticada con 3 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: ND.
- Médula ósea: ND.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: ND.

Árbol familiar: ver pedigrí

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

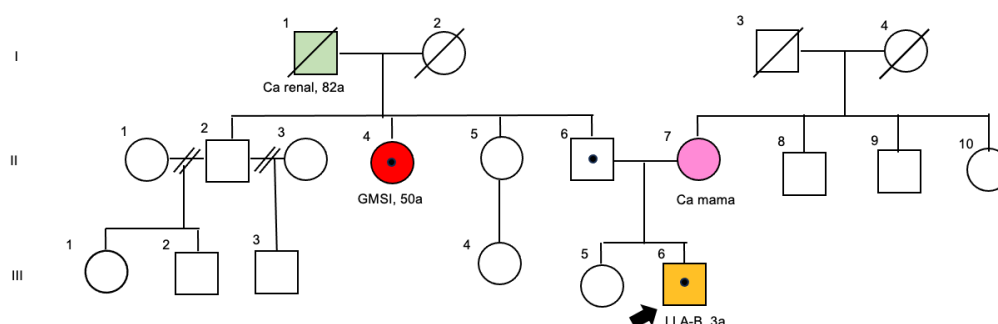
Resultado: PAX5 (NM_016734): c.101C>G; p.Pro34Arg (heterocigosis).

Segregación familiar:

- Los individuos II.4 y II.6 son portadores de la variante.
- Los individuos II.5 y II.7 no son portadores de la variante.
- El resto de la familia no se ha realizado el estudio genético.

Evolución: el paciente recibió quimioterapia para su enfermedad de base en 2005. En 2007 presentó una recaída en sistema nervioso central, por lo que fue necesario administrar de nuevo quimioterapia, radioterapia y se realizó un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Desde entonces, se encuentra en respuesta completa.

Seguimiento de familiares: el individuo II.4 lleva un control anual en Hematología por su GMSI. Aunque el individuo II.6 inició un control con hemograma anual en nuestra Unidad, actualmente se ha decidido no continuar ante la falta de datos clínicos que apoyen el beneficio en el seguimiento de estos individuos.



GMSI: Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto; LLA-B: Leucemia Linfoblástica Aguda-B

Predisposición a neoplasias mieloproliferativas crónicas

Caso 46

Caso índice: Mujer de 63 años con diagnóstico de trombocitemia esencial.

Antecedentes personales: trombocitemia esencial diagnosticada con 61 años.

Datos analíticos de su enfermedad hematológica:

- Sangre periférica: Hb 14,4g/dL, leucocitos 5.380/mm³, plaquetas 517.000/mm³.
- Médula ósea: celularidad normal, sin signos displásicos ni blastos. Biopsia de médula ósea diagnóstica de trombocitemia esencial.
- Cariotipo: ND.
- Molecular somática: no.

Árbol familiar: ver pedigrí.

Estudio en línea germinal: cultivo de fibroblastos cutáneos.

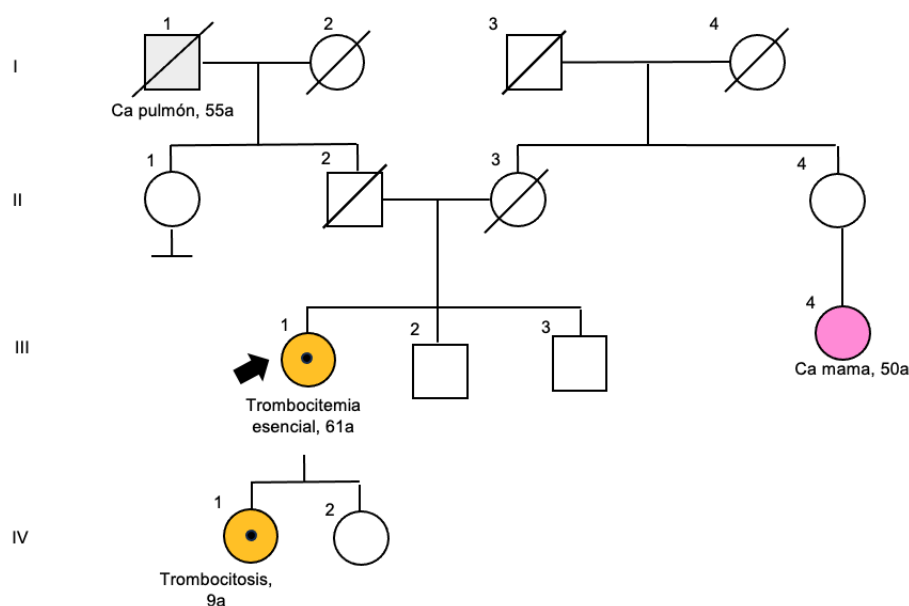
Resultado: JAK2 (NM_004972): c.2984T>C; p.Phe995Ser (heterocigosis).

Segregación familiar:

- El individuo IV.1 es portador de la variante, siendo por tanto enfermo.
- El individuo IV.2 no es portador de la variante.

Evolución: la paciente continúa seguimiento anual en Hematología.

Seguimiento de familiares: el individuo IV.1, que presenta trombocitosis desde los 9 años, fue estudiado cuando tenía 15 años. Tras descartar alteraciones en un estudio de médula ósea, fue dado de alta. Actualmente, tiene 42 años y ha retomado un seguimiento anual por Hematología para vigilancia de su trombocitosis. Por el momento, sólo se realiza hemogramas.



5.6. CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE CONSECUTIVA: EVALUACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SOSPECHA

Como se ha mencionado anteriormente, este subgrupo incluyó a 188 pacientes con diagnóstico hematológico (LMA, SMD o IM) realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe entre 1986 y 2022. Todos ellos fueron reclutados consecutivamente en la CGH/LGH durante el periodo 2017-2022 para la realización de un estudio genético en línea germinal, sin tener en cuenta criterios de sospecha de NHHs. Las principales características demográficas y clínicas de estos pacientes se presentan en la **Tabla 21**.

Tabla 21. Características demográficas y clínicas de los pacientes en la serie consecutiva.

Características demográficas y clínicas	Pacientes n= 188 (%)
Edad al debut (años: mediana, rango)	55 (2-80)
Sexo (masculino/femenino)	96/92
LMA (OMS 2016)	107 (57)
LMA con alteraciones genéticas recurrentes	37 (34)
• LMA con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB::MYH11</i>	n= 5
• LMA con t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3::KMT2A</i>	n= 5
• LMA con t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK::NUP214</i>	n= 1
• LMA con inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2::MECOM</i>	n= 1
• LMA con <i>NPM1</i> mutado	n= 22
• LMA con mutaciones bialélicas en <i>CEBPA</i>	n= 2
• Entidad provisional: LMA con <i>RUNX1</i> mutado	n=1
LMA con cambios relacionados con la mielodisplasia	20 (19)
Neoplasias mieloides relacionadas con la terapia	17 (16)
LMA, NOS	32 (30)
Sarcoma mieloide	1 (1)
SMD (OMS 2016)	59 (31)
SMD con displasia unilínea	1 (2)
SMD con sideroblastos en anillo y displasia multilínea	5 (8)
SMD con displasia multilínea	13 (22)
SMD con exceso de blastos	31 (53)
SMD con del(5q) aislada	2 (3)
Leucemia mielomonocítica crónica	7 (12)
IM	22 (12)
No Grave	11 (50)
Grave	11 (50)

LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda; NOS: no especificado (del inglés, *Not Otherwise Specified*); SMD: Síndrome Mielodisplásico; IM: Insuficiencia Medular.

En el análisis germinal realizado a estos 188 pacientes, se identificaron alteraciones genéticas causantes de una NHH en 17 de ellos. Teniendo en cuenta que estos pacientes fueron incluidos de forma consecutiva, se pudo determinar que la incidencia de NHH en nuestra serie fue del 9%. Los genes afectados fueron los siguientes: *ATM* (n= 2), *BRCA1* (n= 1), *BRCA2* (n= 1), *CHEK2* (n= 2), *DDX41* (n= 3), *GATA2* (n= 2), *RPL5* (n= 1), *RTEL1* (n= 1), *RUNX1* (n= 1), *SAMD9* (n= 2) y *TP53* (n= 1).

Con el objetivo de evaluar la validez de los criterios utilizados para la derivación de pacientes a la CGH (**Tabla 11 del apartado Material y Métodos**), se analizaron las siguientes variables en los pacientes de la serie consecutiva: edad al debut de la enfermedad mieloide, antecedentes personales de citopenias, signos y síntomas relacionados con NHHs, antecedentes personales onco-hematológicos, antecedentes familiares onco-hematológicos y hallazgos somáticos al diagnóstico de la patología mieloide. A continuación, se detalla cada uno de ellos.

5.6.1. Edad al debut de la enfermedad mieloide

Tal y como se ha indicado en la **Tabla 21**, la mediana de edad al debut de la enfermedad mieloide en la serie consecutiva fue de 55 años (rango 2-80). Si consideramos como umbral los 40 años, 44 (23%) pacientes de la serie consecutiva fueron diagnosticados antes de esa edad, mientras que 144 (77%) presentaron la enfermedad después de los 40 años. De los 44 pacientes menores de 40 años, 4 fueron diagnosticados con NHH y 40 no. En contraste, de los 144 pacientes mayores de 40 años, 13 fueron diagnosticados con NHH y 131 no.

Tras realizar un análisis comparativo, no se detectó una asociación significativa entre los pacientes que habían presentado la enfermedad mieloide antes de los 40 años y la existencia de una mutación de origen germinal ($p = 1$).

5.6.2. Antecedentes personales de citopenias

Para evaluar este criterio, se incluyó únicamente a los pacientes con diagnóstico de SMD o LMA (n = 166) que presentaron citopenias durante, al menos, 5 años antes del diagnóstico de su enfermedad mieloide, excluyendo aquellos con anemia ferropénica.

En total, 6 (4%) pacientes presentaron citopenias, aunque ninguno de ellos fue diagnosticado con NHH. Ninguno de los 160 (96%) pacientes restantes presentó citopenias antes del diagnóstico, de los cuales 15 fueron diagnosticados con NHH.

Tras realizar un análisis comparativo, no se encontró una asociación significativa entre la presencia de citopenias previas al diagnóstico de SMD/LMA y la existencia de una mutación de origen germinal ($p = 1$).

5.6.3. Signos y síntomas relacionados con NHHs

Para evaluar este criterio, se consideraron los resultados obtenidos a partir del cuestionario de *screening* descrito por Desai *et al.*²²⁵, tal como se detalla en el apartado de Material y Métodos. En total, 11 (6%) pacientes presentaron algún cuadro relacionado con un síndrome de predisposición germinal. Los cuadros detectados fueron: enfermedad agresiva por VPH, complicaciones infecciosas graves y linfedema (n = 1); estatura baja (n = 1); fibrosis pulmonar (n = 5); distrofia ungueal (n = 1); polidactilia, macrocefalia y déficit intelectual (n = 1) y déficit intelectual aislado (n = 2).

De estos 11 pacientes, 4 (36%) fueron diagnosticados con una NHH, afectando a los genes *GATA2* (enfermedad agresiva por VPH, complicaciones infecciosas graves y linfedema), *CHEK2* (estatura baja), *RTEL1* (distrofia ungueal) y *RPL5* (polidactilia, macrocefalia y déficit intelectual).

Por el contrario, no se detectaron alteraciones relacionadas con síndromes de predisposición germinal en 177 (94%) pacientes, de los cuales 13 (7%) fueron diagnosticados con NHH.

Tras realizar un análisis comparativo, se encontró una asociación significativa entre la presencia de signos y síntomas relacionados con NHH y la existencia de una mutación de origen germinal ($p = 0,01$).

5.6.4. Antecedentes personales onco-hematológicos

Treinta y ocho pacientes de la serie consecutiva (38/188, 20%) fueron diagnosticados con más de una neoplasia independiente, es decir, habían tenido tumores originados a partir de diferentes tejidos, siendo al menos uno de ellos de estirpe mieloide (SMD o LMA). En nueve de ellos (23,7%) se identificaron mutaciones germinales, siendo *ATM* el gen más frecuentemente mutado ($n = 2$). Las demás mutaciones afectaron a los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *DDX41*, *GATA2*, *SAMD9* y *TP53*. En el 100% de estos pacientes, la enfermedad mieloide fue SMD o LMA.

Por otro lado, los restantes 150 pacientes de la serie consecutiva (150/188, 80%) presentaron una enfermedad mieloide aislada (SMD, LMA o insuficiencia medular). En este grupo, se detectaron mutaciones germinales en 8 casos (5,3%).

Tras realizar un análisis comparativo, se detectó una asociación significativa entre los pacientes que habían presentado >1 neoplasia independiente y la existencia de una mutación de origen germinal ($p = 0,002$). En la **Figura 23**, se resumen estos hallazgos.

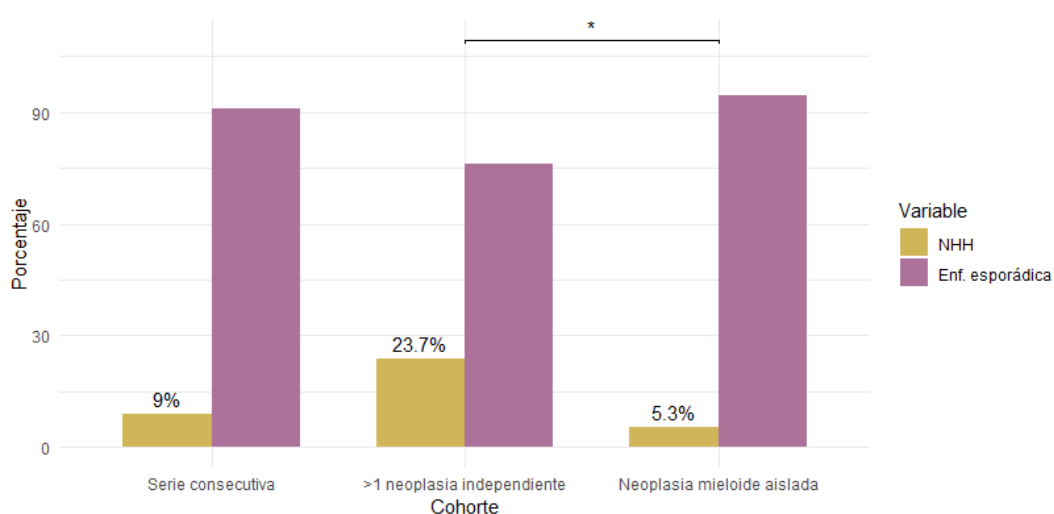


Figura 23. Análisis comparativo de NHH entre pacientes con >1 neoplasia independiente y pacientes con una neoplasia/enfermedad mieloide aislada.

NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria; Enf. esporádica: Enfermedad esporádica.

A continuación, se realizó una caracterización demográfica y clínica de los 38 pacientes con más de una neoplasia independiente en la serie consecutiva (**Tabla 22**). De éstos, 9 (23,7%) presentaban una NHH y 29 (76,3%) una enfermedad esporádica (Tabla 18). El 63% de los pacientes eran mujeres, sin diferencias significativas entre los grupos de NHH y enfermedad esporádica. La mediana de edad al diagnóstico del primer cáncer fue de 55 años (rango: 22-77 años), sin diferencias significativas entre ambos grupos. En cuanto a la neoplasia mieloide, la mediana de edad al diagnóstico fue de 63 años (rango: 22-76 años), observándose una diferencia significativa: los pacientes con NHH desarrollaron la neoplasia mieloide a una edad más temprana que aquellos con enfermedad esporádica (58 vs. 64 años, $p = 0,02$).

Al analizar en detalle la mediana de edad al diagnóstico, se observó que los pacientes con más de una neoplasia independiente tuvieron una edad significativamente mayor al inicio de la enfermedad mieloide en comparación con los pacientes con SMD o LMA aislados ($p < 0,001$). Este análisis excluyó a los pacientes con insuficiencia medular. La diferencia se mantuvo significativa tanto en los casos con NHH como en los de enfermedad esporádica ($p < 0,001$ en ambos grupos).

En relación con la distribución histológica del primer cáncer, los tipos más frecuentes fueron de estirpe linfóide, seguido por los de mama y ovario. Se encontró una diferencia significativa en los casos de cáncer de ovario, con una mayor prevalencia en pacientes con NHH en comparación con aquellos con enfermedad esporádica ($p = 0,007$).

De los 38 pacientes, 28 (74%) presentaron dos neoplasias, 8 (21%) tuvieron tres y 2 (5%) fueron diagnosticados con cuatro neoplasias. No se encontraron diferencias en la frecuencia de variantes patogénicas germinales entre los pacientes con dos neoplasias frente a aquellos con tres o más (21,4% vs. 30%, $p = 0,9092$).

Tabla 22. Características demográficas y clínicas de pacientes con más de una neoplasia independiente dentro de la serie consecutiva.

Características demográficas y clínicas	Total (n= 38)	NHH (n= 9)	Enf. Esporádica (n= 29)	p valor
Sexo (masculino/femenino)	14/24	3/6	11/18	1
Edad al diagnóstico del primer cáncer (años: mediana, rango)	55 (22-77)	54 (22-65)	59 (30-77)	0,10
Edad al diagnóstico de la neoplasia mieloide (años: mediana, rango)	63 (22-76)	58 (22-73)	64 (51-76)	0,02
Latencia entre el primer y segundo cáncer (años; mediana)	5	4	5	0,53
Primer cáncer				
Linfoide	7 (19%)	0 (0%)	7 (24%)	0,16
Mama	6 (16%)	0 (0%)	6 (21%)	0,30
Ovario	5 (13%)	4 (44%)	1 (3%)	0,007
Vejiga	4 (10%)	1 (12%)	3 (10%)	1
Mieloide	4 (10%)	2 (22%)	2 (7%)	0,23
Otros	12 (32%)	2 (22%)	10 (35%)	0,68
Segundo cáncer				
Mieloide	30 (79%)	7 (78%)	23 (80%)	1
Linfoide	3 (8%)	1 (11%)	2 (7%)	1
Próstata	2 (5%)	1 (11%)	1 (3%)	0,42
Otros	3 (8%)	0 (0%)	3 (10%)	1
Tercer cáncer				

Mieloide	5 (13%)	0 (0%)	5 (17%)	0,31
Otros	5 (13%)	3 (33%)	2 (7%)	0,07
Cuarto cáncer				
Mieloide	2 (5%)	1 (11%)	1 (3%)	0,42

NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria; Enf. Esporádica: enfermedad esporádica.

Para descartar una posible relación causal entre la terapia citotóxica y las neoplasias potencialmente relacionadas con la terapia, así como para evaluar la asociación de mutaciones germinales en estos casos, dividimos en dos grupos a los 38 pacientes diagnosticados con más de una neoplasia independiente. El primer grupo incluyó a los pacientes que habían sido diagnosticados previamente con una neoplasia sin haber recibido tratamiento citotóxico (por ejemplo, una neoplasia de colon intervenida quirúrgicamente) o aquéllos que desarrollaron la segunda neoplasia después de la enfermedad mieloide (denominados neoplasia mieloide multi-cáncer, NM-MC; $n=13$). El segundo grupo estuvo compuesto por aquéllos que desarrollaron una neoplasia mieloide después de haber recibido quimio o radioterapia (neoplasia mieloide relacionada con la terapia, NM-t; $n=25$). En la **Figura 24**, se presenta la distribución de alteraciones germinales responsables de una NHH en pacientes con NM-MC y NM-t. Tras comparar la prevalencia de mutaciones germinales en los dos grupos, no se detectó una diferencia significativa ($p = 1$).

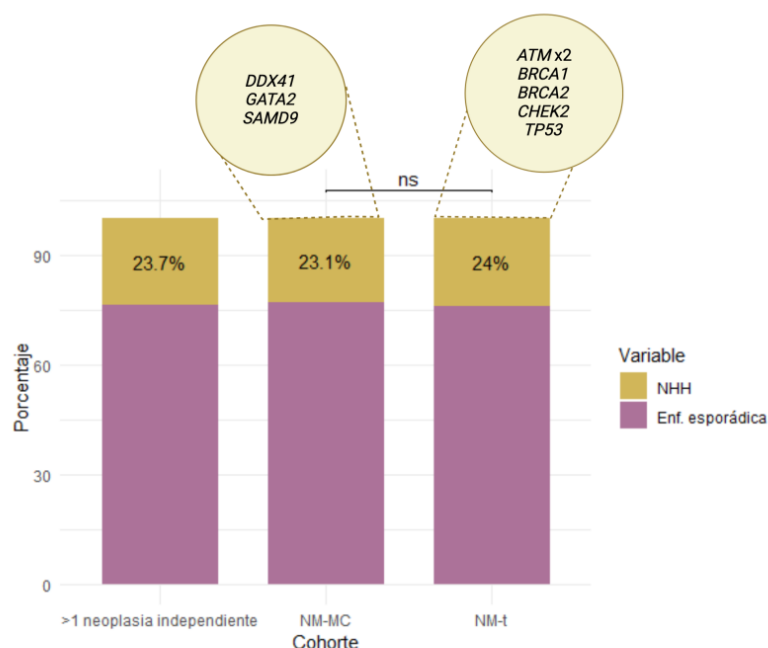


Figura 24. Distribución de genes responsables de una NHH en los pacientes con neoplasia mieloide multi cáncer (NM-MC) y neoplasia mieloide relacionada con la terapia (NM-t).

ns: no significativo; NM-MC: Neoplasia Mieloide-Multi Cáncer; NM-t: Neoplasia Mieloide relacionada con la terapia; NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria. Enf. Esporádica: enfermedad esporádica.

Cuando se compararon los antecedentes oncológicos (ninguno vs. NM-MC vs. NM-t) entre los pacientes con una NHH y los pacientes con enfermedad esporádica, se observó que había una asociación significativa entre tener >1 neoplasia independiente (NM-MC y NM-t) y presentar una NHH (**Tabla 23**) ($p = 0,002$). Posteriormente, se evaluaron las comparaciones individuales entre cada grupo, observándose que los pacientes con una NM-t mantenían un efecto significativo respecto a los que no habían recibido este tratamiento ($p = 0,01$).

Tabla 23. Antecedentes oncológicos en pacientes con una NHH vs. enfermedad esporádica.

Antecedentes oncológicos	NHH (n=17)	Enf. esporádica (n= 171)	p valor
No	8 (47)	142 (83)	0,002
NM-MC	3 (18)	10 (6)	
NM-t	6 (35)	19 (11)	

NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria; Enf. Esporádica: enfermedad esporádica; NM-t: Neoplasia Mieloide relacionada con la terapia; NM-MC: Neoplasia Mieloide-Multi Cáncer.

5.6.5. Antecedentes familiares onco-hematológicos

En todos los pacientes de la serie consecutiva (n= 188), se recopilaban antecedentes oncohematológicos de familiares de primer y segundo grado. Aunque la mayoría de las personas pudieron proporcionar un historial familiar que abarcaba hasta dos generaciones y conocían diagnósticos de neoplasias sólidas y hematológicas en sus familiares, un menor número de pacientes tenía conocimiento sobre antecedentes de sangrado o diagnósticos de macrocitosis y citopenias en sus parientes. Por este motivo, dichos hallazgos no se incluyeron entre las variables analizadas.

Además, debido al reducido número de sujetos en algunas categorías de antecedentes familiares, se decidió limitar el análisis a los datos que se presentan en la **Tabla 24**. Para evaluar el impacto de este conjunto de variables predictoras en la probabilidad de desarrollar una NHH, se realizó un análisis de regresión logística cuyos resultados se detallan en la **Tabla 25** (A-F).

Tabla 24. Antecedentes familiares de primer grado en la serie consecutiva.

AFPG	NHH (%)	Enf. Esporádica (%)
Neoplasia hematológica (n= 24)	5 (21)	19 (79)
Neoplasia mieloide (n= 11)	3 (27)	8 (73)
Neoplasia sólida (n= 80)	8 (10)	72 (90)
Neoplasia sólida <50 años (n= 24)	2 (8)	22 (92)
No AFPG (n= 96)	7 (7)	89 (93)

AFPG: Antecedentes Familiares de Primer Grado; Enf. Esporádica: Enfermedad Esporádica.

Tabla 25. Modelo de regresión logística para evaluar el efecto de los antecedentes familiares de primer grado en la probabilidad de desarrollar una NHH.

Variable predictora	OR (IC 95%)	p valor
A		
AFPG neo hematológica	2,85 (1,32-6,54)	0,0093
AFPG neo sólida	0,72 (0,4-1,32)	0,3001
B		
AFPG neo mieloide	3,59 (1,27-12,33)	0,0239
AFPG neo sólida	0,84 (0,46-1,54)	0,5868
C		
AFPG neo hematológica	2,83 (1,31-6,47)	0,0098
AFPG neo sólida <50 años	0,74 (0,29-1,84)	0,51971
D		
AFPG neo mieloide	3,69 (1,3-12,63)	0,0207
AFPG neo sólida <50 años	0,89 (0,36-2,2)	0,8109
E		

AFPG neo hematológica	1,93 (0,68-5,9)	0,221
AFPG neo mieloide	2,06 (0,48-9,45)	0,332
F		
AFPG neo sólida	0,77 (0,4-1,49)	0,448
AFPG neo sólida <50 años	0,92 (0,34-2,51)	0,882

A) AFPG neo hematológica vs. AFPG neo sólida; **B)** AFPG neo mieloide vs. AFPG neo sólida; **C)** AFPG neo hematológica vs. AFPG neo sólida <50 años; **D)** AFPG neo mieloide vs. AFPG neo sólida <50 años; **E)** AFPG neo hematológica vs. AFPG neo mieloide; **F)** AFPG neo sólida vs. AFPG neo sólida <50 años. OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confianza; AFPG: Antecedentes Familiares de Primer Grado; neo: neoplasia.

En resumen, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los antecedentes familiares de primer grado (AFPG) de neoplasias hematológicas y mieloides con el desarrollo de NHH. Por otro lado, no se observó una asociación significativa entre la presencia de NHH y los AFPG de cáncer sólido.

5.6.6. Alteraciones somáticas adquiridas

En un total de 168 pacientes (89%) de la serie consecutiva (100 con LMA, 56 con SMD y 12 con IM), se encontraban disponibles las alteraciones somáticas tipo SNVs detectadas al diagnóstico de su enfermedad de base. De éstos, 146 pacientes presentaron al menos una SNV, distribuyéndose en 97 pacientes con LMA y 49 con SMD. En conjunto, se identificaron 448 SNVs, con una mediana de frecuencia alélica (VAF) del 19% (rango: 2-89%).

El análisis estadístico no reveló ninguna agrupación significativa entre un patrón específico de alteraciones moleculares y el tipo de enfermedad mieloide (germinal o esporádica) (**Figura 25**).

Por otro lado, las alteraciones estructurales estuvieron disponibles en 175 pacientes (93%) de la serie consecutiva (104 con LMA, 56 con SMD y 15 con IM). En total, 90 pacientes presentaron alteraciones en el cariotipo, distribuyéndose en 63 pacientes con LMA y 27 con SMD. La **Tabla 26** muestra la distribución de estas alteraciones en pacientes con una neoplasia hematológica hereditaria (NHH) en comparación con aquéllos con una enfermedad esporádica. Aunque no se observó una asociación estadísticamente significativa, el cariotipo complejo fue más frecuente en pacientes con una NHH (29% vs. 11%, $p = 0,056$).

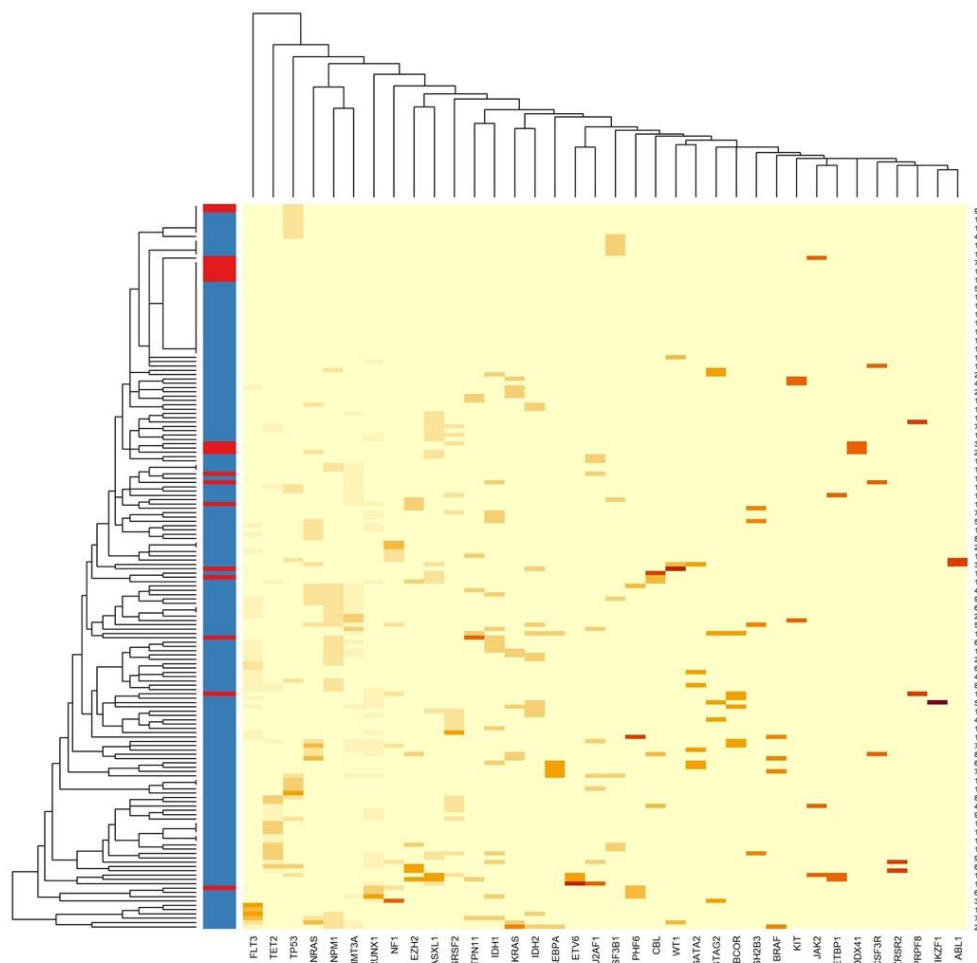


Figura 25. Heatmap de alteraciones somáticas.

Cada fila representa un paciente y cada columna un gen. Las áreas oscuras muestran una mayor interacción entre genes y pacientes. En el dendrograma situado a la izquierda, se observa la agrupación obtenida por similitud de patrones de mutaciones genéticas. El color rojo identifica los pacientes con Síndrome de Predisposición, y el color azul los pacientes con enfermedad esporádica.

Tabla 26. Distribución de las alteraciones estructurales en la serie consecutiva obtenidas mediante cariotipo convencional o FISH.

Alteración cromosómica	Total (%) (n= 188)	NHH (%) (n= 17)	Enf. esporádica (%) (n= 171)	p valor
Normal	85 (45)	8 (47)	77 (45)	1
Monosomía/delección 7q	15 (8)	1 (6)	14 (8)	1
Delección 5q	8 (4)	1 (6)	7 (4)	0,53
Trisomía 8	13 (7)	0 (0)	13 (8)	0,61
Complejo	25 (13)	5 (29)	20 (11)	0,056
Otro	29 (16)	2 (12)	27 (16)	1

NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria, Enf. Esporádica: enfermedad esporádica.

De forma más detallada, teniendo en cuenta a los pacientes diagnosticados de NHH dentro de la serie consecutiva (n= 17), se observó que los tres pacientes con alteraciones en *DDX41* presentaron un segundo *hit* en el mismo gen, además de un cariotipo normal. De manera similar, el paciente con mutación en *RUNX1* también presentó un segundo *hit* en el mismo gen. Por otro lado, una de las pacientes con mutación en *GATA2* mostró alteraciones en los cromosomas 7 y 8, mientras que la otra no presentó hallazgos somáticos relevantes. Una de las dos pacientes con mutación germinal en *SAMD9* también presentó una alteración en el cromosoma 7.

En los dos casos diagnosticados de IM (anemia Blackfan-Diamond y Disqueratosis Congénita), no se identificó ninguna adquisición somática. En cuanto al cariotipo complejo observado en pacientes con NHH, este se asoció con mutaciones en *GATA2*, *TP53*, *ATM*, *BRCA2* y *CHEK2*, correspondiendo los cuatro últimos casos a neoplasias relacionadas con la terapia.

La **Figura 26** ilustra el conjunto de alteraciones somáticas adquiridas en los pacientes diagnosticados con una NHH en la serie consecutiva. Los detalles de las variantes somáticas de estos pacientes se presentan en la **Tabla suplementaria 8 del Anexo 8**.

Por último, se evaluó el número de pacientes con sospecha de una posible NHH tras el análisis somático realizado al diagnóstico de su enfermedad hematológica. Esta sospecha se definió como la presencia de una alteración probablemente patogénica o patogénica en un gen relacionado con predisposición germinal, con una VAF >30%. En un total de 48 pacientes (25%), se identificaron hallazgos compatibles con un posible origen germinal, involucrando los genes *ETV6*, *GATA2*, *NF1*, *PTPN11*, *RUNX1* y *TP53*. No obstante, el origen germinal fue confirmado únicamente en 2 de estos 48 casos (4%), correspondientes a los genes *RUNX1* y *TP53*.

Es importante destacar que el resto de las NHH identificadas en la serie consecutiva no fueron detectadas en el análisis somático inicial.

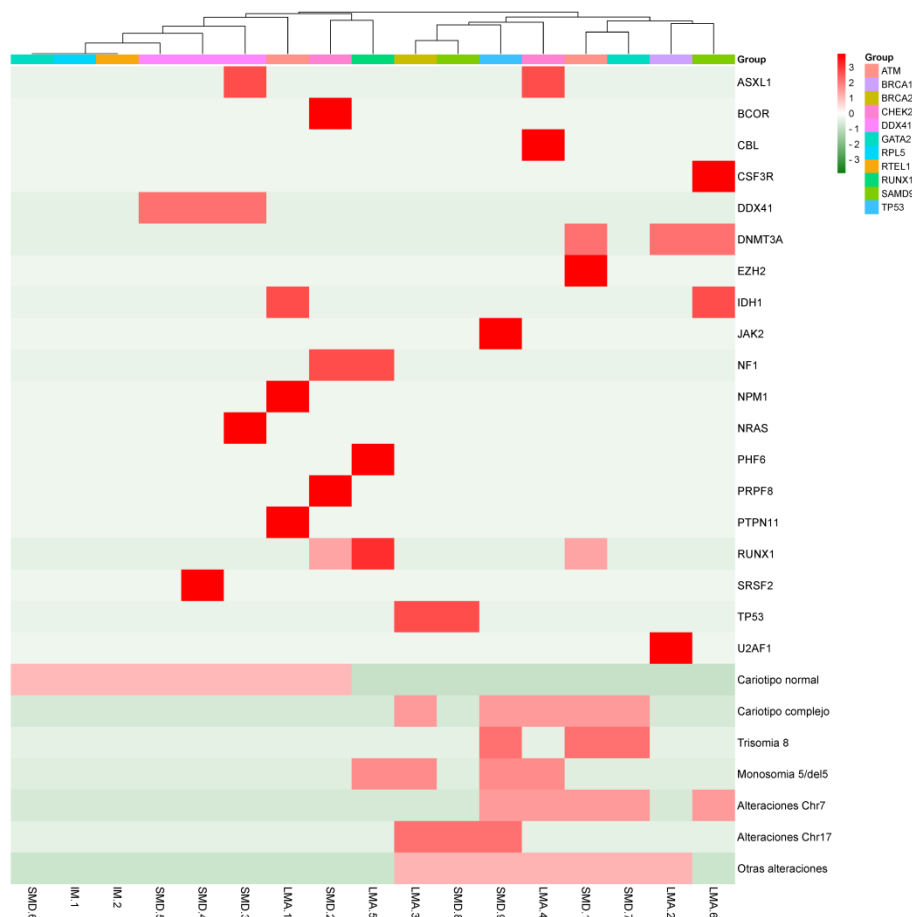


Figura 26. Heatmap de alteraciones somáticas en los pacientes con diagnóstico de NHH.

Cada columna representa un paciente y cada fila una alteración genética o cromosómica. Las áreas rojas muestran una mayor interacción entre genes y pacientes. En el dendrograma situado encima de la figura, se observa la agrupación obtenida por similitud de patrones de mutaciones genéticas.

5.6.7. Evaluación conjunta de los criterios de sospecha establecidos en la CGH

En resumen, tras la evaluación de los seis criterios de sospecha definidos por la CGH, tres resultaron significativamente asociados con la detección de mutaciones germinales, mientras que los otros tres no mostraron diferencias relevantes entre los pacientes con NHH y aquellos con enfermedad esporádica. En particular, la presencia de signos y síntomas relacionados con estos síndromes, la presencia de más de una neoplasia independiente y los AFGP de neoplasias hematológicas destacaron como indicadores clave. La **Tabla 27** detalla el número de pacientes que cumplieron cada uno de los criterios, diferenciando entre diagnósticos de NHH y enfermedad esporádica.

Tabla 27. Resumen de la evaluación de criterios de sospecha en pacientes con una NHH y pacientes con una enfermedad esporádica.

Criterio	Total (%) (n = 188)	NHH (%) (n = 17)	Enfermedad esporádica (%) (n = 171)	p
Edad al debut <40 años	44 (23)	4 (23)	40 (23)	1
Citopenias previas en pacientes con SMD/LMA	6 (4)	0 (0)	6 (4)	1
Signos/síntomas NHH	11 (6)	4 (23)	7 (4)	0,01
>1 neoplasia	38 (20)	9 (53)	29 (17)	0,002
AFPG hematológico	24 (13)	5 (29)	19 (11)	0,009
Alteraciones somáticas adquiridas	No se detectó ninguna asociación significativa			

SMD: Síndrome Mielodisplásico; LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda; NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria; AFPG: Antecedentes Familiares de Primer Grado

A continuación, se evaluó el rendimiento de los criterios significativos (pacientes que cumplían 1 ó 2, ya que ningún paciente cumplió los 3 simultáneamente) como herramienta para el despistaje de NHH en los 188 pacientes de la serie consecutiva. La **Tabla 28** muestra la distribución de pacientes según el cumplimiento de estos criterios, mientras que en la **Tabla 29** se recogen los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de acuerdo con el cumplimiento de al menos uno de los criterios. La sensibilidad, es decir, la capacidad de este modelo para identificar correctamente a los pacientes con una NHH fue del 82,35%. La especificidad, definida como la capacidad para identificar correctamente a los pacientes que no tenían una NHH, alcanzó el 70,18%. El valor predictivo positivo (VPP), que representa la probabilidad de que un paciente que cumplía alguno de los criterios, realmente presentara una NHH, fue del 21,53%. Por último, el valor predictivo negativo (VPN), correspondiente a la probabilidad de que un paciente que no cumplía ninguno de los criterios, efectivamente, no tuviera una NHH, fue del 97,56%.

Tabla 28. Número de pacientes con NHH o enfermedad esporádica que cumplían los criterios de sospecha significativos.

	NHH (%) (n= 17)	Enf. Esporádica (%) (n= 171)
Pacientes que no cumplían criterios	3 (18%) (FN)	120 (70%) (VN)
Pacientes que cumplían al menos un criterio	14 (82%) (VP)	51 (30%) (FP)

NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria; Enf. Esporádica: Enfermedad esporádica; FN: Falsos Negativos; VN: Verdaderos Negativos; VP: Verdaderos Positivos; FP: Falsos Positivos.

Tabla 29. Evaluación de los criterios de sospecha (cumplir al menos uno) en pacientes con NHH.

Parámetros a evaluar en el modelo predictivo	Resultado
Sensibilidad	82,35 %
Especificidad	70,18%
VPP	21,53%
VPN	97,56%

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo.

De cara a evaluar el impacto de cada uno de los criterios de sospecha en la probabilidad de desarrollar una NHH, se llevó a cabo un análisis de regresión logística, cuyos resultados se muestran en la **Tabla 30** (A-C).

Tabla 30. Modelo de regresión logística para evaluar el efecto de los criterios de sospecha en la probabilidad de desarrollar una NHH.

Variable predictora	OR (IC 95%)	p valor
A		
>1 neoplasia independiente	8,04 (2,59-27,85)	0,0004
Signos y síntomas asociados a NHHs	13,33 (2,76-63,36)	0,0009
B		
>1 neoplasia independiente	5,82 (2,01-17,33)	0,001
AFPG hematológico	3,69 (1,02-12,28)	0,036
C		
Signos y síntomas asociados a NHHs	7,16 (1,65-28,24)	0,005
AFPG hematológico	3,31 (0,93-10,57)	0,049

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confianza; NHH: Neoplasia Hematológica Hereditaria; AFP: Antecedentes Familiares de Primer Grado.

La curva ROC obtenida mostró un área bajo la curva (AUC) de 0,801 (**Figura 27**), indicando que el modelo tiene una capacidad discriminativa adecuada para distinguir entre pacientes con y sin NHH. El cálculo de la AUC se basó en la evaluación combinada de los criterios, lo que reflejó la probabilidad de cumplir al menos uno de los criterios establecidos. Por último, el número de NHH detectadas aumentó significativamente a medida que se cumplieron más criterios, con una $p < 0,001$.

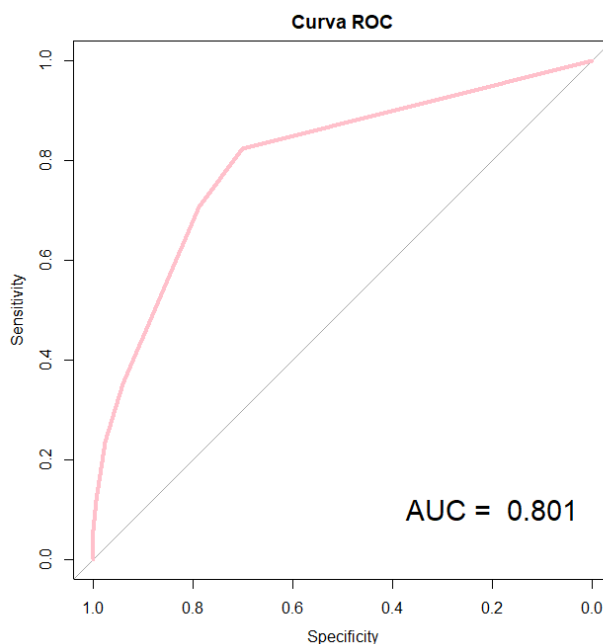


Figura 27. Curva ROC que evalúa la capacidad discriminativa del modelo.

En el eje de ordenadas, se muestra la relación entre la tasa de verdaderos positivos (sensibilidad) y, en el eje de abscisas, la tasa de falsos positivos (1 - especificidad) para diferentes umbrales del modelo. AUC: área bajo la curva (del inglés, *Area Under the Curve*).

5.7. IMPACTO CLÍNICO DE LOS SÍNDROMES DE PREDISPOSICIÓN GERMINAL

5.7.1. Adaptación del manejo y selección de donantes en pacientes con una NHH

De los 46 pacientes diagnosticados con una NHH, 19 (41%) requirieron una adaptación en su manejo clínico.

Entre los pacientes con NHH asociada a disfunción orgánica ($n = 30$), 14 precisaron un seguimiento multidisciplinar debido a las anomalías extrahematológicas encontradas. Estos pacientes incluyeron al caso #10, diagnosticado con un síndrome de haploinsuficiencia de GATA2; los casos #16 al #18, con anemia de Fanconi; el caso #20, con disqueratosis congénita; los casos #26 y #27, con neutropenia severa congénita; el caso #30, con trombocitopenia asociada a WAS; los casos #31 al #34, con anemia de Blackfan-Diamond; el caso #37, con síndrome de Shwachman-Diamond y el caso #38, con síndrome de Noonan.

Además, algunos pacientes requirieron tratamientos o monitorización específicos adicionales a las medidas de soporte estándar. Por ejemplo, el caso #19, diagnosticado con disqueratosis congénita, fue tratado con Danazol para la aplasia medular; los casos #21 al #24, con neutropenia severa congénita asociada a mutaciones en el gen *ELANE*, necesitaron una monitorización estrecha del gen *CSF3R* y los casos #31, #32, #33, #35 y #36, diagnosticados con anemia de Blackfan-Diamond, fueron tratados con corticoterapia.

Finalmente, cinco pacientes fueron derivados a la Unidad de Consejo Genético del Cáncer para un seguimiento activo debido al riesgo de desarrollar otras neoplasias.

En relación con la selección de donantes emparentados, entre las 18 familias con diagnóstico de NHH que requirieron un trasplante alogénico, se seleccionaron donantes familiares no portadores o donantes no emparentados en 12 casos. En otros dos casos, el estado de portador de los donantes era desconocido (familias #39 y #40, con mutación en *ATM*); mientras que, en otros cuatro casos, los donantes eran portadores de variantes en *DDX41* (familia #3), *GATA2* (familia #11), *BRCA1* (familia #41) y *CHEK2* (familia #44).

El paciente con alteración germinal en *DDX41*, que fue trasplantado con células de su hermana portadora de la misma variante, desarrolló una leucemia en células del donante dos años después del trasplante, falleciendo como consecuencia de las complicaciones derivadas. Por su parte, los pacientes con mutaciones en *GATA2* y *CHEK2*, trasplantados de familiares portadores, fallecieron después del procedimiento, aunque las causas específicas no pudieron determinarse. En el caso relacionado con *BRCA1*, no se registraron incidencias. En cuanto a las dos familias con mutación en *ATM*, uno de los pacientes falleció tras el trasplante, mientras que en el otro caso no se reportaron complicaciones. La **Tabla 31** presenta un resumen detallado de los casos donde el estado de portador del donante era heterocigoto o potencialmente heterocigoto, así como la evolución clínica en el receptor.

Tabla 31. Selección de donantes para el alo-TPH de familias con NHH.

Familia	Gen detectado en la familia	Estado de portador en el donante	Evolución del receptor
#3	<i>DDX41</i>	Heterocigoto	Fallecido por leucemia en células del donante
#11	<i>GATA2</i>	Heterocigoto	Fallecido post alo-TPH
#41	<i>BRCA1</i>	Heterocigoto	Sin incidencias
#44	<i>CHEK2</i>	Heterocigoto	Fallecido post alo-TPH
#39	<i>ATM</i>	Desconocido	Sin incidencias
#40	<i>ATM</i>	Desconocido	Fallecido post alo-TPH

Alo-TPH: Trasplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos.

5.7.2. Estudio de segregación familiar y seguimiento clínico de portadores

De las 46 familias diagnosticadas con una NHH en el Hospital La Fe, a 44 (96%) se les ofreció la realización de un estudio de segregación familiar. No obstante, en dos casos (familias #12 y #40), no se proporcionó la información genética inicialmente debido al fallecimiento del caso índice, quien no había expresado su consentimiento ni su negativa respecto a la transmisión de los resultados genéticos a sus familiares.

Con el objetivo de valorar posibles excepciones al deber de confidencialidad, tanto el caso #12 como el #40 fueron remitidos al Comité Ético del Hospital La Fe. Tras su deliberación, el comité concluyó que, si bien la normativa vigente permite excepciones al secreto profesional bajo ciertas condiciones —como el impacto potencial en la salud de los familiares—, la decisión final debía recaer en el criterio clínico del especialista responsable.

En consecuencia, en el caso de la familia #12, se decidió no comunicar la información genética a los familiares, mientras que, en el caso de la familia #40, se consideró justificado informar a los familiares biológicos.

De las 44 familias que recibieron la información genética, 30 aceptaron realizar el análisis de segregación familiar en la CGH, 5 fueron derivadas a la Unidad de Consejo Genético del Cáncer y 9 decidieron, al menos de forma provisional, no continuar con el estudio. La **Tabla 32** presenta un resumen de las acciones realizadas con las familias diagnosticadas con una NHH.

Tabla 32. Acciones realizadas con las familias que presentaron una NHH.

Acción	n (%)
Familias que accedieron a realizar segregación familiar en la CGH	30 (65)
Familias que fueron derivadas a CGC	5 (11)
Familias que no continuaron con el estudio genético	9 (20)
Familias a las que no se les comunicó inicialmente el resultado del estudio genético y fueron derivadas al Comité Ético	2 (4)

CGH: Consulta de Genética Hematológica; CGC: Consejo Genético del Cáncer

Entre las 30 familias en las que se realizó el estudio de segregación familiar en la CGH, se identificaron 11 portadores sanos (en 6 familias), 12 portadores que desarrollaron la enfermedad (en 9 familias) y 17 portadores heterocigotos de variantes recesivas (en 10 familias). Además, en 7 familias, se confirmó que el caso índice presentaba una variante *de novo*, mientras que en una familia el estudio arrojó un resultado negativo hasta la fecha.

Los portadores sanos de variantes en *DDX41* (familias #1, #3 y #4) y *RUNX1* (familia #7) se sometieron a un hemograma basal y análisis de la morfología de sangre periférica, seguido de controles anuales. En contraste, aunque los portadores sanos de variantes en *SAMD9* (familia #14) y *PAX5* (familia #45) también realizaron una evaluación inicial con hemograma y análisis de morfología de sangre periférica, no se llevó a cabo un seguimiento posterior en estos casos.

En cuanto a los individuos portadores que desarrollaron enfermedad, el manejo varió según el criterio del especialista. Los dos individuos con trombocitopenia familiar (familia #7), anemia de Fanconi (familias #15 y #18) y trombocitosis (familia #46) se sometieron a un aspirado de médula ósea basal y continuaron con un seguimiento semestral mediante hemogramas y análisis de morfología de sangre periférica. Por otro lado, los individuos con disqueratosis congénita

(familia #20), neutropenia congénita (familia #26) y anemia de Blackfan-Diamond (familias #31 y #35) no realizaron un estudio medular inicial. En estos casos, el seguimiento se basó en hemogramas y análisis de morfología de sangre periférica, con una periodicidad ajustada al grado de citopenias observado.

Los dos individuos con Síndrome de Haploinsuficiencia de GATA2 (familia #11) habían fallecido años atrás sin conocimiento de la mutación familiar, lo que impidió la realización de controles de seguimiento en vida. Las muestras en estos casos se obtuvieron de forma retrospectiva.

Por último, los 17 individuos portadores heterocigotos de variantes recesivas (familias #15, #16, #17, #18, #19, #20, #25, #27, #28 y #30) no requirieron ningún tipo de seguimiento clínico o analítico. La **Tabla 33** ofrece un resumen detallado de los resultados del estudio de segregación realizado en estas 30 familias.

Tabla 33. Resultados del estudio de segregación.

Estudio de segregación	Genes	Número de familias (número de familiares portadores)	Actitud con los familiares
Familiares portadores sanos	<i>DDX41, RUNX1, SAMD9, PAX5</i>	6 (11)	Estudio basal y de seguimiento: Hemograma y frotis de sangre periférica
Familiares portadores enfermos vivos	<i>RUNX1, FANCA, FANCD2, DKC1, GFI1, RPL5, RPS19, JAK2</i>	8 (10)	Estudio basal: estudio medular vs. estudio de sangre periférica Seguimiento: hemograma y frotis de sangre periférica
Familiares portadores enfermos fallecidos	<i>GATA2</i>	1 (2)	-
Familiares portadores heterocigotos de variantes recesivas	<i>FANCA, FANCD2, RTEL1, DKC1, CSF3R, TAZ, WAS</i>	10 (17)	Nada
Familias con variantes <i>de novo</i>	<i>GATA2, SAMD9, ELANE, RPS26</i>	7 (0)	Nada
Estudios negativos hasta la fecha	<i>DDX41</i>	1 (0)	Continuar con el estudio de segregación

6. DISCUSIÓN

La hipótesis de este proyecto plantea que la implementación de una estrategia diagnóstica específica para la detección de Neoplasias Hematológicas Hereditarias (NHH) contribuirá a una identificación más temprana de estos pacientes. Esto, a su vez, permitirá un seguimiento clínico más preciso, un asesoramiento genético y reproductivo más efectivo, y una mejora en la calidad de vida de los pacientes y sus familias. Para ello, el objetivo principal de esta Tesis Doctoral es evaluar la eficacia de una estrategia diagnóstica destinada a la identificación, asesoramiento y manejo de pacientes con sospecha de presentar una NHH. En este contexto, y considerando el creciente uso de la genómica clínica en el tratamiento y manejo del cáncer, resulta evidente el aumento en la identificación de síndromes de predisposición al cáncer y la necesidad de derivar a estos pacientes a unidades multidisciplinarias para un seguimiento clínico adecuado y asesoramiento genético especializado.

En esta tesis, se analizan alteraciones genéticas de origen germinal en una cohorte de 300 pacientes, tanto adultos como pediátricos, diagnosticados con una enfermedad hematológica. Asimismo, se describen los casos confirmados de NHH y se analizan diversos parámetros clínicos, incluyendo datos diagnósticos, antecedentes personales y familiares. Este trabajo resalta que las NHH representan un desafío diagnóstico significativo, con implicaciones directas en la selección del tratamiento, como la elección precisa de un donante para un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH), y en la planificación de un asesoramiento genético específico para los pacientes y sus familiares.

El fin último de este proyecto es establecer las bases de un programa de cribado sistemático de la susceptibilidad a las neoplasias hematológicas hereditarias y evaluar su impacto en la práctica clínica. Este esfuerzo pretende abordar una necesidad clínica crítica, optimizando el manejo integral de los pacientes con predisposición hereditaria a estas patologías.

6.1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Este estudio presenta varias limitaciones intrínsecas que hay que tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados. En primer lugar, la rareza de los síndromes estudiados exige una muestra de tamaño considerable para poder obtener conclusiones significativas sobre el diagnóstico y pronóstico de los pacientes afectados. Aunque se incluyeron 300 individuos, el tamaño de la muestra fue relativamente reducido, lo que limitó la cantidad de casos con resultados positivos.

En segundo lugar, cada síndrome presenta una variedad de características únicas, lo que conlleva una heterogeneidad notable tanto en sus manifestaciones clínicas como en sus bases moleculares. La combinación de esta variabilidad con el tamaño relativamente reducido de la muestra dificulta la extrapolación de conclusiones independientes para cada uno de ellos.

En tercer lugar, la inclusión de pacientes con una amplia diversidad clínica, tanto en edad (pediátrica y adulta) como en tipos de enfermedades hematológicas, añade una capa adicional de complejidad. Esta variabilidad dificulta la identificación de resultados asociados con un fenotipo específico.

Por último, el estudio de las características de los pacientes requirió a menudo un análisis retrospectivo que implicaba la recopilación de datos de pacientes diagnosticados a lo largo de un período prolongado, con la posibilidad de información incompleta sobre parámetros analíticos al diagnóstico de éstos. Además, la obtención precisa de los antecedentes tanto personales como familiares depende de la precisión y actualización de la información proporcionada por los propios pacientes, lo que puede resultar difícil en muchas ocasiones.

6.2. MUESTRAS DE ORIGEN GERMINAL

Los resultados obtenidos destacan algunas diferencias entre los tipos de muestras germinales utilizadas en este estudio. Los fibroblastos cutáneos demostraron ser una opción óptima gracias a la elevada cantidad de DNA recuperado y su alta pureza. Sin embargo, la contaminación por hongos en un pequeño porcentaje de casos pone de manifiesto la necesidad de optimizar las condiciones de cultivo. Para mitigar este problema, todas las muestras se procesaron por duplicado, reduciendo la incidencia de fallos. Un inconveniente relevante de esta muestra es el tiempo requerido para su procesamiento, ya que el cultivo de fibroblastos demoró en promedio 22 días, lo que podría retrasar el análisis genético en contextos clínicos donde la rapidez es esencial. Por ello, resulta fundamental promover la derivación temprana del paciente con una sospecha de NHH a la CGH, permitiendo programar la toma y el procesamiento de la muestra con la mínima demora posible. Aunque otros estudios recomiendan un tamaño de biopsia de 3 mm² ⁴³, en este proyecto se optó por reducirla a 2 mm² para minimizar posibles complicaciones hemorrágicas o infecciosas. A pesar de ser una técnica invasiva²²⁶, no se registraron eventos adversos en los pacientes. Además, el tamaño reducido del punch no impactó negativamente en el tiempo de cultivo, en contraste con lo señalado en la literatura²⁶⁵.

Las muestras de sangre periférica/médula ósea y saliva/mucosa oral demostraron ser fiables, con cantidades adecuadas de DNA y bajas tasas de fallo. Sin embargo, en pacientes con enfermedades clonales, la posible contaminación con células blásticas constituye una limitación importante que debe considerarse al interpretar los resultados genéticos²²⁶. Un ejemplo es el caso #15, en el que se detectó una alteración homocigota en el gen *FANCA* en sangre periférica de un paciente con SMD. Este resultado fue confirmado como de origen germinal al detectarse la misma variante en otro miembro de la familia. En los demás casos con potencial contaminación clonal, no se obtuvieron resultados positivos.

Por su parte, los linfocitos T CD3⁺ mostraron cantidades más bajas de DNA y una mayor tasa de fallo en comparación con otros tipos de muestras. Aunque la evaluación de pureza permitió estimar el grado de contaminación con células mieloides, con un promedio del 89 %, esto refleja la necesidad de optimizar los métodos de procesamiento para maximizar su utilidad en futuros estudios. Además, la linfopenia frecuente en pacientes con enfermedades hematológicas plantea un desafío adicional, al dificultar la obtención de cantidades adecuadas de DNA para el análisis, lo que subraya la necesidad de desarrollar estrategias complementarias para estas situaciones específicas. En nuestra serie, únicamente se identificó un paciente con una NHH tras la selección de linfocitos CD3⁺ (#43). Este paciente se encontraba en respuesta completa, sin blastos en sangre periférica y la pureza celular alcanzó el 90 %. En los demás casos con potencial contaminación clonal, no se obtuvieron resultados positivos.

En conjunto, la alta eficiencia en la amplificación genética observada en la mayoría de las muestras confirma la solidez del enfoque adoptado. No obstante, estos resultados también subrayan la importancia de seleccionar cuidadosamente el tipo de muestra germinal, considerando tanto las características del paciente como los requisitos específicos del análisis genético previsto. Teniendo en cuenta que la muestra de DNA obtenida de fibroblastos cutáneos es considerada el *gold standard* en el contexto de neoplasias hematológicas activas²⁶⁵, debe priorizarse el empleo de este tipo de muestra siempre que sea posible. Sin embargo, dado que el cultivo puede demorar los tiempos, es vital identificar a los pacientes con una potencial NHH de manera rápida, sobre todo en aquellos que vayan a someterse a un alo-TPH.

6.3. PANEL DE NGS DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS

El panel genético utilizado en este estudio mostró un desempeño destacado, con una cobertura media del 99%, lo que asegura una alta fiabilidad en la detección de variantes en la mayoría de las regiones analizadas. Asimismo, la profundidad de lectura media de 200x fue adecuada para la identificación de variantes germinales con precisión.

Es importante destacar que en 38 genes (34% del total del panel), no se identificaron variantes deletéreas ni de significado incierto en ninguno de los pacientes analizados. Esto podría reflejar la ausencia de alteraciones genéticas relevantes en estos genes dentro de la cohorte específica estudiada, posiblemente debido a la selección de pacientes o al bajo impacto clínico de estos genes en el contexto de las enfermedades hematológicas incluidas. Alternativamente, esta ausencia podría señalar limitaciones en el diseño del panel para detectar ciertas variantes, como aquellas localizadas en regiones intrónicas profundas, promotores o grandes reordenamientos estructurales, que no suelen estar cubiertos en los paneles dirigidos.

La repetitividad y reproducibilidad del panel fueron sobresalientes, alcanzando el 100 %, con un coeficiente de variación inferior al 20% tanto en réplicas intraensayo como interensayo. Esto respalda la robustez del método empleado, esencial para garantizar la fiabilidad de los resultados obtenidos. Además, la sensibilidad del 95% y la especificidad del 90% refuerzan la utilidad del panel en la práctica clínica, asegurando una alta tasa de detección de variantes reales y minimizando los falsos positivos.

En conclusión, el panel NGS mostró un desempeño sólido y fiable, adecuado para el análisis genético en este contexto clínico. Sin embargo, las limitaciones observadas deben ser tomadas en cuenta para mejorar futuros diseños y para maximizar la utilidad del panel en el diagnóstico, pronóstico y manejo terapéutico de los pacientes.

6.4. INTERPRETACIÓN DE LAS ALTERACIONES GERMINALES

6.4.1. Modo de herencia

El asesoramiento genético de cada variante estuvo determinado en buena medida por el modo de herencia de cada gen. El criterio que se adoptó para reportar variantes mono-alélicas deletéreas en un gen asociado con un trastorno autosómico recesivo estuvo en consonancia con las recomendaciones ofrecidas por distintas guías como, por ejemplo, las Guías Inglesas sobre Clasificación de Variantes en Enfermedades Raras (ACGS, del inglés *Association for Clinical Genomic Science*)^{238,239}. En la mayoría de las ocasiones en que se encontró una de estas variantes, el fenotipo clínico no era compatible. Por ello se consideraron hallazgos incidentales y la decisión de reportar o no dicha variante se basó únicamente en la posibilidad de ofrecer un asesoramiento reproductivo a familiares y parejas. Sin embargo, hubo un caso dentro de la serie global (#37) en el que se encontró una sola variante mono-alélica patogénica en el gen *SBDS*, acompañada de una delección de un único exón que no fue confirmada posteriormente por array y para la que no se pudo realizar MLPA por ausencia de sondas específicas. En este caso, en el que no pudo demostrarse la existencia de una segunda variante en el otro alelo del gen *SBDS*, y en el que el fenotipo del paciente era compatible con un Síndrome de Shwachman-Diamond, se concluyó que la variante tenía muy probablemente un carácter causal en la patogenia de este síndrome de fallo medular.

Por otra parte, existe controversia en cuanto al riesgo que presentan los portadores heterocigotos de una enfermedad recesiva de desarrollar síntomas, ya que algunos estudios han observado un fenotipo mitigado^{266,267}. Aunque algunos autores de trabajos relacionados con las

NHH sugieren que este tipo de hallazgos podrían ser modificadores/potenciadores del riesgo a desarrollar este tipo de afección^{268,269}, otros, por el contrario, no los consideran relevantes²⁷⁰. En nuestra serie, 18 pacientes (6%) eran portadores heterocigotos de variantes deletéreas con un patrón de herencia recesivo. Sin embargo, dada la falta de suficiente evidencia para atribuir algún tipo de efecto de estas variantes sobre el riesgo de desarrollar enfermedades hematológicas, se evitó transmitir cualquier tipo de asociación o causalidad al paciente.

6.4.2. Grado de patogenicidad

En este estudio, la categorización de variantes genéticas germinales se realizó siguiendo estrictamente los criterios de la ACMG/AMP²³⁴, un estándar esencial para clasificar variantes de manera precisa y reproducible. Estos criterios integran múltiples líneas de evidencia, como datos funcionales, poblacionales y predicciones bioinformáticas, garantizando que las variantes se clasifiquen de forma adecuada como patogénicas, probablemente patogénicas, de significado incierto, probablemente benignas o benignas. La aplicación rigurosa de estos criterios es crucial para evitar errores en la clasificación, como informar variantes de significado incierto como patogénicas o subestimar el impacto clínico de variantes relevantes, lo que podría derivar en decisiones clínicas inadecuadas. Sin embargo, en la práctica, la implementación de estos estándares sigue siendo un desafío, lo que resalta la importancia de un enfoque meticuloso y sistemático.

En total, se detectaron 71 variantes patogénicas o probablemente patogénicas. Los genes que presentaron un mayor número de variantes deletéreas fueron *FANCA*, *DDX41*, *ELANE*, *FANCM* y *SBDS*. Hubo dos variantes en los genes *BRCA1* (#41) y *BRCA2* (#42) que fueron reportadas como “patogénicas conocidas” sin el cálculo de la puntuación otorgada por la clasificación del ACMG debido a su efecto causal evidenciado en otras neoplasias no hematológicas^{271,272}. Para reportar las variantes heterocigotas de genes recesivos, se siguieron las directrices descritas en el apartado anterior.

Por su parte, los genes que presentaron un mayor número de variantes de significado clínico incierto (VUS) fueron *ATM*, *DNAJC21*, *EFL1*, *FANCI*, *MSH6* y *FANCA*. Aunque en *ATM* se describieron hasta 10 variantes, todas ellas fueron subclasificadas como *icecold/cold/cool*, denotando irrelevancia clínica. De las 119 variantes VUS encontradas en nuestra serie, sólo el 10% fueron subcategorizadas como *hot/warm*, llevándose a cabo una revisión más exhaustiva en aquéllas que, además, mostraron un estado alélico acorde al modo de herencia de cada gen (*NF1*, *PTPN11*, *RTEL1* y *RPS10*). Los dos pacientes con variante en *NF1* y *RTEL1* no presentaban un fenotipo compatible con estos genes, por lo que se decidió no proceder con el estudio de segregación familiar en ambos casos. En cuanto al paciente con la variante en *PTPN11*, se detectó de forma concomitante una alteración patogénica en el gen *PTEN* responsable del cuadro que presentaba, por lo que la variante incierta en *PTPN11* fue desestimada. El paciente que presentaba la variante en *RPS10* debutó con una insuficiencia medular a los 19 años, no compatible con una anemia de Blackfan-Diamond. A pesar de ello, procedimos a realizar el estudio de segregación familiar, siendo el padre portador de la misma variante y estando completamente sano. Así pues, fue desestimada y su patología se consideró como una aplasia medular adquirida.

En este programa, no se reportaron las variantes probablemente benignas ni benignas para evitar cualquier tipo de confusión.

6.5. CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE GLOBAL: PACIENTES CON UN SÍNDROME DE PREDISPOSICIÓN GERMINAL

El 23% de los pacientes de nuestra serie (n= 68) presentó, al menos, una alteración genética de carácter deletéreo. En 46 casos, estas alteraciones genéticas se consideraron responsables o predisponentes de su enfermedad subyacente (NHH), lo que representa el 16% del total de casos. Esta prevalencia, superior al 5-10% reportado en la literatura científica⁸, probablemente guarda relación con el proceso de selección de pacientes en la cohorte global.

Entre los casos con una NHH, se incluyó una amplia variedad de entidades descritas por la OMS/ICC^{55,56}. Como se detalla en la sección de resultados, la tercera categoría, correspondiente a los Síndromes de Predisposición y Disfunción Orgánica, mostró una asociación significativa con el diagnóstico de insuficiencia medular. De los 30 pacientes en esta categoría, 23 fueron diagnosticados con insuficiencia medular, mientras que la aparición de neoplasias fue infrecuente, observándose solo en 7 pacientes con mutaciones en *GATA2* (#9, #10, #11), *SAMD9* (#12, #13, #14) y *FANCA* (#15). En contraste, la mayoría de los pacientes de las demás categorías desarrollaron neoplasias hematológicas (15 de 16), con una única excepción: un paciente con mutación en *RUNX1* (#8) que presentó únicamente trombocitopenia sin progresión neoplásica.

Además, se identificaron dos grupos diferenciados de pacientes con patología mieloide germinal según la edad de inicio: los pacientes con alteraciones genéticas de la categoría 3 (#9 - #38) debutaron a edades más tempranas en comparación con el resto de los casos con NHH. Este hallazgo coincide con lo previamente reportado en la literatura^{23,273,274}. Sin embargo, se identificaron tres excepciones notables: un portador de *DDX41* (#4) que presentó un debut inusualmente temprano y dos portadores de *SAMD9* (#12, #14) con un debut a edades tardías, en contraste con el patrón típico de este gen.

Al comparar los parámetros de edad, hemoglobina, VCM, cifra de leucocitos, cifra de plaquetas, celularidad y displasia en médula ósea al debut de las enfermedades de origen germinal con su contrapartida esporádica en la serie global, se observó que los pacientes con enfermedad mieloide de origen germinal tenían un menor número de leucocitos en comparación con los que presentaban una enfermedad mieloide esporádica. Este hallazgo podría indicar una hematopoyesis deficiente en este grupo, posiblemente asociada a la hipocelularidad observada en la médula ósea de estos pacientes, aunque este resultado no fue significativo. Como han observado otros autores, y considerando que la hipocelularidad medular es una característica común en pacientes adultos con insuficiencia medular congénita de inicio tardío, la presencia de condiciones hereditarias no reconocidas podría contribuir a la dificultad de clasificar estos trastornos con médula ósea hipocelular²⁷⁰.

En cuanto a los niveles de hemoglobina inferiores detectados en casos con insuficiencia medular esporádica, podrían explicarse por la alta frecuencia de pacientes remitidos por sospecha de anemia de Blackfan-Diamond, en los cuales no se obtuvo un resultado genético concluyente. Según estudios previos, esto ocurre en hasta el 30% de los casos con diagnóstico clínico de anemia de Blackfan-Diamond^{189,190}.

Por otra parte, entre los pacientes con una alteración genética de carácter deletéreo dentro de la serie global, 18 (6%) eran portadores en heterocigosis de enfermedades recesivas (ver la actitud seguida con estos pacientes en el apartado anterior), y 4 pacientes (1%) presentaban variantes deletéreas en heterocigosis en genes que se consideraron dudosamente responsables de la enfermedad hematológica que presentaba el paciente. Se trataba de los genes: *MPL*, *HSPA9*, *PTEN* y *RB1*. El primero de ellos es un gen involucrado en el desarrollo de los megacariocitos y las plaquetas, así como en la autorrenovación de las células madre hematopoyéticas²⁷⁵. Las alteraciones germinales en *MPL* se han relacionado con dos tipos de

entidades: trombocitopenia amegacariocítica congénita²⁷⁶ y trombocitosis hereditaria²⁷⁷, con un modo de herencia tanto dominante como recesivo. Aunque hoy en día no existen evidencias claras de su rol en la predisposición a neoplasias hematológicas, algunos autores sugieren que podría existir una activación hematopoyética²⁷⁸, lo que podría acompañarse de la adquisición de mutaciones somáticas y, eventualmente, de predisposición a la malignidad. Por su parte, *HSPA9* está implicado en la anemia sideroblástica congénita con una herencia autosómica recesiva. En algunos pacientes portadores de una alteración de pérdida de función en este gen, la expresión fenotípica de esta enfermedad se asocia con un polimorfismo heredado en posición *trans* en el mismo gen (rs10117T), que produce una reducción en la expresión génica y resulta en un modo de herencia pseudodominante²⁷⁹. Esta paciente era portadora de ambas alteraciones en posición *trans* y refería un antecedente de anemia crónica no filiada, no sugestiva aparentemente de anemia sideroblástica congénita. A pesar de la posible implicación de *HSPA9* en la hematopoyesis²⁸⁰, no pudo inferirse una relación de causalidad con la neoplasia mieloide que desarrolló a la edad de 29 años, al no poder demostrarse la presencia de sideroblastos anillados en médula ósea. En cuanto a los pacientes portadores de variantes patogénicas en *PTEN* y *RB1*, ambos desarrollaron una LMA relacionada con la terapia tras haber recibido tratamiento para una neoplasia de tiroides y un retinoblastoma, respectivamente. En este caso, a pesar de la implicación conocida de ambos genes en la genética del cáncer, tampoco se pudo determinar con seguridad si estas alteraciones genéticas contribuyeron directamente con el desarrollo de la neoplasia hematológica de estos pacientes o, si más bien, éstas se desencadenaron como consecuencia de la toxicidad recibida^{281,282}.

A continuación, se discuten las características de los 46 pacientes con una NHH, clasificados según el tipo de alteración identificada.

Categoría 1: Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal sin alteraciones plaquetares previas o disfunción orgánica

En primer lugar, cabe destacar 4 pacientes (#1, #2, #3 y #4) diagnosticados con síndrome mielodisplásico (SMD) con una alteración germinal en *DDX41*, uno de los genes más frecuentemente mutados en nuestra serie, como también se observa en la literatura⁶⁴. Teniendo presente el limitado número de casos, merece la pena reseñar que dos de los pacientes (#1 y #3) presentaban antecedentes familiares de neoplasias hematológicas, lo que supone una ratio mayor a la publicada en otras series³⁶. En línea con Cheloor Kovilakam *et al.*²⁸³, los cuatro pacientes presentaban un volumen corpuscular medio elevado al momento del diagnóstico de su enfermedad hematológica, con un predominio masculino (3:1). Además, tres de los 4 pacientes (#1, #2 y #3) debutaron a una edad media de 63 años, con exceso de blastos, cariotipo normal y un segundo *hit* somático acompañante en *DDX41*, de forma similar a otros casos descritos^{58,284,285}. El paciente #3 desarrolló una leucemia en células del donante después de recibir un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos de un familiar HLA-idéntico portador de la misma variante, tal como se ha observado en otras familias reportadas en la literatura^{286–288}. El cuarto paciente (#4), sin embargo, presentó características clínicas distintas a los anteriores. Se trataba de un niño con neutropenia en su primer año de vida, que progresó a un SMD acompañado de monosomía del cromosoma 7 a los 3 años. Este paciente no mostraba un segundo *hit* somático en *DDX41*. Aunque la mayoría de los estudios publicados hasta la fecha refieren una edad media de inicio del SMD/leucemia mieloide aguda (LMA) en la sexta década de la vida^{16,63,285}, Diness *et al.* describen el caso de una niña de 5 años con rasgos dismórficos, retraso psicomotor y una neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas, donde se detectaron en heterocigosis compuesta 2 mutaciones de tipo *missense* en *DDX41*²⁸⁹. Algunos autores especulan sobre una posible correlación genotipo-fenotipo según el tipo de mutación heredada, sugiriendo específicamente que las mutaciones puntuales en el dominio C de la

helicasa causarían una enfermedad de inicio más temprano, además de otros fenotipos, mientras que las mutaciones de tipo *frameshift*, que son las más prevalentes, predispondrían a la enfermedad mieloide a la misma edad que la enfermedad esporádica³⁶. Aunque el paciente #4 presentaba una variante de tipo *frameshift*, es posible que existan mecanismos subyacentes adicionales que hayan promovido la oncogénesis. Además, la asociación de la monosomía del cromosoma 7, muy infrecuente en estos pacientes, junto a la ausencia de un segundo *hit* somático, respalda la hipótesis de que podría tratarse de un mecanismo distinto.

El paciente con Síndrome de Li Fraumeni (#5) fue diagnosticado de varios tipos de cáncer después de cumplir los 29 años. A pesar de ello, su caso no se evaluó de forma integral hasta que desarrolló su cuarto cáncer (un SMD), cuando se concluyó que presentaba una variante patogénica de origen germinal en *TP53*. Aunque *a priori* pudiera parecer que algunas de sus neoplasias fueron secundarias a tratamientos previos, es crucial recordar que un paciente que presenta susceptibilidad a distintos tipos de cáncer debe ser valorado en el contexto de un posible síndrome de predisposición germinal^{4,5}. En particular, este paciente cumplía los criterios de Chompret para el Síndrome de Li Fraumeni⁸⁴. Al igual que otros casos reportados, el desenlace fue fatal tras una progresión a LMA. Aunque se ofreció el estudio de segregación a sus familiares de primer grado, incluyendo sus hijos menores de edad, de momento han preferido no realizarlo. En este punto, es relevante destacar la postura de la ASCO con respecto a los familiares pediátricos, que recomienda el análisis genético si existen medidas para prevenir el cáncer infantil, como sucede con el Síndrome de Li Fraumeni^{4,5,76}.

Categoría 2: Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y alteraciones plaquetarias previas

Los tres pacientes (#6, #7 y #8) con diagnóstico de trastorno plaquetar familiar presentaron variantes deletéreas en el dominio RHD de *RUNX1*, dos de pérdida de función y otra de tipo *missense*. Además, uno de ellos (#6) asoció un segundo *hit* somático de tipo *missense* en el mismo gen, tal y como se ha descrito previamente en la literatura^{290–292}. Todos presentaron manifestaciones clínicas después de cumplir los 40 años: uno de ellos (#8) trombocitopenia crónica de más de 20 años de evolución y los otros dos (#6 y #7) un SMD/LMA, con antecedente de trombocitopenia documentada en solo uno de los casos (#7). Estos datos se reproducen también en la literatura, donde se muestra que la incidencia de neoplasia mieloides en estos pacientes es del 20-60%, no siendo necesario el antecedente de trombocitopenia^{33,293,294}. Es interesante destacar el fenómeno de anticipación génica que se puede observar en los pedigrís de los casos #6 y #7, asimismo descrito por otros autores en sucesivas generaciones^{259,295–297}.

En cuanto al manejo, la paciente con trombocitopenia crónica (#8) fue tratada como una púrpura trombocitopénica autoinmune, incluso después de recibir el diagnóstico genético. Actualmente, se encuentra en tratamiento con agonistas de la trombopoyetina en su centro de referencia, logrando mantener un nivel plaquetario cercano a 50.000/mm³. Respecto a este tratamiento, se ha documentado que el Eltrombopag puede aumentar el recuento plaquetario de manera segura y eficaz a corto plazo en pacientes con ciertas trombocitopenias hereditarias (como las asociadas a *ANKRD26* o *MYH9*), especialmente para evitar transfusiones preoperatorias. Sin embargo, su uso prolongado genera incertidumbres debido al riesgo incrementado de tumores mieloides asociado con la activación de la vía *TPO/MPL*^{298,299}. No obstante, dado que la evidencia sobre el uso de estos tratamientos en otras trombocitopenias hereditarias, como las relacionadas con *RUNX1*, es limitada, se recomienda prudencia al utilizar miméticos de trombopoyetina en trombocitopenias hereditarias que predispongan a leucemia. Este caso resalta la importancia de que estos pacientes sean atendidos en centros con experiencia en el manejo de trastornos raros.

Categoría 3: Neoplasias hematológicas con predisposición en línea germinal y potencial disfunción orgánica

Los tres pacientes descritos en nuestra serie con variantes germinales en *GATA2* (#9, #10 y #11) presentaron, de forma característica, un SMD a edad temprana acompañado de linfopenia y monocitopenia. Tal y como se ha descrito en la literatura, en uno de ellos (#9) se detectó una monosomía del cromosoma 7 y una trisomía del cromosoma 8, eventos somáticos típicos en este tipo de síndromes^{35,100,109}. El diagnóstico del paciente #10, fue particularmente desafiante. Sin antecedentes familiares de interés, además del SMD, presentaba un cuadro de inmunodeficiencia que había provocado múltiples episodios infecciosos, muchos de ellos de gravedad, como infecciones respiratorias que habían requerido ingreso en una unidad de cuidados intensivos o infección por VPH que había evolucionado a malignidad. Por este motivo y las secuelas de los diferentes procesos que había atravesado el paciente, estaba en seguimiento por distintas especialidades sin un diagnóstico conjunto (Ginecología, Oncología Médica y Radioterápica, Neumología, Hematología y Unidad Vascular). Sólo una valoración integrada de estos hallazgos permitió finalmente el diagnóstico de la paciente, lo que vuelve a poner de manifiesto la necesidad de contar con unidades de referencia en este tipo de patologías. Aunque se trata de un síndrome raro, la mayoría de los autores coinciden en que, ante este tipo de situaciones, debería considerarse un trasplante alogénico que restaure la inmunidad del individuo, antes de que se produzca un evento fatal. No obstante, es fundamental valorar el riesgo-beneficio en estos casos, ya que la inmunosupresión asociada al trasplante podría ocasionar una recidiva de la neoplasia sólida, además de la persistencia del VPH^{300–305}. Se trata de pacientes cuyo manejo es complicado, en los que se deben tomar decisiones de forma multidisciplinar, incluyendo la propia del paciente afectado. Por último, cabe destacar un evento casual interesante en el paciente #11. El tío materno del caso índice presentó una *LMA core binding factor*, en la que se descartó la variante familiar en *GATA2* tanto en sangre como en fibroblastos cutáneos. Además, para descartar una posible reversión somática en tejido hematopoyético o un mosaicismo cutáneo, se realizó un análisis de *microarray*, en el cual se descartó una pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 3q. Conviene recordar en este sentido que las neoplasias de origen germinal sólo aparecen en el 5-10% de los casos y que, por consiguiente, la mayoría de ellas son de origen esporádico¹²².

El caso #13 es un caso típico de Síndrome de Predisposición germinal asociado a *SAMD9*: debut como citopenia refractaria en la edad pediátrica, con una médula hipocelular, una variante de ganancia de función en el extremo C-terminal del gen y una monosomía del cromosoma 7 como signo de rescate somático, tan frecuente en este tipo de síndromes^{116,124}. Según Sahoo *et al.*, el Síndrome de fallo medular asociado a *SAMD9/SAMD9L* es una de las enfermedades Mendelianas con mayor ratio de mosaicismos somáticos postcigóticos, en la que coexisten poblaciones independientes con mutaciones somáticas adaptativas o maladaptativas, y donde sólo sobreviven algunas de ellas¹¹⁶. Esto mismo es visible en los sucesivos controles citogenéticos que se han realizado a nuestro paciente, donde la clona con monosomía del cromosoma 7 es inferior a la hematopoyesis normal, siendo ésta probablemente la causa de la estabilidad que ha presentado el paciente durante tantos años. Por otra parte, los dos casos (#12 y #14) que presentamos en nuestra serie en la edad adulta difieren bastante del anterior, tal y como se ha descrito en la literatura¹²⁵. Ambos fueron diagnosticados de una neoplasia mieloide de alto riesgo en la quinta década de la vida, presentando una variante de pérdida de función en el extremo N-terminal del gen.

En la serie global, se describen 4 pacientes con Anemia de Fanconi, presentando variantes patogénicas en *FANCA* (#15, #16 y #17) y *FANCD2* (#18), dos de los genes más frecuentemente afectados en otras series estudiadas³⁰⁶. A diferencia de las variantes encontradas en *FANCA*, de

pérdida de función, las alteraciones en *FANCD2* fueron de tipo *missense*, probablemente hipomórficas, tal y como sucede en otros casos analizados en la literatura³⁰⁷. Tres de nuestros pacientes (#16, #17 y #18) presentaban, al menos, alguna de las anomalías congénitas más frecuentemente descritas en la Anemia de Fanconi: talla baja, malformaciones de miembros superiores, del sistema génito-urinario y alteraciones otológicas. El individuo #15, por el contrario, carecía del fenotipo clínico característico, lo cual ocurre en alrededor de un 30% de los pacientes y no descarta el diagnóstico de Anemia de Fanconi³⁰⁶. Es interesante destacar que el caso #18 fue el que presentó un mayor número de anomalías fenotípicas, tal y como sucede en otros pacientes con mutaciones en *FANCD2*³⁰⁷. No obstante, a diferencia de la mayoría de los individuos con anemia de Fanconi, este mismo paciente mantiene una hematopoyesis conservada¹⁴³. Los casos #15, #16 y #17 sí presentaron expresión hematológica, dos de ellos en forma de fallo medular y el otro en forma de SMD. En cuanto al desarrollo de cáncer sólido, únicamente el paciente con alteración de *FANCD2* (#18) fue diagnosticado de una neoplasia de células escamosas en la cavidad oral.

En nuestra serie, presentamos dos casos de Telomeropatías, uno con alteración bialélica en *RTEL1* (#19) y otro con alteración en *DKC1* (#20). Ambos debutaron en la edad pediátrica con un cuadro de insuficiencia medular. El paciente #19 fue más complicado de diagnosticar porque apenas presentaba otras manifestaciones distintas a la hematológica (distrofia ungueal muy sutil en un único dedo), lo que subraya la importancia de llevar a cabo una anamnesis dirigida para descartar este tipo de trastornos en cualquier síndrome de fallo medular²²⁵. En cambio, en el caso #20, la sospecha de Telomeropatía fue alta desde el principio debido a su presentación clínica característica, que incluía un adenocarcinoma en sigma-recto a los 15 años, una manifestación descrita en otros pacientes con disfunción telomérica¹⁶¹. Aunque estos pacientes tienen un mayor riesgo de desarrollar neoplasias mieloides, también presentan neoplasias sólidas con mayor frecuencia y a una edad más temprana que la población general¹⁷³. Es importante destacar la mayor incidencia de estos tumores en pacientes varones con alteraciones en *DKC1*, quienes además suelen exhibir un fenotipo muco-cutáneo típico de la Disqueratosis Congénita, como fue observado en el paciente de nuestra serie¹⁷¹.

Como cabría esperar, el gen más afectado entre los pacientes con Neutropenia Severa Congénita fue *ELANE*¹⁷⁶, presentando todos ellos (#21, #22, #23, #24) un fenotipo clínico similar: detención madurativa total en el mielocito en médula ósea y desarrollo de infecciones desde los primeros meses de vida con necesidad de G-CSF. En todos, se llevó a cabo un seguimiento molecular para descartar mutaciones en *CSF3R*. El caso #21, con ciclos variables de 3-4 semanas, presentaba una mutación que ha sido descrita tanto en casos con neutropenia severa congénita como neutropenia cíclica, lo que va en línea con el solapamiento descrito entre las mutaciones responsables de estos dos tipos de trastornos y que indica que el genotipo no parece suficiente para establecer un diagnóstico clínico¹⁷⁸.

Por otra parte, la paciente #25 presentaba una mutación de pérdida de función en homocigosis en el gen *CSF3R*, sin aparente consanguinidad ni LOH. Tal y como se ha descrito en estos casos, la neutropenia era leve-moderada, aunque llegó a ser grave en la infancia, y la respuesta a G-CSF era parcial. Además, no había arresto madurativo en médula ósea^{181,308}.

El siguiente paciente en nuestra serie con neutropenia congénita severa (#26) presentaba una alteración patogénica en el gen *GFI1* y asociaba monocitosis e hipoacusia neurosensorial. Este paciente tenía la misma mutación que una familia previamente reportada con neutropenia, monocitosis e hipoacusia y en la que se encontró de forma concomitante una alteración en el gen *MYO6*, relacionada con la pérdida auditiva, que segregaba con todos los miembros excepto uno³⁰⁹. En nuestro caso, tras analizar el gen *MYO6* en un exoma completo, no se encontró ninguna variante de interés. Sin embargo, se ha descrito la participación de *GFI1* en el desarrollo

del oído interno³¹⁰, por lo que la pérdida de audición tanto en el paciente que no segregaba en la familia reportada en la literatura como en nuestro caso índice y su familia podría estar relacionada con la mutación encontrada en *GFI1*.

El caso #27 fue diagnosticado de un Síndrome de Barth tras el hallazgo de una neutropenia congénita severa acompañada de una detención madurativa parcial en mielocito en médula ósea. Además de encontrar una mutación en el gen *TAZ*, se detectó una excreción aumentada de ácido 3-metilglutacónico y ácido 3-metilglutárico. Fenotípicamente, el paciente presenta alteraciones en el desarrollo motor, así como una talla baja al nacimiento que se ha recuperado. A pesar de ser muy característica, este paciente no ha presentado signos de miocardiopatía a la edad de 8 años³¹¹.

En nuestra serie, se describen dos varones (#28 y #30) y una mujer (#29) con una mutación en el gen *WAS*, responsable del Síndrome de Wiscott-Aldrich. La expresividad de este síndrome es variable en función del tipo de alteración genética, pudiendo existir desde cuadros leves con trombocitopenia o neutropenia aislada, hasta cuadros graves con insuficiencia medular, autoinmunidad y cáncer³¹². Así, uno de los varones (#28) presentaba, sobre todo, neutropenia y complicaciones infecciosas; mientras que el otro varón (#30) ha precisado un alo-TPH por complicaciones asociadas a trombocitopenia. Aunque se trata de un trastorno ligado al cromosoma X y la afectación suele ser más significativa en varones, uno de nuestros casos es una mujer (#29) que se manifiesta en forma de neutropenia leve. El padre de esta paciente presenta también un cuadro de neutropenia moderada desde los 18 años compatible con la misma enfermedad, para el que precisa G-CSF actualmente.

Seis de los pacientes de la serie global (#31, #32, #33, #34, #35 y #36) fueron diagnosticados de Anemia de Blackfan-Diamond, siendo el gen *RPL5* el más mutado. El gen *RPS19*, descrito como el más afectado en otras series, sólo fue detectado en uno de los casos^{189,190}. Todos asociaron anomalías congénitas de distinta gravedad, así como anemia desde el nacimiento y descenso de los progenitores eritroides en la médula ósea, cumpliendo así los criterios clásicos publicados por Diamond *et al.* en 1976³¹³. El paciente #33, con una delección del gen *RPL11*, presentaba defectos en el pulgar de forma similar a otros pacientes con mutación en este gen³¹⁴. Además, tal y como se ha descrito en la literatura, tanto éste como los dos pacientes con mutaciones en *RPL5* (#31 y #32) mostraban un mayor número de malformaciones físicas en comparación con el resto de los enfermos de Anemia de Blackfan-Diamond³¹⁴. No obstante, aunque la manifestación clínica de uno de los casos (#31) con afectación del gen *RPL5* era evidente, éste había heredado la mutación de su madre, quien sólo presentaba un cuadro de anemia crónica. Tal y como se ha descrito previamente, esto podría explicarse por una penetrancia incompleta de las alteraciones de este gen³¹⁴. Cinco de los seis pacientes (#31, #32, #33, #35 y #36) precisaron corticoides como tratamiento para la anemia, con buena respuesta en cuatro de ellos (#32, #33, #35 y #36) y dependencia transfusional en el caso restante (#31), lo que coincide con los datos reportados en otras series de pacientes¹⁹⁹. Por su parte, dos de los pacientes han manifestado una remisión espontánea. Se trata de los casos #34 y #35 con mutación en *RPS17* y *RPS19* respectivamente. El primero de los dos nunca precisó tratamiento para la anemia. En cambio, el paciente con mutación en *RPS19* estuvo en tratamiento con corticoides hasta los 3 años y, posteriormente, se recuperó. En este caso, el paciente había heredado la mutación de su padre, quien había presentado en la infancia un cuadro similar de anemia recuperada de forma espontánea. Según Vlachos *et al.*, la probabilidad de remisión espontánea en los pacientes con Anemia de Blackfan-Diamond es del 20% a los 25 años de vida, ocurriendo a menudo en la primera década de la vida y desconociéndose la causa en la mayoría de los casos^{199,315,316}.

Uno de los pacientes de nuestra serie (#37) fue diagnosticado de Síndrome de Shwachman-Diamond varios años antes del resultado genético debido a la elevada sospecha clínica. La

deleción del exón 2 detectada por NGS no fue posteriormente confirmada por array. El MLPA no pudo realizarse por no estar disponible para esta enfermedad. Así pues y en base a las recomendaciones de la ACGS^{238,239}, se asumió el diagnóstico de este síndrome debido a una potencial heterocigosis compuesta en el gen *SBDS* y una sospecha clínica importante. Por su parte, el paciente con Síndrome de Noonan (mutación en el gen *PTPN11*, #38) tardó varios años en ser diagnosticado probablemente por la escasa manifestación clínica que presentaba. Aunque hay guías y criterios clínicos específicos para este síndrome, el diagnóstico puede ser complicado en casos leves. Siguiendo las recomendaciones de expertos, este paciente fue derivado a distintas especialidades para descartar posibles anomalías congénitas una vez se realizó el diagnóstico genético³¹⁷.

Categoría 4: Síndromes de predisposición pan-cáncer

En línea con las recomendaciones de la ELN 2022⁵⁴, esta categoría fue incluida en esta tesis doctoral con el objetivo de subrayar el solapamiento que presentan algunos genes en cuanto a la predisposición a distintos tipos de cáncer, incluido el hematológico, ya sea en forma de neoplasia secundaria o *de novo*.

Uno de los dos pacientes portadores heterocigotos de variantes deletéreas en el gen *ATM* (#39) había presentado previamente un cáncer de próstata, del que ya se sabe que existe una asociación con variantes de origen germinal en este gen³¹⁸. En cambio, el otro paciente (#40) presentó una LMA *de novo* con 47 años. Ambos casos desarrollaron una neoplasia mieloide relacionada con la terapia 2 y 11 años después, respectivamente. Aunque se ha reconocido un riesgo aumentado de neoplasias linfoides y sólidas tanto en pacientes con Síndrome de Ataxia-Telangiectasia como en portadores heterocigotos de variantes deletéreas en *ATM*, no está claro todavía si existe también predisposición para el desarrollo de neoplasias mieloides^{45,318}. En este sentido, teniendo en cuenta que se han descrito neoplasias mieloides *de novo* en pacientes portadores²⁷ y que se ha establecido bien que la función intacta de *ATM* es crítica para las células madre hematopoyéticas³¹⁹, cabe inferir que este gen juega un papel en la patogénesis de estas neoplasias.

En nuestra serie, presentamos dos pacientes con mutación en *BRCA1* (#41) y *BRCA2* (#42) que desarrollaron una neoplasia mieloide secundaria a terapia citotóxica tras una neoplasia de ovario en ambos casos. Aunque hay cohortes de pacientes portadores de mutaciones en *BRCA1/BRCA2* donde no se ha observado un incremento del riesgo de neoplasias hematológicas³²⁰, otros autores sí sugieren una asociación tanto en procesos secundarios^{321–323} como *de novo*³²⁴.

Entre los pacientes portadores de variantes patogénicas en *CHEK2*, detectamos una neoplasia mieloide relacionada con la terapia (#43) y una neoplasia mieloide *de novo* (#44). Aunque las primeras publicaciones relacionaban a *CHEK2* con cánceres sólidos^{325,326}, cada vez hay más estudios que evidencian su posible asociación con neoplasias hematológicas, incluyendo hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP), SMD, LMA, neoplasias mieloproliferativas *JAK2*-positivas y neoplasias relacionadas con la terapia^{27,322,327,328}. En línea con estas publicaciones, en la familia #44 se observaron 3 casos de neoplasias mieloides sin un cáncer sólido acompañante. De hecho, este gen ya ha sido añadido a la lista de genes de predisposición propuesta por la ELN⁵⁴. No obstante, debido a que su implicación en este tipo de neoplasias es muy reciente, *CHEK2* no está incluido en la mayoría de los paneles somáticos, con la consiguiente infraestimación de portadores³²⁹.

Categoría 5: Otros síndromes de predisposición a neoplasias hematológicas

En uno de los pacientes de la serie diagnosticado con LLA-B en la infancia (#45), se identificó una variante deletérea de origen germinal en el gen *PAX5* que no había sido previamente

descrita. Aunque sólo se han reportado dos variantes germinales en este gen (*PAX5* p.R38H y p.G183S)^{273,330}, podría considerarse que esta nueva alteración (*PAX5* p.P34R), muy cercana a una de las variantes conocidas, era probablemente la responsable de haber desencadenado la enfermedad en este paciente. Por otra parte, dado que se han detectado alteraciones en el alelo *wild-type* en los pocos casos descritos²⁷³, quisimos descartar la presencia de otras alteraciones mediante NGS y MLPA sin encontrar ningún hallazgo relevante. La tía paterna del caso índice, también portadora de la variante en *PAX5*, fue diagnosticada de una Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto a la edad de 50 años. Dado que los casos descritos de predisposición a LLA-B ocurren en pacientes pediátricos o adultos jóvenes²⁷³, es poco probable que esta patología esté relacionada con la variante en cuestión. A diferencia de los genes *ETV6* e *IKZF1*, no se han realizado muchos estudios sobre el gen *PAX5* en la LLA pediátrica, por lo que aún no está completamente claro el grado de contribución de este gen a la susceptibilidad a esta enfermedad³³¹.

El último caso (#46) muestra una familia con trombocitosis y una variante deletérea de origen germinal en *JAK2*. Diversas alteraciones de origen germinal en este gen se han asociado a síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC), habitualmente con una herencia autosómica dominante^{332–334}. No obstante, hay controversia a la hora de describir este tipo de trastornos hereditarios. Aunque algunos autores hablan de “SMPC-like” para referirse a trombocitosis familiar no clonal y diferenciarla así de las que son clonales, otros prefieren hablar en conjunto de predisposición a SMPC³³⁵. La realidad es que, clínicamente, es muy difícil distinguir si estamos ante una enfermedad clonal o no, por lo que, desde un punto de vista más flexible y práctico, quizás sea más adecuado considerar estas entidades como un conjunto, con el consiguiente riesgo de progresión y necesidad de manejo y seguimiento. En esta familia, el caso índice mantiene seguimiento por Hematología con un diagnóstico de Trombocitemia Esencial. Aunque su hija (con diagnóstico de trombocitosis crónica) perdió el seguimiento durante varios años, lo ha retomado actualmente.

6.6. CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA SERIE CONSECUTIVA: EVALUACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SOSPECHA

En la serie consecutiva, la incidencia de alteraciones de origen germinal (9%) fue similar a la descrita por otros grupos^{8,25–28}. A continuación, se analizan los distintos criterios de sospecha para derivar a un paciente a la CGH.

6.6.1. Edad al debut de la enfermedad mieloide

Al analizar el criterio de la edad, y teniendo en cuenta que el umbral establecido es completamente arbitrario, se optó por separar a los pacientes menores y mayores de 40 años, siendo más restrictivos que otros expertos, quienes fijan el umbral en los 50 años^{52,53}. No obstante, a pesar de esta mayor restricción, no se encontró una asociación significativa entre la juventud de los pacientes y la presencia de mutaciones de origen germinal.

Este hallazgo está en línea con la detección de NHH en poblaciones de mayor edad, como ocurre con genes como *DDX41* o *CHEK2*, lo que sugiere que la edad podría ser simplemente indicativa de la vía molecular alterada, más que un criterio independiente. Tal como se mencionó previamente y en consonancia con la literatura, los genes asociados a fallo medular (considerados en esta tesis como “categoría 3”) suelen estar relacionados con pacientes más jóvenes, mientras que otras mutaciones pueden manifestarse a edades mucho más tardías²⁷⁴. En consecuencia, y siguiendo las recomendaciones de expertos internacionales^{54,269,274},

concluimos que la edad, por sí sola, no es un criterio suficientemente sólido para justificar la derivación de un paciente a una CGH.

Sin embargo, este tema sigue siendo objeto de debate. Será necesario realizar más investigaciones en cohortes más amplias para alcanzar resultados más concluyentes. De hecho, algunos estudios han encontrado una asociación estadística entre trastornos congénitos y un debut más temprano de la enfermedad²⁷⁰.

6.6.2. Antecedentes personales de citopenias

El criterio de aparición de citopenias antes del desarrollo de una NHH no mostró una asociación significativa en nuestra serie. Sin embargo, la validez de este hallazgo es limitada debido a la escasa representación de pacientes con neoplasias mieloides de predisposición germinal y antecedentes de trombocitopenia. De hecho, este subgrupo incluyó un único caso: un paciente portador de una mutación en *RUNX1*, quien, además, no había presentado trombocitopenia previa. Por lo tanto, sería imprescindible contar con una muestra más amplia para evaluar este criterio con mayor rigor.

A pesar de ello, puede inferirse que no todos los individuos con citopenias previas al desarrollo de una neoplasia hematológica presentan una predisposición germinal. De hecho, las citopenias son manifestaciones frecuentes en una amplia variedad de enfermedades hematológicas. Además, el deterioro de la médula ósea está influenciado por múltiples factores, lo que dificulta establecer una relación causal directa en todos los casos.

6.6.3. Signos y síntomas relacionados con NHH

El criterio de signos y síntomas relacionados con NHH mostró una asociación significativa con la presencia de mutaciones de origen germinal, de la misma forma que han descrito previamente otros autores²⁷⁰. Aunque tres pacientes fueron diagnosticados con entidades de la categoría 3 (predisposición germinal y disfunción orgánica) que presentaban cuadros clínicos sugestivos de dichas condiciones, un cuarto caso correspondía a un síndrome de predisposición al cáncer asociado a una mutación en *CHEK2*, destacando por una estatura baja (<150 cm). Esta característica no ha sido previamente descrita en este tipo de síndromes, pero fue compartida por otros dos familiares portadores de la misma mutación. Será necesario analizar una mayor cantidad de casos para confirmar la relevancia de esta asociación clínica.

A diferencia del criterio anterior, los signos y síntomas relacionados con NHH no suelen ser manifestaciones comunes en casos de insuficiencia medular o neoplasias mieloides de origen esporádico. Por ello, su presencia debe alertar al especialista y motivar la derivación del paciente a una CGH. Es fundamental que los clínicos estén familiarizados con estas patologías para orientar adecuadamente la anamnesis y evitar la pérdida de información clínica relevante²²⁵.

6.6.4. Antecedentes personales onco-hematológicos

La literatura describe varios modelos de patogénesis en las neoplasias mieloides relacionadas con la terapia, incluyendo la inducción de inestabilidad genómica, la formación directa de oncogenes de fusión, la selección de clones hematopoyéticos preexistentes y la susceptibilidad hereditaria al desarrollo de neoplasias³³⁶.

En 2011, el Grupo Alemán de Leucemia Mieloide Aguda (AMLSG) analizó una cohorte de 2.853 pacientes, de los cuales el 7% presentaban leucemia mieloide aguda secundaria a tratamiento (LMA-t). Aunque la mayoría de estos casos se relacionaron con el uso previo de quimioterapia o radioterapia, un 3% de las leucemias clasificadas como *de novo* surgieron en pacientes que habían desarrollado un primer cáncer, pero sin haber recibido estas terapias, lo

que sugiere una posible influencia de factores genéticos³³⁷. Más recientemente, Singhal *et al.* identificaron variantes germinales de predisposición al cáncer en el 18% de pacientes con múltiples neoplasias, incluidas las hematológicas, que no habían sido tratados con quimio-radioterapia³²¹. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que algunas LMA-t podrían no estar directamente vinculadas a los tratamientos previos, sino a una predisposición hereditaria subyacente.

En nuestra serie consecutiva, se observó que la presencia de más de una neoplasia independiente estaba asociada con un mayor riesgo de NHH. Aunque esta relación se demostró únicamente en pacientes expuestos a terapia citotóxica antes del desarrollo de la neoplasia mieloide, es razonable considerar que podría ocurrir lo mismo en pacientes con múltiples neoplasias no expuestos a estos tratamientos. La ausencia de una asociación estadística significativa en este último grupo probablemente se deba al tamaño reducido de la muestra. Este análisis sugiere que las alteraciones germinales pueden aumentar el riesgo de neoplasias malignas relacionadas con la terapia, y que los tratamientos citotóxicos no serían el único factor implicado en su desarrollo.

Al analizar en profundidad los pacientes que presentaban >1 neoplasia independiente dentro de la serie consecutiva, no se encontró una diferencia significativa en la edad de aparición del primer cáncer entre los pacientes con una NHH y aquellos con enfermedad esporádica. Sin embargo, los portadores de mutaciones germinales desarrollaron la neoplasia mieloide a edades más tempranas que los casos esporádicos, probablemente debido a la baja representación de *DDX41*, un gen de predisposición germinal asociado a mayor latencia. Por otro lado, los pacientes con más de una neoplasia independiente presentaron la enfermedad mieloide a una edad significativamente mayor en comparación con los casos de SMD o LMA aislados, lo que concuerda con series previas que reportaron una mayor edad al diagnóstico en las LMA-t respecto a las LMA *de novo*³³⁷.

Además, no se encontraron diferencias en la frecuencia de variantes germinales deletéreas entre pacientes con dos cánceres y aquellos con tres o más, lo que sugiere que el diagnóstico de un segundo cáncer independiente es suficiente para identificar a individuos con probabilidad de portar una NHH. La aparición de cánceres adicionales no parece añadir información sobre este riesgo.

Por último, se identificó una relación significativa entre la neoplasia de ovario y el desarrollo de neoplasias mieloides en pacientes con variantes germinales en genes como *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* y *SAMD9*. En las pacientes portadoras de variantes deletéreas en *BRCA1* (#41), *BRCA2* (#42) y *CHEK2* (#43), la neoplasia mieloide se presentó tras la exposición a quimioterapia. Destacan especialmente las pacientes #41 y #42, por haber recibido inhibidores de PARP (Niraparib y Olaparib, respectivamente) como parte de su tratamiento de mantenimiento, lo que es consistente con el aumento del riesgo de neoplasias mieloides asociado a estas terapias, tal como se ha indicado en diversos estudios³³⁸. Estos resultados sugieren que las pacientes con una neoplasia de ovario y una neoplasia hematológica podrían tener un mayor riesgo de albergar alteraciones germinales, independientemente de la exposición a quimio-radioterapia. Sin embargo, estos hallazgos deben confirmarse en estudios con cohortes más amplias.

6.6.5. Antecedentes familiares onco-hematológicos

En la serie consecutiva, los pacientes con antecedentes familiares de primer grado (AFPG) de enfermedad hematológica, particularmente aquellos con AFPG de enfermedad mieloide, mostraron un mayor riesgo de desarrollar una NHH, lo que respalda la recomendación de realizar un estudio de línea germinal en estos casos. Sin embargo, esta asociación no ha sido consistentemente corroborada en la literatura. Estudios como los de Molteni²⁷⁰ y Shingal³²¹ no

encontraron una relación significativa entre los AFPG y los síndromes de predisposición germinal, posiblemente debido a que en ambos trabajos no se distinguió entre antecedentes familiares de tumores sólidos y hematológicos, lo que podría haber influido en los resultados y explicar, al menos en parte, las discrepancias observadas.

Algunas guías clínicas consideran los antecedentes familiares en parientes de primer o segundo grado, teniendo en cuenta la edad de los familiares, como un criterio para la derivación a una CGH^{52,53}. Sin embargo, en esta tesis no fue posible analizar este aspecto en profundidad debido al reducido número de pacientes con NHH y la rareza de estas enfermedades. A diferencia de las guías para cáncer hereditario sólido, como las establecidas para el cáncer de mama y ovario hereditario o el síndrome de Lynch^{339,340}, en las NHH aún no se han realizado estudios amplios que evalúen de manera exhaustiva los antecedentes familiares, considerando tanto el grado de parentesco como la edad. Por ello, es fundamental interpretar estos datos con cautela.

Por otro lado, el análisis de los antecedentes familiares de cáncer sólido de primer grado en nuestra serie no mostró una asociación con la presencia de NHH. Esto podría explicarse por la elevada incidencia de neoplasias sólidas en la población general, lo que limita su valor como criterio de sospecha para NHH.

Finalmente, es relevante destacar que la mayoría de los pacientes diagnosticados con NHH en esta serie (70%) no presentaban AFPG hematológicos. Este hallazgo subraya que la ausencia de antecedentes familiares no debe excluir la posibilidad de un diagnóstico de NHH, destacando la necesidad de desarrollar criterios de cribado más amplios y que no dependan exclusivamente de este factor.

En este análisis, no se pudo evaluar la presencia de citopenias en otros familiares, ya que muchos pacientes desconocían esta información. A diferencia de antecedentes más evidentes, como el diagnóstico de leucemia, las citopenias suelen ser leves y pueden pasar inadvertidas o no ser registradas en la historia clínica familiar. Además, el historial familiar a menudo está incompleto debido a causas de muerte no esclarecidas, penetrancia incompleta, expresividad variable o mutaciones *de novo*.

Por ello, aunque la recopilación activa de antecedentes familiares es clave para identificar grupos de riesgo y orientar la vigilancia clínica, su valor como criterio de predisposición hereditaria es limitado. La ausencia de información sobre citopenias en la familia no debería excluir la posibilidad de una alteración genética, ya que estas pueden haber pasado desapercibidas o no haber sido correctamente diagnosticadas²⁶⁹.

6.6.6. Alteraciones somáticas adquiridas

En la serie consecutiva, no se observaron diferencias significativas en el patrón de adquisiciones somáticas (de tipo SNV o CNV) entre los pacientes con una NHH y los pacientes con una enfermedad esporádica. Es probable que la elevada heterogeneidad de estos trastornos y el número limitado de casos dificulten la identificación de patrones de evolución específicos, lo que subraya la importancia de analizar series más amplias.

No obstante, al analizar en detalle las 17 NHH, se confirmaron observaciones previas como la presencia de un segundo hit en *DDX41* (#1, #2 y #3) o *RUNX1* (#6) en pacientes con mutaciones germinales en esos genes^{61,341}.

Además de las alteraciones tipo SNV, en estos 17 pacientes se analizaron otras anomalías genéticas como posibles factores de riesgo cooperadores para la transformación clonal, incluyendo hallazgos en el cariotipo o FISH. Los tres pacientes con mutaciones germinales en *DDX41* presentaron cariotipo normal⁶¹, lo que, junto con la ausencia habitual de otras

mutaciones somáticas, refuerza el buen pronóstico de esta entidad. Así, la nueva clasificación pronóstica de la ELN 2024 considera por primera vez esta entidad como de riesgo favorable³⁴².

En el caso del Síndrome de Haploinsuficiencia de GATA2, la paciente #10, con un SMD de bajo riesgo, no mostró hallazgos clonales, mientras que la paciente #9 presentó alteraciones citogenéticas en los cromosomas 7 y 8, clásicamente descritas en esta entidad³⁵. Por otro lado, las pacientes #12 y #14, con mutaciones germinales en *SAMD9*, mostraron un fenotipo diferente al descrito típicamente en niños¹¹⁶. Ambas debutaron en la edad adulta, asociando adquisiciones somáticas de tipo SNV, y en el caso de la paciente #12, también monosomía del cromosoma 7. Dado que estas mutaciones en adultos aún no están bien caracterizadas, serán necesarios estudios más amplios para comprender su fisiopatología, incluyendo el papel de las alteraciones cromosómicas.

El cariotipo complejo se observó en pacientes con mutaciones en *GATA2*, *TP53*, *ATM*, *BRCA2* y *CHEK2*, siendo los cuatro últimos casos neoplasias relacionadas con la terapia, lo que podría explicar el elevado porcentaje de estas alteraciones en las NHH de la serie consecutiva³⁴³.

En ningún paciente diagnosticado de IM se detectaron adquisiciones somáticas de tipo SNV o CNV, lo que indica la ausencia de hematopoyesis clonal que pudiera inducir a una transformación maligna en estos pacientes. Estos análisis somáticos se llevaron a cabo porque muchos pacientes con este diagnóstico presentan un mayor riesgo de transformación leucémica, y comprender las dinámicas clonales a lo largo del tiempo puede ser clave para desarrollar estrategias de intervención temprana³⁴⁴.

Por último, en nuestra serie, solo se confirmó el origen germinal en el 4% de los pacientes que inicialmente presentaban sospecha basada en su estudio somático. Este bajo porcentaje puede atribuirse a la ausencia de muchos genes de predisposición germinal en los paneles somáticos empleados en el diagnóstico de la enfermedad de base, lo que impide generar alertas para la derivación a una CGH. Esta limitación quedó patente en 15 de las 17 NHH diagnosticadas en nuestra serie, donde las mutaciones germinales solo fueron identificadas tras la realización de un estudio específico.

Asimismo, la identificación de variantes en genes asociados a predisposición germinal en estudios somáticos no implica necesariamente su carácter hereditario. En la mayoría de los casos, estas variantes resultan ser de origen somático, dado que las NHH son entidades poco frecuentes. De hecho, se ha descrito que solo alrededor del 10% de las variantes en *RUNX1*^{345,346} y *CEBPA*^{347,348} son de origen germinal.

6.6.7. Evaluación conjunta de los criterios de sospecha establecidos en la CGH

Aunque la realización de un estudio genético universal podría simplificar la toma de decisiones sobre a quién incluir en el cribado, esta estrategia no es viable por diversas razones. En primer lugar, no sería eficiente realizar análisis genéticos a todos los pacientes con enfermedades hematológicas, ya que los recursos del sistema sanitario son limitados. Además, no sería apropiado proponer estudios genéticos a pacientes que no se beneficiarían de los resultados, corriendo el riesgo de causarles efectos adversos tanto a ellos como a sus familiares. Por lo tanto, a pesar de las posibles ventajas de un enfoque universal, es necesario restringir la realización de estudios a aquellos pacientes que realmente se beneficiarían de los hallazgos, garantizando así un uso racional de los recursos y evitando consecuencias indeseadas.

Desde esta perspectiva, los resultados obtenidos en este estudio muestran que los criterios actuales permiten identificar a pacientes con mayor probabilidad de tener una NHH, pero presentan limitaciones importantes, particularmente en términos de especificidad y del equilibrio entre sensibilidad y valores predictivos. Estas limitaciones han sido previamente

señaladas por otros autores, quienes también concluyen que los criterios clínicos existentes no son suficientes para una identificación precisa²⁷⁰.

En este contexto, los resultados del modelo predictivo aplicado en este estudio para identificar pacientes con NHH aportan información adicional sobre la eficacia de los criterios de sospecha utilizados. En primer lugar, la sensibilidad fue del 82,35%, lo que indica que el modelo tiene una alta capacidad para identificar correctamente a los pacientes afectados. Sin embargo, la especificidad fue del 70,18%, lo que sugiere que un 30% de los pacientes sin NHH fueron incorrectamente clasificados como positivos, resultando en una alta tasa de falsos positivos. El valor predictivo positivo (VPP) de 21,53% confirma que, aunque el modelo identifica pacientes con NHH, solo una fracción de los casos predichos como positivos realmente tiene la enfermedad. En contraposición, el valor predictivo negativo (VPN) alcanzó un 97,56%, lo que sugiere que el modelo es altamente efectivo para excluir a pacientes sin NHH. Además, se realizaron modelos de regresión logística para evaluar el impacto de los criterios de sospecha en la probabilidad de desarrollar una NHH. Los resultados mostraron que la presencia de más de una neoplasia independiente ($OR = 8,04$, $p < 0,001$) y signos y síntomas asociados a NHHs ($OR = 13,33$, $p < 0,001$) son fuertes predictores de la enfermedad. También, los antecedentes familiares de primer grado hematológicos (AFPG) fueron un factor significativo ($OR = 3,69$, $p = 0,036$) en la identificación de NHH. La curva ROC mostró un AUC de 0,801, lo que indica una buena capacidad discriminativa del modelo para diferenciar entre pacientes con y sin NHH. Además, el número de NHH detectadas aumentó significativamente a medida que se cumplían más criterios de sospecha, con un valor de $p < 0,001$, lo que subraya la importancia de evaluar múltiples factores en el diagnóstico de la NHH. Estos resultados sugieren que, aunque el modelo tiene una buena capacidad predictiva, hay margen para mejorar la especificidad y reducir los falsos positivos, lo que podría optimizar su aplicación clínica.

Dado que estos hallazgos subrayan la necesidad de refinar los criterios actuales, hasta que eso ocurra podría recomendarse la realización de este estudio no solo en pacientes que cumplan los criterios previamente mencionados, sino también en aquellos cuyo diagnóstico pudiera tener implicaciones clínicas relevantes. Esto incluiría, por ejemplo, a pacientes candidatos a trasplante alogénico con un donante familiar, en quienes sería fundamental descartar la presencia de mutaciones germinales en el donante. Identificar estas alteraciones permitiría prevenir complicaciones como leucemia en células del donante, fallo de injerto, dificultades en la movilización o posibles repercusiones de los factores estimulantes de colonias en portadores^{43,54,224,225,258–262}.

Del mismo modo, los pacientes con insuficiencia medular podrían beneficiarse de una adaptación en su manejo terapéutico si se confirma un origen germinal, ya que muchos de ellos presentan disfunción orgánica. Esto permitiría optimizar el tratamiento y mejorar el pronóstico. En estos casos, antes de realizar un estudio de predisposición hereditaria, sería recomendable descartar la presencia de una clona de hemoglobinuria paroxística nocturna o la pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 6p, mecanismos asociados a la aplasia medular inmunomediada en los que el estudio genético no sería necesario³⁴⁹. En ausencia de estos hallazgos, la evaluación de predisposición germinal debería considerarse como parte del abordaje diagnóstico³⁵⁰.

Para optimizar la capacidad de cribado y fortalecer la precisión diagnóstica, el análisis somático podría ser de gran utilidad, sobre todo en pacientes que van a someterse a un alo-TPH. Como se mencionó previamente, si los paneles de NGS utilizados en el diagnóstico incluyen genes asociados a mutaciones germinales, podrían detectarse alertas sobre posibles mutaciones hereditarias, incluso en pacientes sin criterios clínicos de sospecha³⁵¹.

No obstante, aunque ciertos criterios muestran asociación con el diagnóstico de una NHH o pueden surgir alertas en el análisis somático, en algunos casos la indicación del estudio genético sigue sin ser clara. Más allá de establecer un enfoque integrado, es fundamental preguntarnos qué pacientes obtendrían un beneficio real de este diagnóstico y en qué circunstancias.

Esta incertidumbre es especialmente relevante en aquellos que no van a someterse a un trasplante con un donante familiar, bien porque no son candidatos o porque el donante es no emparentado, así como en enfermedades distintas a la insuficiencia medular. En este contexto, es necesario reevaluar la aplicabilidad de los criterios en pacientes que no cumplen estos dos requisitos. Desde esta perspectiva, algunos factores podrían aportar beneficios concretos: la presencia de signos y síntomas sugestivos de una NHH podría favorecer un seguimiento multidisciplinar más adecuado, mientras que el diagnóstico de más de una neoplasia independiente facilitaría un control oncológico más estrecho. Sin embargo, el valor de los antecedentes familiares de primer grado con neoplasias hematológicas es más incierto, ya que su impacto es principalmente psicosocial y depende de la percepción del propio paciente. Para algunos, identificar un rasgo hereditario en su familia puede suponer una forma de comprensión y alivio emocional, mientras que para otros podría no representar un beneficio significativo. Por ello, más que asumir una ventaja universal, es necesario individualizar la indicación del estudio y garantizar que la decisión se tome considerando tanto las preferencias del paciente como el equilibrio entre riesgos y beneficios.

Si bien es cierto que, más allá de su impacto en la estrategia terapéutica, el estudio genético puede proporcionar información valiosa para el asesoramiento reproductivo y para otros familiares, es importante reflexionar sobre si el beneficio de conocer esta información compensa las posibles implicaciones emocionales y clínicas de un diagnóstico de predisposición hereditaria.

Por todo ello, es fundamental que los pacientes que cumplen criterios para un estudio genético reciban información clara, precisa y adaptada a su situación particular. Solo así podrán tomar una decisión verdaderamente informada, alineada con sus valores, expectativas y circunstancias personales. Garantizar este proceso no solo contribuye a una mejor comprensión de los beneficios y limitaciones del estudio, sino que también refuerza el respeto por la autonomía del paciente en un contexto de incertidumbre y complejidad clínica.

Por último, es fundamental validar estas estrategias en cohortes más amplias y diversas para garantizar su aplicabilidad clínica. Además, la incorporación de técnicas más avanzadas y sensibles, como el análisis del exoma o del genoma completo, podría resultar crucial para confirmar y enriquecer los hallazgos actuales, permitiendo una identificación más precisa y personalizada de las NHH en este contexto.

6.7. IMPACTO CLÍNICO DEL PROGRAMA DE PREDISPOSICIÓN EN EL HOSPITAL LA FE

La identificación de NHH en nuestra cohorte ha demostrado tener un impacto clínico significativo, no solo en el manejo de los pacientes afectados, sino también en la orientación de sus familiares y la selección de donantes para trasplante alogénico. En este contexto, el programa diseñado para la detección, evaluación y seguimiento de NHH ha evidenciado su utilidad como herramienta integral en la práctica clínica.

Adaptación del manejo y selección de donantes en pacientes con una NHH

Un hallazgo destacado es que el 41 % de los pacientes con NHH requirieron adaptaciones específicas en su manejo clínico, subrayando la importancia de personalizar el tratamiento en

función de las características genéticas y clínicas de cada individuo. Estas adaptaciones incluyeron procedimientos terapéuticos dirigidos, como monitorización molecular o la corticoterapia en algunos pacientes con insuficiencia medular, así como la necesidad de un enfoque multidisciplinar en aquellos con disfunción orgánica secundaria a su síndrome de predisposición. Este enfoque personalizado demuestra cómo el diagnóstico genético puede transformar las estrategias de manejo, optimizando tanto los resultados clínicos como la calidad de vida de los pacientes^{52,54,117,227,262,286,287,352,353}.

La selección de donantes para trasplante alogénico en pacientes con NHH presenta importantes desafíos clínicos y éticos, especialmente en los casos en que los donantes son portadores de variantes germinales. Aunque la mayoría de los trasplantes de nuestra serie se realizaron con donantes no portadores o no emparentados, esta circunstancia fue fortuita y no responde necesariamente a un diseño premeditado.

En los casos en que se utilizaron donantes portadores o potencialmente portadores, observamos evoluciones clínicas desfavorables en algunos receptores, como el desarrollo de leucemia en células del donante o fallecimientos post-trasplante. Sin embargo, no es posible atribuir de forma concluyente estos desenlaces adversos al uso de donantes portadores, ya que pueden haber influido otros factores relacionados con la enfermedad subyacente o con el propio procedimiento. Esto subraya la necesidad de abordar la selección de donantes en este contexto con extrema cautela.

Por lo tanto, es fundamental que tanto los casos confirmados como los casos sospechosos de presentar una NHH sean discutidos en un comité multidisciplinar compuesto por especialistas en genética, hematología, trasplante y bioética. Dicho enfoque permitiría una evaluación integral de las posibles implicaciones clínicas para el receptor, incluyendo el riesgo de transmisión de la enfermedad o complicaciones post-trasplante, así como de los riesgos para el donante. En este sentido, la toma de decisiones colegiada garantizaría la adopción de estrategias fundamentadas y éticamente justificadas, minimizando los riesgos para ambas partes y promoviendo un manejo seguro y responsable^{52,262,354}.

Estudio de segregación familiar y seguimiento clínico de portadores

El estudio de segregación familiar ha demostrado ser una herramienta esencial para ampliar el conocimiento sobre las NHH y sus patrones de herencia, así como para implementar medidas de seguimiento individualizadas. Sin embargo, la aceptación del análisis de segregación y la continuidad del seguimiento mostraron una notable variabilidad entre las familias, lo que subraya la necesidad de fortalecer la educación genética y garantizar un acceso equitativo a estos servicios. Además, no se recomienda realizar estudios de segregación en menores de edad asintomáticos cuando no se prevén intervenciones proactivas^{4,5}. Un ejemplo representativo es el caso #7, en el que se estudió a una niña asintomática portadora de una mutación en *RUNX1*; este análisis, desde nuestro punto de vista, no debería haberse llevado a cabo.

Además, los desafíos éticos relacionados con la confidencialidad y la transmisión de información genética subrayan la necesidad de garantizar un consentimiento informado adecuado y de establecer protocolos claros y alineados con las normativas vigentes para abordar situaciones complejas en el contexto de enfermedades hereditarias. En este sentido, los comités de bioética desempeñan un papel crucial al ofrecer un espacio de deliberación para casos excepcionales.

En nuestra experiencia, se presentaron dos situaciones en las que los pacientes fallecieron antes de conocer su resultado genético y no habían expresado explícitamente su voluntad respecto a la transmisión de dicha información a sus familiares. En ambos casos, el

consentimiento informado estaba incompleto, ya que no se había registrado autorización ni negativa para comunicar los resultados genéticos a terceros. Esta falta de claridad no implicaba necesariamente una negativa, sino una ausencia de decisión documentada, lo que generó un dilema ético que fue resuelto con el apoyo del Comité de Bioética, permitiendo así adoptar una solución fundamentada.

Por otra parte, el manejo de los familiares portadores de mutaciones germinales asociadas a neoplasias hematológicas constituye un área de alta controversia en la práctica clínica, dado que las estrategias de seguimiento y vigilancia no están uniformemente establecidas y varían según el contexto genético, clínico y familiar^{52,53,224}. Nuestros resultados, obtenidos en el marco del estudio de segregación familiar en 30 familias, evidencian la necesidad de adaptar las intervenciones a las características específicas de los portadores y a los riesgos asociados a cada variante genética.

De forma más detallada, en este estudio, identificamos tres grupos principales: portadores sanos, portadores enfermos y portadores heterocigotos de variantes recesivas. Estos hallazgos refuerzan la importancia de diferenciar el manejo según el estado clínico del portador. Por un lado, entre los portadores sanos de variantes patogénicas, en los que no existe consenso sobre el beneficio, periodicidad y duración de la vigilancia, en nuestra serie se beneficiaron de un seguimiento aquellos portadores de variantes en genes como *DDX41* o *RUNX1* mediante hemogramas y morfología de sangre periférica anuales, lo cual podría permitir la detección precoz de alteraciones hematológicas subclínicas. En estos casos y a diferencia de lo que proponen otras guías, no se realizó un estudio medular basal debido a la falta de evidencia sobre su beneficio individual^{52,227}. En contraste, en los portadores de variantes en *PAX5*, la vigilancia no se mantuvo a largo plazo debido a la ausencia de consenso sobre su penetrancia y beneficio clínico. De hecho, se ha cuestionado la utilidad del estudio de segregación para la selección de donantes en estos pacientes³³¹. Por otro lado, en los portadores de variantes en *SAMD9*, que en nuestra serie correspondían a individuos adultos sanos, aún no está clara su repercusión a largo plazo, por lo que tampoco se estableció un seguimiento prolongado¹²⁵.

En cuanto a los portadores que desarrollaron enfermedad, requirieron un manejo más intensivo, que incluyó aspirados de médula ósea basales en algunos casos y seguimientos semestrales en función de las citopenias observadas. Esto subraya la necesidad de adaptar las estrategias de manejo a la expresión clínica de las mutaciones de los distintos síndromes de predisposición, donde la variabilidad fenotípica puede ser significativa.

Una cuestión destacable es la ausencia de seguimiento clínico en portadores heterocigotos de variantes recesivas, quienes, al no presentar riesgos hematológicos, no fueron objeto de vigilancia activa. Este enfoque es razonable desde un punto de vista clínico, pero podría requerir reevaluaciones a largo plazo en función de los avances en el conocimiento genético y la potencial identificación de riesgos no documentados previamente^{238,239}.

Por su parte, los portadores de mutaciones 'pan-cáncer' fueron derivados a la Unidad de Consejo Genético del Cáncer para seguir el protocolo establecido por Oncología Médica.

En conjunto, los hallazgos de este tipo de estudios ponen de manifiesto la importancia de considerar la implicación de los familiares en la toma de decisiones sobre el seguimiento y manejo, teniendo en cuenta tanto los aspectos clínicos como psicosociales. De cara al futuro, sería pertinente establecer protocolos claros y uniformes para el manejo de portadores, diferenciando entre aquellos con mutaciones de alta penetrancia y aquellos con mutaciones de riesgo moderado. Además, es crucial validar estas estrategias en cohortes más amplias y en estudios longitudinales, que permitan evaluar el impacto de las medidas de seguimiento en la detección precoz de enfermedades hematológicas.

7. CONCLUSIONES

1. En relación con la muestra germinal utilizada:
 - a. La elección del tipo de muestra germinal tuvo un impacto significativo en la calidad del DNA obtenido.
 - b. El cultivo de fibroblastos cutáneos constituye una opción óptima debido a la elevada cantidad y pureza del DNA recuperado. El reducido tamaño del punch minimiza los eventos adversos y no compromete el tiempo de cultivo.
 - c. Las muestras de sangre periférica, médula ósea, saliva o mucosa oral son alternativas viables en pacientes sin evidencia de clonalidad en el tejido hematopoyético.
 - d. La selección de linfocitos CD3⁺ presenta limitaciones, como una menor cantidad de DNA recuperado y una mayor tasa de fallos en los análisis.
2. En relación con el panel de NGS utilizado para el diagnóstico de neoplasias hematológicas hereditarias:
 - a. El panel implementado mostró un adecuado equilibrio entre especificidad y profundidad de lectura.
 - b. La repetitividad y reproducibilidad del 100% respalda la robustez del panel empleado y garantiza la fiabilidad de los resultados obtenidos.
3. En relación con la identificación y caracterización de alteraciones genéticas de origen germinal en la serie global:
 - a. La mayoría de pacientes (52%) no presentaba ninguna alteración relevante de carácter germinal.
 - b. Los genes con mayor número de variantes deletéreas identificadas fueron: *FANCA*, *DDX41*, *ELANE*, *FANCM* y *SBDS*.
 - c. Los genes con mayor número de variantes de significado clínico incierto fueron: *ATM*, *NF1*, *RTEL1*, *DNAJC21*, *EFL1*, *FANCI*, *MSH6* y *FANCA*.
 - d. Los genes más frecuentemente implicados en síndromes de predisposición fueron: *DDX41*, *ELANE*, *GATA2*, *RUNX1*, *SAMD9*, *FANCA* y *WAS*.
4. En relación con la asociación genotipo-fenotipo observada en la serie global:
 - a. Los pacientes con un síndrome de predisposición y disfunción orgánica desarrollaron con más frecuencia insuficiencia medular y debutaron a una edad más temprana que los pacientes del resto de categorías.
 - b. Los casos con enfermedad mieloide de origen germinal presentaron una cifra menor de leucocitos al diagnóstico en comparación con los casos esporádicos.
 - c. Los pacientes con insuficiencia medular esporádica presentaron niveles de hemoglobina menores que aquéllos con insuficiencia medular de origen germinal.
 - d. No se observaron diferencias significativas en la edad, el VCM, la cifra de plaquetas, la celularidad en médula ósea y la displasia en médula ósea al debut

de la enfermedad hematológica entre el grupo de pacientes con predisposición hereditaria y aquellos con enfermedad esporádica, tanto en enfermedad mieloide como en insuficiencia medular.

5. En relación con el análisis de los criterios de sospecha en la serie consecutiva:
 - a. La incidencia de alteraciones de origen germinal en esta serie (9%) fue similar a la descrita en otras poblaciones.
 - b. Los pacientes que presentaron signos o síntomas relacionados con NHHs, antecedentes familiares de primer grado (AFPG) de enfermedad hematológica, o dos o más neoplasias independientes (al menos una de ellas hematológica) mostraron un mayor riesgo de presentar un síndrome de predisposición. En cambio, ni la edad ni las citopenias previas al desarrollo de una neoplasia hematológica se asociaron con predisposición germinal en nuestra serie.
 - c. Aunque no se identificó un patrón específico de alteraciones somáticas adquiridas en los síndromes de predisposición, se confirmaron hallazgos previos en pacientes con mutación en *DDX41*, que suelen presentar un segundo *hit* en el mismo gen y cariotipo normal, y pacientes con neoplasias relacionadas con la terapia, que a menudo presentan un cariotipo complejo.
 - d. Sólo en una minoría de los casos en los que el diagnóstico molecular somático sugiere un origen germinal, éste se confirmó. La mayoría de los pacientes con un síndrome de predisposición no fueron identificados en el análisis somático inicial.
 - e. El modelo propuesto, basado en la presencia de al menos uno de tres criterios clínicos significativos (signos y síntomas sugestivos de NHHs, tener más de una neoplasia independiente o AFPG hematológicos) demostró una adecuada capacidad discriminativa para identificar pacientes con predisposición hereditaria. Por el contrario, su ausencia se mostró útil para descartar candidatos al estudio germinal.
6. En relación con el impacto clínico del programa de predisposición en el Hospital La Fe:
 - a. La identificación de variantes germinales en familiares no fue sistemáticamente tomada en cuenta en la selección de donantes emparentados en el período de estudio, lo que en al menos un caso fue determinante en el desarrollo de una leucemia en células del donante.
 - b. La ausencia de consentimiento informado previo dificultó la gestión de la información genética en dos familias, requiriendo la intervención del comité ético y la toma de decisiones individualizadas en función de la relevancia del gen implicado.
 - c. Se observó una variabilidad inter-familiar en la aceptación del estudio de segregación y en la continuidad del seguimiento clínico de los familiares portadores.
 - d. El 41% de los pacientes con diagnóstico de un síndrome de predisposición se benefició de una adaptación del manejo de su enfermedad, incluyendo terapias dirigidas, monitorización molecular específica o seguimiento multidisciplinar.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Urioste Azcorra, M. *Detección e Identificación de Síndromes de Susceptibilidad al Cáncer*. (Madrid: Fundación Tejerina, 2011).
2. Bennett, R. L. *et al.* Recommendations for standardized human pedigree nomenclature. *J Genet Couns* **4**, 267–79 (1995).
3. Urioste Azcorra, M. & Benítez Ortiz, J. Cuando el cáncer es una enfermedad rara. *Arbor: Ciencia, pensamiento y cultura*, ISSN 0210-1963, Vol. 194, Nº. 789 (julio-septiembre 2018), 2018 (Ejemplar dedicado a: Medicina, ciencia y realidad de las enfermedades raras) **194**, 464 (2018).
4. Bruinooge, S. S. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* **21**, 2397–2406 (2003).
5. Lu, K. H. *et al.* American Society of Clinical Oncology Expert Statement: collection and use of a cancer family history for oncology providers. *J Clin Oncol* **32**, 833–840 (2014).
6. DiNardo, C. D. *et al.* Improving the detection of patients with inherited predispositions to hematologic malignancies using next-generation sequencing-based leukemia prognostication panels. *Cancer* **124**, 2704–2713 (2018).
7. Song, W. J. *et al.* Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukaemia. *Nat Genet* **23**, 166–175 (1999).
8. Akpan, I. J., Osman, A. E. G., Drazer, M. W. & Godley, L. A. Hereditary Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia: Diagnosis, Questions, and Controversies. *Curr Hematol Malig Rep* **13**, 426–434 (2018).
9. Pippucci, T. *et al.* Mutations in the 5' UTR of ANKRD26, the ankirin repeat domain 26 gene, cause an autosomal-dominant form of inherited thrombocytopenia, THC2. *Am J Hum Genet* **88**, 115–120 (2011).
10. Noris, P. *et al.* Mutations in ANKRD26 are responsible for a frequent form of inherited thrombocytopenia: analysis of 78 patients from 21 families. *Blood* **117**, 6673–6680 (2011).
11. Noris, P. *et al.* ANKRD26-related thrombocytopenia and myeloid malignancies. *Blood* **122**, 1987–1989 (2013).
12. Zhang, M. Y. *et al.* Germline ETV6 mutations in familial thrombocytopenia and hematologic malignancy. *Nat Genet* **47**, 180 (2015).

13. Noetzli, L. *et al.* Germline mutations in ETV6 are associated with thrombocytopenia, red cell macrocytosis and predisposition to lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* **47**, 535–538 (2015).
14. Topka, S. *et al.* Germline ETV6 Mutations Confer Susceptibility to Acute Lymphoblastic Leukemia and Thrombocytopenia. *PLoS Genet* **11**, (2015).
15. Smith, M. L., Cavenagh, J. D., Lister, T. A. & Fitzgibbon, J. Mutation of CEBPA in Familial Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* **351**, 2403–2410 (2004).
16. Polprasert, C. *et al.* Inherited and Somatic Defects in DDX41 in Myeloid Neoplasms. *Cancer Cell* **27**, 658–670 (2015).
17. Hahn, C. N. *et al.* Heritable GATA2 Mutations Associated with Familial Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia. *Nat Genet* **43**, 1012 (2011).
18. Harutyunyan, A. S. *et al.* Germline RBBP6 mutations in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood* **127**, 362–365 (2016).
19. Kirwan, M. *et al.* Defining the pathogenic role of telomerase mutations in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Hum Mutat* **30**, 1567–1573 (2009).
20. Narumi, S. *et al.* SAMD9 mutations cause a novel multisystem disorder, MIRAGE syndrome, and are associated with loss of chromosome 7. *Nat Genet* **48**, 792–797 (2016).
21. Chen, D. H. *et al.* Ataxia-Pancytopenia Syndrome Is Caused by Missense Mutations in SAMD9L. *Am J Hum Genet* **98**, 1146–1158 (2016).
22. Tesi, B. *et al.* Gain-of-function SAMD9L mutations cause a syndrome of cytopenia, immunodeficiency, MDS, and neurological symptoms. *Blood* **129**, 2266–2279 (2017).
23. Brown, A. L., Churpek, J. E., Malcovati, L., Döhner, H. & Godley, L. A. Recognition of familial myeloid neoplasia in adults. *Semin Hematol* **54**, 60–68 (2017).
24. Huang, K. lin *et al.* Pathogenic Germline Variants in 10,389 Adult Cancers. *Cell* **173**, 355–370.e14 (2018).
25. Lu, C. *et al.* Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nat Commun* **6**, (2015).
26. Wartiovaara-Kautto, U. *et al.* Germline alterations in a consecutive series of acute myeloid leukemia. *Leukemia* **32**, 2282–2285 (2018).
27. Yang, F. *et al.* Identification and prioritization of myeloid malignancy germline variants in a large cohort of adult patients with AML. *Blood* **139**, 1208–1221 (2022).

28. Drazer, M. W. *et al.* Prognostic tumor sequencing panels frequently identify germ line variants associated with hereditary hematopoietic malignancies. *Blood Adv* **2**, 146–150 (2018).
29. Churchman, M. L. *et al.* Germline Genetic IKZF1 Variation and Predisposition to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Cell* **33**, 937–948.e8 (2018).
30. Qian, M. *et al.* Novel susceptibility variants at the ERG locus for childhood acute lymphoblastic leukemia in Hispanics. *Blood* **133**, 724–729 (2019).
31. Moriyama, T. *et al.* Germline genetic variation in ETV6 and risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia: a systematic genetic study. *Lancet Oncol* **16**, 1659–1666 (2015).
32. Feurstein, S., Drazer, M. W. & Godley, L. A. Genetic predisposition to leukemia and other hematologic malignancies. *Semin Oncol* **43**, 598–608 (2016).
33. Hayashi, Y., Harada, Y., Huang, G. & Harada, H. Myeloid neoplasms with germ line RUNX1 mutation. *Int J Hematol* **106**, 183–188 (2017).
34. Feurstein, S. & Godley, L. A. Germline ETV6 mutations and predisposition to hematological malignancies. *Int J Hematol* **106**, 189–195 (2017).
35. Wlodarski, M. W., Collin, M. & Horwitz, M. S. GATA2 deficiency and related myeloid neoplasms. *Semin Hematol* **54**, 81–86 (2017).
36. Cheah, J. J. C., Hahn, C. N., Hiwase, D. K., Scott, H. S. & Brown, A. L. Myeloid neoplasms with germline DDX41 mutation. *Int J Hematol* **106**, 163–174 (2017).
37. Davidsson, J. *et al.* SAMD9 and SAMD9L in inherited predisposition to ataxia, pancytopenia, and myeloid malignancies. *Leukemia* **32**, 1106–1115 (2018).
38. Valdez, J. M., Nichols, K. E. & Kesserwan, C. Li-Fraumeni syndrome: a paradigm for the understanding of hereditary cancer predisposition. *Br J Haematol* **176**, 539–552 (2017).
39. Kirwan, M. *et al.* Exome sequencing identifies autosomal-dominant SRP72 mutations associated with familial aplasia and myelodysplasia. *Am J Hum Genet* **90**, 888–892 (2012).
40. Churpek, J. E. *et al.* Genomic analysis of germ line and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia. *Blood* **126**, 2484–2490 (2015).
41. Kennedy, A. L. & Shimamura, A. Genetic predisposition to MDS: clinical features and clonal evolution. *Blood* **133**, 1071–1085 (2019).

42. Armes, H. *et al.* Acquired somatic variants in inherited myeloid malignancies. *Leukemia* **36**, 1377–1381 (2022).
43. Trottier, A. M. & Godley, L. A. Inherited predisposition to haematopoietic malignancies: overcoming barriers and exploring opportunities. *Br J Haematol* **194**, 663–676 (2021).
44. Howlett, N. G. *et al.* Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia. *Science* **297**, 606–609 (2002).
45. Stubbins, R. J., Korotev, S. & Godley, L. A. Germline CHEK2 and ATM Variants in Myeloid and Other Hematopoietic Malignancies. *Curr Hematol Malig Rep* **17**, 94–104 (2022).
46. Friedenson, B. BRCA1 and BRCA2 Pathways and the Risk of Cancers Other Than Breast or Ovarian. *Medscape General Medicine* **7**, 60 (2005).
47. Teppo, L., Pukkata, E. & Saxim, E. *Multiple Cancer-an Epidemiologic Exercise in Finland*. <http://jnci.oxfordjournals.org/> (1985).
48. Evans, H. S. *et al.* Incidence of multiple primary cancers in a cohort of women diagnosed with breast cancer in southeast England. *Br J Cancer* **84**, 435 (2001).
49. Sandner, A. S. *et al.* Frequency of hematologic and solid malignancies in the family history of 50 patients with acute myeloid leukemia - a single center analysis. *PLoS One* **14**, (2019).
50. Tawana, K., Drazer, M. W. & Churpek, J. E. Universal genetic testing for inherited susceptibility in children and adults with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia: are we there yet? *Leukemia* **32**, 1482–1492 (2018).
51. Arber, D. A., Orazi, A. & Hasserjian, R. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-2405. *Blood* **128**, 462–463 (2016).
52. Baliakas, P. *et al.* Nordic Guidelines for Germline Predisposition to Myeloid Neoplasms in Adults: Recommendations for Genetic Diagnosis, Clinical Management and Follow-up. *Hemasphere* **3**, (2019).
53. Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH). Manual para el diagnóstico y atención clínica en la predisposición germinal a neoplasias hematológicas. (2024).
54. Döhner, H. *et al.* Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood* **140**, (2022).

55. Khoury, J. D. *et al.* The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* **36**, 1703–1719 (2022).
56. Arber, D. A. *et al.* International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* **140**, (2022).
57. Bluteau, O. *et al.* A landscape of germ line mutations in a cohort of inherited bone marrow failure patients. *Blood* **131**, 717–732 (2018).
58. Quesada, A. E. *et al.* DDX41 mutations in myeloid neoplasms are associated with male gender, TP53 mutations and high-risk disease. *Am J Hematol* **94**, 757–766 (2019).
59. Rio-Machin, A. & Fitzgibbon, J. DDX41: the poster child for familial AML. *Blood* **140**, 667–669 (2022).
60. Qu, S. *et al.* Molecular and clinical features of myeloid neoplasms with somatic DDX41 mutations. *Br J Haematol* **192**, 1006–1010 (2021).
61. Li, P. *et al.* The genetic landscape of germline DDX41 variants predisposing to myeloid neoplasms. *Blood* **140**, 716–755 (2022).
62. Li, P. *et al.* AML with germline DDX41 variants is a clinicopathologically distinct entity with an indolent clinical course and favorable outcome. *Leukemia* **36**, 664–674 (2022).
63. Makishima, H. *et al.* Germline DDX41 mutations define a unique subtype of myeloid neoplasms. *Blood* (2022) doi:10.1182/BLOOD.2022018221.
64. Sébert, M. *et al.* Germline DDX41 mutations define a significant entity within adult MDS/AML patients. *Blood* **134**, 1441–1444 (2019).
65. Alkhateeb, H. B. *et al.* Genetic features and clinical outcomes of patients with isolated and comutated DDX41-mutated myeloid neoplasms. *Blood Adv* **6**, 528–532 (2022).
66. Tawana, K. *et al.* Disease evolution and outcomes in familial AML with germline CEBPA mutations. *Blood* **126**, 1214–1223 (2015).
67. Brown, A. L., Hahn, C. N. & Scott, H. S. Secondary leukemia in patients with germline transcription factor mutations (RUNX1, GATA2, CEBPA). *Blood* **136**, 24–35 (2020).
68. Taskesen, E. *et al.* Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with CEBPA mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for CEBPA double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood* **117**, 2469–2475 (2011).

69. Pathak, A. *et al.* Whole exome sequencing reveals a C-terminal germline variant in CEBPA-associated acute myeloid leukemia: 45-year follow up of a large family. *Haematologica* **101**, 846–852 (2016).
70. Pabst, T., Eyholzer, M., Haefliger, S., Schardt, J. & Mueller, B. U. Somatic CEBPA mutations are a frequent second event in families with germline CEBPA mutations and familial acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* **26**, 5088–5093 (2008).
71. Malkin, D. Li-fraumeni syndrome. *Genes Cancer* **2**, 475–484 (2011).
72. Kamihara, J., Rana, H. Q. & Garber, J. E. Germline TP53 mutations and the changing landscape of Li-Fraumeni syndrome. *Hum Mutat* **35**, 654–662 (2014).
73. Swaminathan, M. *et al.* Hematologic malignancies and Li-Fraumeni syndrome. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* **5**, (2019).
74. Gonzalez, K. D. *et al.* Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. *J Clin Oncol* **27**, 1250–1256 (2009).
75. Chompret A *et al.* P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals. *Br J Cancer* **82**, 1932–1937 (2000).
76. Kratz, C. P. *et al.* Cancer Screening Recommendations for Individuals with Li-Fraumeni Syndrome. *Clin Cancer Res* **23**, e38–e45 (2017).
77. Olivier, M. *et al.* Li-Fraumeni and Related Syndromes: Correlation between Tumor Type, Family Structure, and TP53 Genotype 1. *Cancer Res* **63**, 6643–6650 (2003).
78. Bougeard, G. *et al.* Revisiting Li-Fraumeni Syndrome From TP53 Mutation Carriers. *J Clin Oncol* **33**, 2345–2352 (2015).
79. Li, F. P. & Fraumeni, J. F. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome? *Ann Intern Med* **71**, 747–752 (1969).
80. Ruijs, M. W. G. *et al.* TP53 germline mutation testing in 180 families suspected of Li-Fraumeni syndrome: Mutation detection rate and relative frequency of cancers in different familial phenotypes. *J Med Genet* **47**, 421–428 (2010).
81. Birch, J. M. *et al.* Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. *Oncogene* **20**, 4621–4628 (2001).
82. Bougeard, G. *et al.* Molecular basis of the Li-Fraumeni syndrome: an update from the French LFS families. *J Med Genet* **45**, 535–538 (2008).
83. Chompret, A. *et al.* Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening. *J Med Genet* **38**, 43–47 (2001).

84. Tinat, J. *et al.* 2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome. *J Clin Oncol* **27**, (2009).
85. Li, F. P. *et al.* A Cancer Family Syndrome in Twenty-four Kindreds. *Cancer Res* **48**, 5358–5362 (1988).
86. Talwalkar, S. S. *et al.* Myelodysplastic syndromes arising in patients with germline TP53 mutation and Li-Fraumeni syndrome. *Arch Pathol Lab Med* **134**, 1010–1015 (2010).
87. Grimwade, D., Ivey, A. & Huntly, B. J. P. Review Series ADVANCES IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. (2016) doi:10.1182/blood-2015-07.
88. Wu, D. *et al.* How I curate: applying American Society of Hematology-Clinical Genome Resource Myeloid Malignancy Variant Curation Expert Panel rules for RUNX1 variant curation for germline predisposition to myeloid malignancies. *Haematologica* **105**, 870–887 (2020).
89. Homan, C. C. *et al.* The RUNX1 database (RUNX1db): establishment of an expert curated RUNX1 registry and genomics database as a public resource for familial platelet disorder with myeloid malignancy. *Haematologica* **106**, 3004–3007 (2021).
90. Hayashi, Y., Harada, Y. & Harada, H. Myeloid neoplasms and clonal hematopoiesis from the RUNX1 perspective. *Leukemia* **36**, 1203–1214 (2022).
91. Noris, P. & Pecci, A. Hereditary thrombocytopenias: a growing list of disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2017**, 385–399 (2017).
92. Marconi, C. *et al.* 5'UTR point substitutions and N-terminal truncating mutations of ANKRD26 in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol* **10**, (2017).
93. Bluteau, D. *et al.* Thrombocytopenia-associated mutations in the ANKRD26 regulatory region induce MAPK hyperactivation. *J Clin Invest* **124**, 580–591 (2014).
94. Fei, Z., Bera, T. K., Liu, X., Xiang, L. & Pastan, I. Ankrd26 gene disruption enhances adipogenesis of mouse embryonic fibroblasts. *J Biol Chem* **286**, 27761–27768 (2011).
95. Paola, J. Di & Porter, C. C. ETV6-related thrombocytopenia and leukemia predisposition. *Blood* **134**, 663–667 (2019).
96. Melazzini, F. *et al.* Clinical and pathogenic features of ETV6-related thrombocytopenia with predisposition to acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* **101**, 1333–1342 (2016).

97. Wang, M. *et al.* Common genetic variation in ETV6 is associated with colorectal cancer susceptibility. *Nat Commun* **7**, (2016).
98. Kotmayer, L. *et al.* GATA2 deficiency and MDS/AML: Experimental strategies for disease modelling and future therapeutic prospects. *Br J Haematol* (2022) doi:10.1111/BJH.18330.
99. Doré, L. C., Chlon, T. M., Brown, C. D., White, K. P. & Crispino, J. D. Chromatin occupancy analysis reveals genome-wide GATA factor switching during hematopoiesis. *Blood* **119**, 3724–3733 (2012).
100. Wlodarski, M. W. *et al.* Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents. *Blood* **127**, 1387–1397 (2016).
101. Fasan, A. *et al.* GATA2 mutations are frequent in intermediate-risk karyotype AML with biallelic CEBPA mutations and are associated with favorable prognosis. *Leukemia* **27**, 482–485 (2013).
102. Greif, P. A. *et al.* GATA2 zinc finger 1 mutations associated with biallelic CEBPA mutations define a unique genetic entity of acute myeloid leukemia. *Blood* **120**, 395–403 (2012).
103. Theis, F. *et al.* Clinical impact of GATA2 mutations in acute myeloid leukemia patients harboring CEBPA mutations: a study of the AML study group. *Leukemia* **30**, 2248–2250 (2016).
104. Homan, C. C. *et al.* GATA2 deficiency syndrome: A decade of discovery. *Hum Mutat* **42**, 1399–1421 (2021).
105. Bresnick, E. H., Jung, M. M. & Katsumura, K. R. Human GATA2 mutations and hematologic disease: how many paths to pathogenesis? *Blood Adv* **4**, 4584–4592 (2020).
106. Wehr, C. *et al.* A novel disease-causing synonymous exonic mutation in GATA2 affecting RNA splicing. *Blood* **132**, 1211–1215 (2018).
107. Kozyra, E. J. *et al.* Synonymous GATA2 mutations result in selective loss of mutated RNA and are common in patients with GATA2 deficiency. *Leukemia* **34**, 2673–2687 (2020).
108. You, X. *et al.* Gata2 +9.5 enhancer regulates adult hematopoietic stem cell self-renewal and T-cell development. *Blood Adv* **6**, 1095–1099 (2022).
109. Collin, M., Dickinson, R. & Bigley, V. Haematopoietic and immune defects associated with GATA2 mutation. *Br J Haematol* **169**, 173–187 (2015).
110. Bruzzese, A. *et al.* GATA2 Related Conditions and Predisposition to Pediatric Myelodysplastic Syndromes. *Cancers (Basel)* **12**, 1–12 (2020).

111. West, R. R. *et al.* ASXL1 and STAG2 are common mutations in GATA2 deficiency patients with bone marrow disease and myelodysplastic syndrome. *Blood Adv* **6**, 793–807 (2022).
112. Hsu, A. P. *et al.* GATA2 haploinsufficiency caused by mutations in a conserved intronic element leads to MonoMAC syndrome. *Blood* **121**, 3830–3837 (2013).
113. Ostergaard, P. *et al.* Mutations in GATA2 cause primary lymphedema associated with a predisposition to acute myeloid leukemia (Emberger syndrome). *Nat Genet* **43**, 929–931 (2011).
114. Dickinson, R. E. *et al.* Exome sequencing identifies GATA-2 mutation as the cause of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *Blood* **118**, 2656–2658 (2011).
115. Sahoo, S. S., Kozyra, E. J. & Wlodarski, M. W. Germline predisposition in myeloid neoplasms: Unique genetic and clinical features of GATA2 deficiency and SAMD9/SAMD9L syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol* **33**, (2020).
116. Sahoo, S. S. *et al.* Clinical evolution, genetic landscape and trajectories of clonal hematopoiesis in SAMD9/SAMD9L syndromes. *Nat Med* **27**, 1806–1817 (2021).
117. Fabozzi, F., Strocchio, L., Mastronuzzi, A. & Merli, P. GATA2 and marrow failure. *Best Pract Res Clin Haematol* **34**, (2021).
118. Spinner, M. A. *et al.* GATA2 deficiency: a protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity. *Blood* **123**, 809–821 (2014).
119. Toboni, M. D. & Bevis, K. S. Vulvar Cancer as a Result of GATA2 Deficiency, a Rare Genetic Immunodeficiency Syndrome. *Obstetrics and gynecology* **132**, 1112–1115 (2018).
120. Shamriz, O. *et al.* GATA2 Deficiency in Adult Life Is Characterized by Phenotypic Diversity and Delayed Diagnosis. *Front Immunol* **13**, (2022).
121. Marciano, B. E. *et al.* Pulmonary Manifestations of GATA2 Deficiency. *Chest* **160**, 1350–1359 (2021).
122. Santiago, M., Liquori, A., Such, E., Zúñiga, Á. & Cervera, J. The Clinical Spectrum, Diagnosis, and Management of GATA2 Deficiency. *Cancers* vol. 15 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cancers15051590> (2023).
123. Pastor, V. B. *et al.* Constitutional SAMD9L mutations cause familial myelodysplastic syndrome and transient monosomy 7. *Haematologica* **103**, 427–437 (2018).

124. Wong, J. C. *et al.* Germline SAMD9 and SAMD9L mutations are associated with extensive genetic evolution and diverse hematologic outcomes. *JCI Insight* **3**, (2018).
125. Nagata, Y. *et al.* Germline loss-of-function SAMD9 and SAMD9L alterations in adult myelodysplastic syndromes. *Blood* **132**, 2309–2313 (2018).
126. Foe, J. R. L. T. *et al.* Expression cloning of a cDNA for the major Fanconi anaemia gene, FAA. *Nat Genet* **14**, 488 (1996).
127. Strathdee, C. A., Gavish, H., Shannon, W. R. & Buchwald, M. Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. *Nature* 1992 356:6372 **356**, 763–767 (1992).
128. De Winter, J. P. *et al.* The Fanconi anaemia group G gene FANCG is identical with XRCC9. *Nature Genetics* 1998 20:3 **20**, 281–283 (1998).
129. Auerbach, A. D. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res* **668**, 4–10 (2009).
130. Rosenberg, P. S., Tamary, H. & Alter, B. P. How high are carrier frequencies of rare recessive syndromes? Contemporary estimates for Fanconi Anemia in the United States and Israel. *Am J Med Genet A* **155A**, 1877–1883 (2011).
131. Kutler, D. & Auerbach, A. Fanconi anemia in Ashkenazi Jews. *Fam Cancer* **3**, 241–248 (2004).
132. Whitney, M. A. *et al.* A common mutation in the FACC gene causes Fanconi anaemia in Ashkenazi Jews. *Nature Genetics* 1993 4:2 **4**, 202–205 (1993).
133. Castella, M. *et al.* Origin, functional role, and clinical impact of Fanconi anemia FANCA mutations. *Blood* **117**, 3759 (2011).
134. Gregory, J. J. *et al.* Somatic mosaicism in Fanconi anemia: evidence of genotypic reversion in lymphohematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 2532–2537 (2001).
135. Ten Foe, J. R. Lo *et al.* Somatic Mosaicism in Fanconi Anemia: Molecular Basis and Clinical Significance. *European Journal of Human Genetics* 1997 5:3 **5**, 137–148 (1997).
136. Fanconi, G. (1927) Familiäre infantile perniziosartige Anämie (perniziöses Blutbild und Konstitution). *Jahrbuch für Kinderheilkunde*, 117, 257-280. - References - Scientific Research Publishing.
[https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=1538456](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=1538456).

137. Schroeder, T. M., Anschütz, F. & Knopp, A. Spontane Chromosomenaberrationen bei familiärer Panmyelopathie. *Hum Genet* **1**, 194–196 (1964).
138. Schuler, D., Kiss, A. & Fábíán, F. Chromosomal peculiarities and ‘in vitro’ examinations in Fanconi’s anaemia. *Hum Genet* **7**, 314–322 (1969).
139. Auerbach, A. D., Sagi, M. & Adler, B. Fanconi Anemia: Prenatal Diagnosis in 30 Fetuses at Risk. *Pediatrics* **76**, 794–800 (1985).
140. Meetei, A. R. *et al.* X-linked inheritance of Fanconi anemia complementation group B. *Nature Genetics* **2004 36:11** **36**, 1219–1224 (2004).
141. Wang, A. T. *et al.* A Dominant Mutation in Human RAD51 Reveals Its Function in DNA Interstrand Crosslink Repair Independent of Homologous Recombination. *Mol Cell* **59**, 478–490 (2015).
142. Ameziane, N. *et al.* A novel Fanconi anaemia subtype associated with a dominant-negative mutation in RAD51. *Nat Commun* **6**, (2015).
143. Alter, B. P. Fanconi anemia and the development of leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* **27**, 214 (2014).
144. Anemia Research Fund, F. Pautas para el manejo clínico de la anemia de Fanconi, Quinta edición 2020.
145. Shimamura, A. & Alter, B. P. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev* **24**, 101–122 (2010).
146. Giampietro, P. F., Verlander, P. C., Davis, J. G. & Auerbach, A. D. Diagnosis of Fanconi anemia in patients without congenital malformations: an international Fanconi Anemia Registry Study. *Am J Med Genet* **68**, 58–61 (1997).
147. Butturini, A. *et al.* Hematologic Abnormalities in Fanconi Anemia: An International Fanconi Anemia Registry Study.
148. Kutler, D. I. *et al.* A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). *Blood* **101**, 1249–1256 (2003).
149. Moyzis, R. K. *et al.* A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**, 6622–6626 (1988).
150. Vaziri, H. *et al.* Loss of telomeric DNA during aging of normal and trisomy 21 human lymphocytes. *Am J Hum Genet* **52**, 661–667 (1993).
151. Palm, W. & De Lange, T. How shelterin protects mammalian telomeres. *Annu Rev Genet* **42**, 301–334 (2008).

152. De Lange, T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* **19**, 2100–2110 (2005).
153. Surovtseva, Y. V. *et al.* Conserved Telomere Maintenance Component 1 Interacts with STN1 and Maintains Chromosome Ends in Higher Eukaryotes. *Mol Cell* **36**, 207–218 (2009).
154. Miyake, Y. *et al.* RPA-like Mammalian Ctc1-Stn1-Ten1 Complex Binds to Single-Stranded DNA and Protects Telomeres Independently of the Pot1 Pathway. *Mol Cell* **36**, 193–206 (2009).
155. Greider, C. W. & Blackburn, E. H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* **43**, 405–413 (1985).
156. Greider, C. W. & Blackburn, E. H. A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature* **337**, 331–337 (1989).
157. Lingner, J. *et al.* Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase. *Science* **276**, 561–567 (1997).
158. Feng, J. *et al.* The RNA component of human telomerase. *Science* **269**, 1236–1241 (1995).
159. Podlevsky, J. D. & Chen, J. J. L. It all comes together at the ends: telomerase structure, function, and biogenesis. *Mutat Res* **730**, 3–11 (2012).
160. Mitchell, J. R., Wood, E. & Collins, K. A telomerase component is defective in the human disease dyskeratosis congenita. *Nature* **402**, 551–555 (1999).
161. Armanios, M. & Blackburn, E. H. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet* **13**, 693–704 (2012).
162. Revy, P., Kannengiesser, C. & Bertuch, A. A. Genetics of human telomere biology disorders. *Nat Rev Genet* **24**, 86–108 (2023).
163. Revy, P., Kannengiesser, C. & Fischer, A. Somatic genetic rescue in Mendelian haematopoietic diseases. *Nat Rev Genet* **20**, 582–598 (2019).
164. Armanios, M. Syndromes of Telomere Shortening. *Annu Rev Genomics Hum Genet* **10**, 45 (2009).
165. Heiss, N. S. *et al.* X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet* **19**, 32–38 (1998).
166. Armanios, M. Telomerase and idiopathic pulmonary fibrosis. *Mutat Res* **730**, 52–58 (2012).

167. Parry, E. M., Alder, J. K., Qi, X., Chen, J. J. L. & Armanios, M. Syndrome complex of bone marrow failure and pulmonary fibrosis predicts germline defects in telomerase. *Blood* **117**, 5607–5611 (2011).
168. Alder, J. K. *et al.* Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 13051–13056 (2008).
169. McNally, E. J., Luncsford, P. J. & Armanios, M. Long telomeres and cancer risk: the price of cellular immortality. *J Clin Invest* **129**, 3474–3481 (2019).
170. Alter, B. P., Giri, N., Savage, S. A. & Rosenberg, P. S. Cancer in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndrome cohort after fifteen years of follow-up. *Haematologica* **103**, 30–39 (2018).
171. Schratz, K. E. *et al.* Cancer spectrum and outcomes in the Mendelian short telomere syndromes. *Blood* **135**, 1946–1956 (2020).
172. Dokal, I. Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol* **110**, 768–779 (2000).
173. Alter, B. P., Giri, N., Savage, S. A. & Rosenberg, P. S. Cancer in dyskeratosis congenita. *Blood* **113**, 6549–6557 (2009).
174. Dale, D. C. *et al.* Mutations in the gene encoding neutrophil elastase in congenital and cyclic neutropenia. *Blood* **96**, 2317–2322 (2000).
175. Horwitz, M., Benson, K. F., Person, R. E., Aprikyan, A. G. & Dale, D. C. Mutations in ELA2, encoding neutrophil elastase, define a 21-day biological clock in cyclic haematopoiesis. *Nat Genet* **23**, 433–436 (1999).
176. Skokowa, J., Dale, D. C., Touw, I. P., Zeidler, C. & Welte, K. Severe congenital neutropenias. *Nature Reviews Disease Primers* **2017 3:1** **3**, 1–18 (2017).
177. Horwitz, M. S. *et al.* Neutrophil elastase in cyclic and severe congenital neutropenia. *Blood* **109**, 1817–1824 (2007).
178. Makaryan, V. *et al.* The diversity of mutations and clinical outcomes for ELANE-associated neutropenia. *Curr Opin Hematol* **22**, 3 (2015).
179. Germeshausen, M. *et al.* The spectrum of ELANE mutations and their implications in severe congenital and cyclic neutropenia. *Hum Mutat* **34**, 905–914 (2013).
180. Klein, C. *et al.* HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease). *Nat Genet* **39**, 86–92 (2007).
181. Triot, A. *et al.* Inherited biallelic CSF3R mutations in severe congenital neutropenia. *Blood* **123**, 3811–3817 (2014).

182. Ward, A. C. *et al.* Novel point mutation in the extracellular domain of the granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptor in a case of severe congenital neutropenia hyporesponsive to G-CSF treatment. *J Exp Med* **190**, 497–507 (1999).
183. Dale, D. C. *et al.* Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the Severe Chronic Neutropenia International Registry. *Am J Hematol* **72**, 82–93 (2003).
184. Dale, D. C. *et al.* A Randomized Controlled Phase III Trial of Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (Filgrastim) for Treatment of Severe Chronic Neutropenia. *Blood* **81**, 2496 (1993).
185. Germeshausen, M., Skokowa, J., Ballmaier, M., Zeidler, C. & Welte, K. G-CSF receptor mutations in patients with congenital neutropenia. *Curr Opin Hematol* **15**, 332–337 (2008).
186. Dong, F. *et al.* Mutations in the granulocyte colony-stimulating factor receptor gene in patients with severe congenital neutropenia. *Leukemia* **11**, 120–125 (1997).
187. Dianzani, I. & Loreni, F. Diamond-Blackfan anemia: a ribosomal puzzle. *Haematologica* **93**, 1601–1604 (2008).
188. Draptchinskaia, N. *et al.* The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nat Genet* **21**, 169–175 (1999).
189. Da Costa, L. *et al.* Molecular approaches to diagnose Diamond-Blackfan anemia: The EuroDBA experience. *Eur J Med Genet* **61**, 664–673 (2018).
190. van Dooijeweert, B. *et al.* Pediatric Diamond-Blackfan anemia in the Netherlands: An overview of clinical characteristics and underlying molecular defects. *Eur J Haematol* **100**, 163–170 (2018).
191. Sankaran, V. G. *et al.* Exome sequencing identifies GATA1 mutations resulting in Diamond-Blackfan anemia. *J Clin Invest* **122**, 2439–2443 (2012).
192. Ludwig, L. S. *et al.* Altered translation of GATA1 in Diamond-Blackfan anemia. *Nat Med* **20**, 748–753 (2014).
193. Zhou, Q. *et al.* Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2. *N Engl J Med* **370**, 911–920 (2014).
194. Gripp, K. W. *et al.* Diamond-Blackfan anemia with mandibulofacial dystostosis is heterogeneous, including the novel DBA genes TSR2 and RPS28. *Am J Med Genet A* **164A**, 2240–2249 (2014).
195. Josephs, H. W. Anaemia of infancy and early childhood. *Medicine (United States)* **15**, 307–451 (1936).

196. DIAMOND, L. Hypoplastic anemia. *Am J Dis Child* **56**, 464–467 (1938).
197. Lipton, J., Kudisch, M., Gross, R. & Nathan, D. Defective erythroid progenitor differentiation system in congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia. *Blood* **67**, 962–968 (1986).
198. Miyake, K. *et al.* Ribosomal protein S19 deficiency leads to reduced proliferation and increased apoptosis but does not affect terminal erythroid differentiation in a cell line model of Diamond-Blackfan anemia. *Stem Cells* **26**, 323–329 (2008).
199. Vlachos, A. & Muir, E. How I treat Diamond-Blackfan anemia. *Blood* **116**, 3715–3723 (2010).
200. Vlachos, A. *et al.* Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol* **142**, 859 (2008).
201. Lipton, J. M., Atsidaftos, E., Zyskind, I. & Vlachos, A. Improving clinical care and elucidating the pathophysiology of Diamond Blackfan anemia: an update from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Pediatr Blood Cancer* **46**, 558–564 (2006).
202. Ramenghi, U. *et al.* Diamond-Blackfan anaemia in the Italian population. *Br J Haematol* **104**, 841–848 (1999).
203. Ball, S. E., McGuckin, C. P., Jenkins, G. & Gordon-Smith, E. C. Diamond-Blackfan anaemia in the U.K.: analysis of 80 cases from a 20-year birth cohort. *Br J Haematol* **94**, 645–653 (1996).
204. Glader, B. E. & Backer, K. Elevated red cell adenosine deaminase activity: a marker of disordered erythropoiesis in Diamond-Blackfan anaemia and other haematologic diseases. *Br J Haematol* **68**, 165–168 (1988).
205. Fargo, J. H. *et al.* Erythrocyte adenosine deaminase: Diagnostic value for Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol* **160**, 547–554 (2013).
206. Vlachos, A., Rosenberg, P. S., Atsidaftos, E., Alter, B. P. & Lipton, J. M. Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. doi:10.1182/blood-2011-08.
207. Strahm, B. *et al.* Favorable outcomes of hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with Diamond-Blackfan anemia. *Blood Adv* **4**, 1760–1769 (2020).
208. Boock, G. R. B. *et al.* Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet* **33**, 97–101 (2003).
209. Dror, Y. *et al.* Draft consensus guidelines for diagnosis and treatment of Shwachman-Diamond syndrome. *Ann N Y Acad Sci* **1242**, 40–55 (2011).

210. Crescenzi, B. *et al.* Totipotent stem cells bearing del(20q) maintain multipotential differentiation in Shwachman Diamond syndrome. *Br J Haematol* **144**, 116–119 (2009).
211. Maserati, E. *et al.* The route to development of myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukaemia in Shwachman-Diamond syndrome: the role of ageing, karyotype instability, and acquired chromosome anomalies. *Br J Haematol* **145**, 190–197 (2009).
212. Goobie, S. *et al.* Shwachman-Diamond Syndrome with Exocrine Pancreatic Dysfunction and Bone Marrow Failure Maps to the Centromeric Region of Chromosome 7. *The American Journal of Human Genetics* **68**, 1048–1054 (2001).
213. Shwachman, H., Diamond, L. K., Oski, F. A. & Khaw, K. T. The syndrome of pancreatic insufficiency and bone marrow dysfunction. *J Pediatr* **65**, 645–663 (1964).
214. BODIAN, M., SHELDON, W. & LIGHTWOOD, R. Congenital Hypoplasia of the Exocrine Pancreas. *Acta Paediatr* **53**, 282–293 (1964).
215. Burke, V., Colebatch, J. H., Anderson, C. M. & Simons, M. J. Association of Pancreatic Insufficiency and Chronic Neutropenia in Childhood. *Arch. Dis. Childh* **147** (1967) doi:10.1136/adc.42.222.147.
216. Aggett, P. J. *et al.* Shwachman's syndrome A review of 21 cases. *Arch Dis Child* **55**, 331–347 (1980).
217. SAVILAHTI, E. & RAPOLA, J. Frequent Myocardial Lesions in Shwachman's Syndrome. *Acta Paediatr* **73**, 642–651 (1984).
218. Ginzberg, H. *et al.* Shwachman syndrome: Phenotypic manifestations of sibling sets and isolated cases in a large patient cohort are similar. *J Pediatr* **135**, 81–88 (1999).
219. Nelson, A. S. & Myers, K. C. Diagnosis, Treatment, and Molecular Pathology of Shwachman-Diamond Syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* **32**, 687–700 (2018).
220. Hill, R. E., Durie, P. R., Gaskin, K. J., Davidson, G. P. & Forstner, G. G. Steatorrhea and Pancreatic Insufficiency in Shwachman Syndrome. *Gastroenterology* **83**, 22–27 (1982).
221. Smith, O. P., Hann, I. M., Chessells, J. M., Reeves, B. R. & Milla, P. Haematological abnormalities in Shwachman-Diamond syndrome. *Br J Haematol* **94**, 279–284 (1996).
222. Cada, M. *et al.* The impact of category, cytopathology and cytogenetics on development and progression of clonal and malignant myeloid transformation in inherited bone marrow failure syndromes. *Haematologica* **100**, 633–642 (2015).

223. Dale, D. C. *et al.* The Severe Chronic Neutropenia International Registry: 10-Year Follow-up Report. *Support Cancer Ther* **3**, 220–231 (2006).
224. Godley, L. A. & Shimamura, A. Genetic predisposition to hematologic malignancies: management and surveillance. *Blood* **130**, 424–432 (2017).
225. Desai, A. V., Perpich, M. & Godley, L. A. Clinical assessment and diagnosis of germline predisposition to Hematopoietic Malignancies: The University of Chicago experience. *Front Pediatr* **5**, 252 (2017).
226. Mangaonkar, A. A. & Patnaik, M. M. Hereditary Predisposition to Hematopoietic Neoplasms: When Bloodline Matters for Blood Cancers. *Mayo Clin Proc* **95**, 1482–1498 (2020).
227. Churpek, J. E. & Godley, L. A. How I diagnose and manage individuals at risk for inherited myeloid malignancies. *Blood* **128**, 1800–1813 (2016).
228. Furutani, E. & Shimamura, A. Germline Genetic Predisposition to Hematologic Malignancy. *J Clin Oncol* **35**, 1018–1028 (2017).
229. Jerez, J. & Santiago, M. Unraveling germline predisposition in hematological neoplasms: Navigating complexity in the genomic era. *Blood Reviews* Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.blre.2023.101143> (2023).
230. Kraft, I. L. & Godley, L. A. Identifying potential germline variants from sequencing hematopoietic malignancies. *Hematology (United States)* **20**, 219–227 (2020).
231. Duncavage, E. J. *et al.* Genomic profiling for clinical decision making in myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* **140**, 2228–2247 (2022).
232. Yohe, S. & Thyagarajan, B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. *Arch Pathol Lab Med* **141**, 1544–1557 (2017).
233. Richards, C. S. *et al.* ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. *Genet Med* **10**, 294–300 (2008).
234. 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* **17**, 405–424 (2015).
235. Riggs, E. R. *et al.* Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and

- Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genetics in Medicine* **22**, 245–257 (2020).
236. Tavgian, S. V. *et al.* Modeling the ACMG/AMP variant classification guidelines as a Bayesian classification framework. *Genetics in Medicine* **20**, 1054–1060 (2018).
 237. Tavgian, S. V., Harrison, S. M., Boucher, K. M. & Biesecker, L. G. Fitting a naturally scaled point system to the ACMG/AMP variant classification guidelines. *Hum Mutat* **41**, 1734–1737 (2020).
 238. Ellard, S. *et al.* ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare Disease 2020. (2020).
 239. Durkie, M. *et al.* ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare Disease 2024. Royal Devon University Healthcare NHS Foundation Trust, Exeter, EX2 5DW. 5. Division of Genetics and Epidemiology vol. 12 <http://gnomad.broadinstitute.org/> (2024).
 240. Feurstein, S., Hahn, C. N., Mehta, N. & Godley, L. A. A practical guide to interpreting germline variants that drive hematopoietic malignancies, bone marrow failure, and chronic cytopenias. *Genetics in Medicine* **24**, 931–954 (2022).
 241. Luo, X. *et al.* ClinGen Myeloid Malignancy Variant Curation Expert Panel recommendations for germline RUNX1 variants. *Blood Adv* **3**, 2962–2979 (2019).
 242. Feurstein, S. *et al.* Revision of RUNX1 variant curation rules. *Blood Advances* vol. 6 4726–4730 Preprint at <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022008017> (2022).
 243. Fortuno, C. *et al.* Specifications of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for germline TP53 variants. *Hum Mutat* **42**, 223–236 (2021).
 244. Richardson, M. E. *et al.* Specifications of the ACMG/AMP variant curation guidelines for the analysis of germline ATM sequence variants. *Am J Hum Genet* **111**, 2411 (2024).
 245. Gelb, B. D. *et al.* ClinGen’s RASopathy Expert Panel consensus methods for variant interpretation. *Genetics in Medicine* **20**, 1334–1345 (2018).
 246. Crisà, E. *et al.* Genetic Predisposition to Myelodysplastic Syndromes: A Challenge for Adult Hematologists. *Int J Mol Sci* **22**, 1–19 (2021).
 247. Generalitat Valenciana & Conselleria de Sanitat Universal i Salut Publica. *Guía de Práctica Clínica En Cáncer Hereditario de La Comunitat Valenciana*. (2017).

248. Dimillo, J. *et al.* Living with the BRCA genetic mutation: an uncertain conclusion to an unending process. *Psychol Health Med* **18**, 125–134 (2013).
249. Milhabet, I., Duprez, C., Krzeminski, A. & Christophe, V. Cancer risk comparative perception and overscreening behaviours of non-carriers from BRCA1/2 families. *Eur J Cancer Care (Engl)* **22**, 540–548 (2013).
250. Jefatura del Estado «BOE» núm. 159. *Ley 14/2007, de 3 de Julio, de Investigación Biomédica.* (Jefatura del Estado «BOE» núm. 159, de 04 de julio de 2007 Referencia: BOE-A-2007-12945, 2007).
251. Joan Brunet i Vidal. Aspectos éticos y legales del asesoramiento genético. *Psicooncología* <https://revistas.ucm.es/index.php/PSIC/article/view/PSIC0505230243C> (2005).
252. Villani, A. *et al.* Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: a prospective observational study. *Lancet Oncol* **12**, 559–567 (2011).
253. Saygin, C. *et al.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplant outcomes in adults with inherited myeloid malignancies. *Blood Adv* **7**, 549–554 (2023).
254. Sorrell, A. D., Espenschied, C. R., Culver, J. O. & Weitzel, J. N. Tumor protein p53 (TP53) testing and Li-Fraumeni syndrome : current status of clinical applications and future directions. *Mol Diagn Ther* **17**, 31–47 (2013).
255. Peffault De Latour, R. *et al.* Recommendations on hematopoietic stem cell transplantation for inherited bone marrow failure syndromes. *Bone Marrow Transplant* **50**, 1168–1172 (2015).
256. Bortnick, R. *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with GATA2-related myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* **56**, 2732–2741 (2021).
257. Khincha, P. P., Wentzensen, I. M., Giri, N., Alter, B. P. & Savage, S. A. Response to androgen therapy in patients with dyskeratosis congenita. *Br J Haematol* **165**, 349–357 (2014).
258. Rojek, K. *et al.* Identifying Inherited and Acquired Genetic Factors Involved in Poor Stem Cell Mobilization and Donor-Derived Malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant* **22**, 2100–2103 (2016).
259. Owen, C. J. *et al.* Five new pedigrees with inherited RUNX1 mutations causing familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy. *Blood* **112**, 4639–4645 (2008).

260. Xiao, H. *et al.* First report of multiple CEBPA mutations contributing to donor origin of leukemia relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* **117**, 5257–5260 (2011).
261. Gibson, C. J. *et al.* Donor Clonal Hematopoiesis and Recipient Outcomes After Transplantation. *J Clin Oncol* **40**, 189–201 (2021).
262. Gurnari, C. *et al.* Germline predisposition traits in allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for myelodysplastic syndromes: a survey-based study and position paper on behalf of the Chronic Malignancies Working Party of the EBMT. *The Lancet. Haematology* vol. 10 e994–e1005 Preprint at [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(23\)00265-X](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(23)00265-X) (2023).
263. Bennett, R. L., French, K. S., Resta, R. G. & Doyle, D. L. Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns* **17**, 424–433 (2008).
264. Xiang, J., Peng, J., Baxter, S. & Peng, Z. AutoPVS1: An automatic classification tool for PVS1 interpretation of null variants. *Hum Mutat* **41**, 1488–1498 (2020).
265. DeRoin, L. *et al.* Feasibility and limitations of cultured skin fibroblasts for germline genetic testing in hematologic disorders. *Hum Mutat* **43**, 950–962 (2022).
266. Wright, C. F. *et al.* Assessing the Pathogenicity, Penetrance, and Expressivity of Putative Disease-Causing Variants in a Population Setting. *Am J Hum Genet* **104**, 275–286 (2019).
267. Barton, A. R., Hujoel, M. L. A., Mukamel, R. E., Sherman, M. A. & Loh, P. R. A spectrum of recessiveness among Mendelian disease variants in UK Biobank. *Am J Hum Genet* **109**, 1298 (2022).
268. Guijarro, F. *et al.* Germ line variants in patients with acute myeloid leukemia without a suspicion of hereditary hematologic malignancy syndrome. *Blood Adv* **7**, 5799–5811 (2023).
269. Kubota, Y. *et al.* Significance of hereditary gene alterations for the pathogenesis of adult bone marrow failure versus myeloid neoplasia. *Leukemia* **36**, 2827–2834 (2022).
270. Molteni, E. *et al.* Prevalence and clinical expression of germ line predisposition to myeloid neoplasms in adults with marrow hypocellularity.
271. Pajares, B. *et al.* Hereditary breast and ovarian cancer in Andalusian families: a genetic population study. doi:10.1186/s12885-018-4537-9.
272. Wang, Y. A. *et al.* Germline breast cancer susceptibility gene mutations and breast cancer outcomes. *BMC Cancer* **18**, (2018).

-
273. Duployez, N. *et al.* Germline PAX5 mutation predisposes to familial B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **137**, 1424–1428 (2021).
274. Feurstein, S. *et al.* *Germ Line Predisposition Variants Occur in Myelodysplastic Syndrome Patients of All Ages*. https://github.com/LucyGodley/Pipeline/tree/main/Variant_ (2022) doi:10.1182/blood.2022015790.
275. Vigon, I. *et al.* Molecular cloning and characterization of MPL, the human homolog of the v-mpl oncogene: identification of a member of the hematopoietic growth factor receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 5640–5644 (1992).
276. Ihara, K. *et al.* Identification of mutations in the c-mpl gene in congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 3132–3136 (1999).
277. Teofili, L. & Larocca, L. M. Advances in understanding the pathogenesis of familial thrombocythaemia. *Br J Haematol* **152**, 701–712 (2011).
278. Teofili, L. *et al.* Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica* **95**, 65–70 (2010).
279. Schmitz-Abe, K. *et al.* Congenital sideroblastic anemia due to mutations in the mitochondrial HSP70 homologue HSPA9. (2015) doi:10.1182/blood.
280. H-P Chen, T. *et al.* Knockdown of Hspa9, a del(5q31.2) gene, results in a decrease in hematopoietic progenitors in mice. *Blood* **117**, 1530–1539 (2011).
281. Bubien, V. *et al.* High cumulative risks of cancer in patients with PTEN hamartoma tumour syndrome. *J Med Genet* **50**, 255–263 (2013).
282. Mendoza, P. R. & Grossniklaus, H. E. The Biology of Retinoblastoma. *Prog Mol Biol Transl Sci* **134**, 503–516 (2015).
283. Cheloor Kovilakam, S. *et al.* Prevalence and significance of DDX41 gene variants in the general population. *Blood* **142**, 1185–1192 (2023).
284. Maierhofer, A. *et al.* The clinical and genomic landscape of patients with DDX41 variants identified during diagnostic sequencing. *Blood Adv* **7**, 7346–7357 (2023).
285. Makishima, H., Bowman, T. V. & Godley, L. A. DDX41-associated susceptibility to myeloid neoplasms. *Blood* **141**, 1544–1552 (2023).

286. Kobayashi, S. *et al.* Donor cell leukemia arising from preleukemic clones with a novel germline DDX41 mutation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia* **31**, 1020–1022 (2017).
287. Berger, G. *et al.* Re-emergence of acute myeloid leukemia in donor cells following allogeneic transplantation in a family with a germline DDX41 mutation. *Leukemia* **31**, 520–522 (2017).
288. Rolles, B. *et al.* DDX41 germline variants causing donor cell leukemia indicate a need for further genetic workup in the context of hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Cancer J* **13**, (2023).
289. Diness, B. R. *et al.* Putative new childhood leukemia cancer predisposition syndrome caused by germline bi-allelic missense mutations in DDX41. *Genes Chromosomes Cancer* **57**, 670–674 (2018).
290. Preudhomme, C. *et al.* High frequency of RUNX1 biallelic alteration in acute myeloid leukemia secondary to familial platelet disorder. *Blood* **113**, 5583–5587 (2009).
291. Schmit, J. M. *et al.* Two novel RUNX1 mutations in a patient with congenital thrombocytopenia that evolved into a high grade myelodysplastic syndrome. *Leuk Res Rep* **4**, 24–27 (2015).
292. Antony-Debré, I. *et al.* Somatic mutations associated with leukemic progression of familial platelet disorder with predisposition to acute myeloid leukemia. *Leukemia* **30**, 999–1002 (2016).
293. Walker, L. C. *et al.* A novel inherited mutation of the transcription factor RUNX1 causes thrombocytopenia and may predispose to acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* **117**, 878–881 (2002).
294. Galera, P., Dulau-Florea, A. & Calvo, K. R. Inherited thrombocytopenia and platelet disorders with germline predisposition to myeloid neoplasia. *Int J Lab Hematol* **41 Suppl 1**, 131–141 (2019).
295. Yoshimi, A. *et al.* Spectrum of clinical and genetic features of patients with inherited platelet disorder with suspected predisposition to hematological malignancies: a nationwide survey in Japan. *Ann Oncol* **27**, 887–895 (2016).
296. Latger-Cannard, V. *et al.* Haematological spectrum and genotype-phenotype correlations in nine unrelated families with RUNX1 mutations from the French network on inherited platelet disorders. *Orphanet J Rare Dis* **11**, (2016).
297. Jongmans, M. C. J. *et al.* Novel RUNX1 mutations in familial platelet disorder with enhanced risk for acute myeloid leukemia: clues for

- improved identification of the FPD/AML syndrome. *Leukemia* **24**, 242–246 (2010).
298. Pang, C., Wu, X., Nikuze, L. & Wei, H. Analysis of clinical characteristics and treatment efficacy in two pediatric cases of ANKRD26-related thrombocytopenia. (2023) doi:10.1080/09537104.2023.2262607.
 299. Zaninetti, C. *et al.* Eltrombopag for the treatment of inherited thrombocytopenias: a phase II clinical trial. *Haematologica* **105**, 820–828 (2020).
 300. Simonis, A. *et al.* Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with GATA2 deficiency—a case report and comprehensive review of the literature. *Ann Hematol* **97**, 1961–1973 (2018).
 301. Jørgensen, S. F. *et al.* A Nationwide Study of GATA2 Deficiency in Norway—the Majority of Patients Have Undergone Allo-HSCT. *J Clin Immunol* **42**, 404–420 (2022).
 302. Grossman, J. *et al.* Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for GATA2 deficiency. *Biol Blood Marrow Transplant* **20**, 1940–1948 (2014).
 303. Parta, M. *et al.* Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for GATA2 Deficiency Using a Busulfan-Based Regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* **24**, 1250–1259 (2018).
 304. Parta, M. *et al.* Hematopoietic Cell Transplantation and Outcomes Related to Human Papillomavirus Disease in GATA2 Deficiency. *Transplant Cell Ther* **27**, 435.e1–435.e11 (2021).
 305. Bogaert, D. J. *et al.* GATA2 deficiency and haematopoietic stem cell transplantation: challenges for the clinical practitioner. *Br J Haematol* **188**, 768–773 (2020).
 306. Fiesco-Roa, M. O., Giri, N., McReynolds, L. J., Best, A. F. & Alter, B. P. Genotype-Phenotype Associations in Fanconi Anemia: A Literature Review. *Blood Rev* **37**, 100589 (2019).
 307. Kalb, R. *et al.* Hypomorphic Mutations in the Gene Encoding a Key Fanconi Anemia Protein, FANCD2, Sustain a Significant Group of FA-D2 Patients with Severe Phenotype. *Am. J. Hum. Genet* **80**, 895–910 (2007).
 308. Sprenkeler, E. G. G. *et al.* Loss-of-function mutations in CSF3R cause moderate neutropenia with fully mature neutrophils: two novel pedigrees. *Br J Haematol* **191**, 930–934 (2020).
 309. Venugopal, P. *et al.* Two monogenic disorders masquerading as one: severe congenital neutropenia with monocytosis and non-syndromic sensorineural hearing loss. doi:10.1186/s12881-020-0971-z.

310. Wallis, D. *et al.* The zinc finger transcription factor Gfi1, implicated in lymphomagenesis, is required for inner ear hair cell differentiation and survival. *Development* vol. 130 221–232 Preprint at <https://doi.org/10.1242/dev.00190> (2003).
311. Clarke, S. L. *et al.* Barth syndrome. *Orphanet J Rare Dis* **8**, 23 (2013).
312. Ochs, H. D., Filipovich, A. H., Veys, P., Cowan, M. J. & Kapoor, N. Wiskott-Aldrich Syndrome: Diagnosis, Clinical and Laboratory Manifestations, and Treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* **15**, 84–90 (2009).
313. Diamond LK, Wang WC & Alter BP. Congenital Hypoplastic Anemia. *Adv Pediatr* **22**, 349–378 (1976).
314. Quarello, P. *et al.* Diamond-blackfan anemia: Genotype-phenotype correlations in Italian patients with RPL5 and RPL11 mutations. *Haematologica* **95**, 206–213 (2010).
315. Narla, A., Vlachos, A. & Nathan, D. G. Diamond Blackfan Anemia Treatment: Past, Present, and Future. *Semin Hematol* **48**, 117 (2011).
316. Garelli E *et al.* Spontaneous remission in a Diamond-Blackfan anaemia patient due to a revertant uniparental disomy ablating a de novo RPS19 mutation. *Br J Haematol* **185**, 994–998 (2019).
317. Zenker, M., Edouard, T., Blair, J. C. & Cappa, M. Noonan syndrome: improving recognition and diagnosis. *Arch Dis Child* **0**, 1–6 (2022).
318. Ueno, S., Sudo, T. & Hirasawa, A. ATM: Functions of ATM Kinase and Its Relevance to Hereditary Tumors. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 23 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ijms23010523> (2022).
319. Ito, K. *et al.* Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* **431**, 997–1002 (2004).
320. Li, S. *et al.* Cancer Risks Associated With BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *Journal of Clinical Oncology* **40**, 1529 (2022).
321. Singhal, D. *et al.* Targeted gene panels identify a high frequency of pathogenic germline variants in patients diagnosed with a hematological malignancy and at least one other independent cancer. *Leukemia* **35**, 3245–3256 (2021).
322. Churpek, J. E. *et al.* Inherited mutations in cancer susceptibility genes are common among survivors of breast cancer who develop therapy-related leukemia. *Cancer* **122**, 304–311 (2016).
323. Schulz, E. *et al.* Germline mutations in the DNA damage response genes BRCA1, BRCA2, BARD1 and TP53 in patients with therapy related myeloid neoplasms. *J Med Genet* **49**, 422–428 (2012).

324. Stubbins RJ *et al.* Germline loss-of-function BRCA1 and BRCA2 mutations and risk of de novo hematopoietic malignancies. *Haematologica* **109**, 351–356 (2024).
325. Fostira, F. *et al.* One in three highly selected Greek patients with breast cancer carries a loss-of-function variant in a cancer susceptibility gene Cancer genetics. *J Med Genet* **57**, 53–61 (2020).
326. Pritchard, C. C. *et al.* Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *N Engl J Med* **375**, 443–453 (2016).
327. Bao, E. L. *et al.* Inherited myeloproliferative neoplasm risk impacts hematopoietic stem cells. *Nature* **586**, 769 (2020).
328. Bick, A. G. *et al.* Inherited Causes of Clonal Hematopoiesis in 97,691 TOPMed Whole Genomes. *Nature* **586**, 763 (2020).
329. Freiman, L. *et al.* Germline CHEK2 mutations in patients with myeloid neoplasms. *Leukemia* **38**, 908–911 (2024).
330. Shah, S. *et al.* A recurrent germline PAX5 mutation confers susceptibility to pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* **45**, 1226–1231 (2013).
331. Gocho, Y. & Yang, J. J. Genetic defects in hematopoietic transcription factors and predisposition to acute lymphoblastic leukemia. (2019) doi:10.1182/blood.2018852400.
332. Etheridge, S. L. *et al.* A novel activating, germline JAK2 mutation, JAK2R564Q, causes familial essential thrombocytosis. *Blood* **123**, 1059–1068 (2014).
333. Marty, C. *et al.* Germ-line JAK2 mutations in the kinase domain are responsible for hereditary thrombocytosis and are resistant to JAK2 and HSP90 inhibitors. *Blood* **123**, 1372–1383 (2014).
334. Yoshimitsu, M. *et al.* Essential thrombocytosis attributed to JAK2-T875N germline mutation. *Int J Hematol* **110**, 584–590 (2019).
335. Braunstein, E. M. & Moliterno, A. R. Back to Biology: New Insights on Inheritance in Myeloproliferative Disorders. *Curr Hematol Malig Rep* **9**, 311 (2014).
336. Heuser, M. Therapy-related myeloid neoplasms: does knowing the origin help to guide treatment?
337. Kayser, S. *et al.* The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood* **117**, 2137–2145 (2011).
338. Zhao, Q. *et al.* Myelodysplastic Syndrome/Acute Myeloid Leukemia Following the Use of Poly-ADP Ribose Polymerase (PARP) Inhibitors: A Real-World Analysis of Postmarketing Surveillance Data. *Front Pharmacol* **13**, (2022).

-
339. Hans F.A. Vasen, Patrice Watson, Jukka–Pekka Mecklin, Henry T. Lynch & the ICG–HNPCC. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* **116**, 1453–1456 (1999).
340. Pujol, P. *et al.* Clinical practice guidelines for BRCA1 and BRCA2 genetic testing. *Eur J Cancer* **146**, 30–47 (2021).
341. Brown, A. L. *et al.* RUNX1-mutated families show phenotype heterogeneity and a somatic mutation profile unique to germline predisposed AML. **4**, (2020).
342. Döhner, H. *et al.* Genetic risk classification for adults with AML receiving less-intensive therapies: the 2024 ELN recommendations.
343. Smith, S. M. *et al.* Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. (2003) doi:10.1182/blood-2002-11-3343.
344. Gutierrez-Rodrigues, F., Sahoo, S. S., Wlodarski, M. W. & Young, N. S. Somatic mosaicism in inherited bone marrow failure syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol* **34**, 101279 (2021).
345. Feurstein, S., Zhang, L. & Dinardo, C. D. Accurate germline RUNX1 variant interpretation and its clinical significance. (2020) doi:10.1182/bloodadvances.2020003304.
346. Martijn P T Ernst, F. G. K. B. L. P. J. M. V. M. H. G. P. R. RUNX1 germline variants in RUNX1-mutant AML: how frequent? *Blood* **137**, 1428–1431 (2021).
347. Taskesen, E. *et al.* Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with CEBPA mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for CEBPA double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood* **117**, (2011).
348. Pabst, T., Eyholzer, M., Haefliger, S., Schardt, J. & Mueller, B. U. Somatic CEBPA Mutations Are a Frequent Second Event in Families With Germline CEBPA Mutations and Familial Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology* **26**, 5088–5093 (2008).
349. Shah, Y. B. *et al.* The predictive value of PNH clones, 6p CN-LOH, and clonal TCR gene rearrangement for aplastic anemia diagnosis. *Blood Adv* **5**, 3216–3226 (2021).
350. Dokal, I., Tummala, H. & Vulliamy, T. Inherited bone marrow failure in the pediatric patient. *Blood* **140**, 556 (2022).

-
351. Torres-Esquius, S. *et al.* Germline assessment for alloH SCT candidates over 50 years: A 'Fast-Track' screening in myeloid neoplasms. *Br J Haematol* (2024) doi:10.1111/BJH.19460.
 352. Galera, P. *et al.* Donor-derived MDS/AML in families with germline GATA2 mutation. *Blood* **132**, 1994–1998 (2018).
 353. Sakata, N. *et al.* Donor-derived myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation in a family with germline GATA2 mutation. *Int J Hematol* **113**, 290–296 (2021).
 354. Speight, B. *et al.* Germline predisposition to haematological malignancies: Best practice consensus guidelines from the UK Cancer Genetics Group (UKCGG), CanGene-CanVar and the NHS England Haematological Oncology Working Group. *Br J Haematol* **201**, 25–34 (2023).

9. ANEXOS

ANEXO 1. PRINCIPALES NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS HEREDITARIAS

Tabla Suplementaria 1. Tabla resumen con las principales neoplasias hematológicas hereditarias.

Grupo	Entidad	Gen	Localización cromosómica	Función	Mutación	Herencia	Citopenias y neo HEM	Cuadro clínico (otros)	Debut neo HEM	Penetrancia neo HEM	Hits somáticos
Predisposición germinal y trombocitopenia	Trastorno plaquetar familiar con predisposición a neoplasias mieloides	<i>RUNX1</i>	21q22	FT	LOF, missense localizadas en el dominio RHD	AD	Trombocitopenia y SMD/LMA	no	33 años	20-60%	Segunda mutación en RUNX1 y/u otras adicionales
	Trombocitopenia 2	<i>ANKRD26</i>	10p12	Señaliz.	Localizadas en 5'UTR	AD	Trombocitopenia y SMD/LMA	no	30-70 años	8%	No descritas
	Trombocitopenia 5	<i>ETV6</i>	12p13	FT	Missense	AD	Trombocitopenia y LLA-B (neoplasia más frecuente)	no	<40 años	30%	No descritas
Predisposición germinal sin trombocitopenia	Síndrome de predisposición germinal con alteraciones en DDX41	<i>DDX41</i>	5q35.3	Procesamiento RNA	Mayoría LOF. También missense	AD	SMD/LMA	no	6ª década	50% a los 90 años	DDX41 somático en el 50%: signo de patogenia.
	LMA familiar asociada a CEBPA	<i>CEBPA</i>	19q13	FT	N-terminal: frameshift	AD	LMA	no	<40 años	90%	CEBPA en C-terminal

Grupo	Entidad	Gen	Localización cromosómica	Función	Mutación	Herencia	Citopenias y neo HEM	Cuadro clínico (otros)	Debut neo HEM	Penetrancia neo HEM	Hits somáticos
	Síndrome de Li-Fraumeni	<i>TP53</i>	17p13	estabilizada genómica	<i>Missense</i> que producen pérdida de función en la proteína	AD	LLA-B hipodiploide, SMD/LMA relacionadas con la terapia	Predisposición a distintos tipos de cáncer ("core cancers": sarcoma, osteosarcoma, cáncer de mama premenopáusico, tumor cerebral y carcinoma adrenocortical	12 años	2-4%	Cariotipo hipodiploide en LLA
Predisposición germinal y disfunción orgánica	Síndrome de haploinsuficiencia de GATA2	<i>GATA2</i>	3q21	FT	LOF	AD	Neutropenia, monocitopenia, Déficit LB, déficit NK, SMD, LMA	PAP, síndrome de Emberger, hallazgos dismórficos, síndrome monoMac, infección por VPH	2ª-3ª década de la vida	75% a los 40 años	Alteraciones Chr 7, mutaciones en ASXL1
	Síndrome de MIRAGE/síndrome de ataxia-pancitopenia	<i>SAMD9</i> <i>SAMD9L</i>	7q21	Proliferación celular	GOF (niños) y LOF (adultos)	AD	SMD/LMA	MIRAGE, ataxia-pancitopenia	GOF: niños vs LOF: adultos	Desconocida	Reversión somática si mutaciones GOF: monosomía 7/7q-, UPD 7q-, mutaciones de LOF neutralizantes en cis. Además, otros drivers

Grupo	Entidad	Gen	Localización cromosómica	Función	Mutación	Herencia	Citopenias y neo HEM	Cuadro clínico (otros)	Debut neo HEM	Penetrancia neo HEM	Hits somáticos
	Anemia de Fanconi	<i>FANCA</i> <i>FANCC</i> <i>FANCG</i> (más frecuentes)	16q24.39 q22.329p13.3	reparación y estabilidad genómica	variable (frecuentes las deleciones intragénicas)	AR	Citopenias, IM, SMD, LMA	Predisposición a cáncer sólido (cabeza y cuello) + malformaciones congénitas	Variabl e (pico de IM: 7 años)	20-30% a los 40 años	Cariotipo complejo; reversión somática
	Disqueratosis congénita	<i>Maquinaria de los telómeros</i>		mantenimiento de los telómeros, estabilidad genómica	variable	AD AR ChrX	IM, SMD	fibrosis pulmonar, cirrosis idiopática, envejecimiento prematuro, tríada clásica (leucoplasia oral, distrofia ungueal e hiperpigmentación cutánea)	50 años	16%	Reversión somática
	Neutropenia severa congénita	<i>ELANE</i> (más frecuente)	19p13	Elastasa del neutrófilo	Missense (mayoría)	AD	SMD/LMA	Neutropenia severa congénita, neutropenia cíclica	15-20 años	25%	CSF3R
	Anemia de Blackfan-Diamond	<i>RPS19</i> (más frecuente) . Otros: <i>RPL5</i> , <i>RPS26</i> , <i>RPL11</i> , <i>RPL35A</i> y <i>RPS24</i>	19q13	Proteína ribosomal	LOF	AD	Aplasia pura de la serie roja, SMD/LMA	Malformaciones craneofaciales, esqueléticas, cardíacas o renales. HbF y eADA elevada, riesgo de cáncer sólido	45 años	5%	No descritas

Grupo	Entidad	Gen	Localización cromosómica	Función	Mutación	Herencia	Citopenias y neo HEM	Cuadro clínico (otros)	Debut neo HEM	Penetrancia neo HEM	Hits somáticos
	Síndrome de Shwachman-Diamond	<i>SBDS</i>	7q11	Biogénesis ribosomal	Mutaciones bialélicas	AR	IM (sobre todo neutropenia)	Insuficiencia pancreática exocrina y predisposición a neoplasias mieloides. También: anomalías esqueléticas, cardíacas, endocrinas, nerviosas, hepáticas e inmunitarias	20% (transformación clonal o empeoramiento de citopenias)	18 años	del(20), i(7)(q10) (incluso en ausencia de neoplasias mieloides)

Neo HEM: Neoplasia Hematológica; FT: Factor de Transcripción; LoF: pérdida de función (del inglés, *Loss of Function*); AD: Autosómico Dominante; SMD: Síndrome Mielodisplásico; LMA: Leucemia Mieloide Aguda; Señaliz: Señalización; LLA-B: Leucemia Linfoblástica Aguda-B; Patogenic: Patogenicidad; AR: Autosómico Recesivo; IM: Insuficiencia Medular; LB: Linfocitos B; PAP: Proteinosis Alveolar Pulmonar; VPH: Virus del Papiloma Humano; Chr: Cromosoma; GoF: ganancia de función (del inglés, *Gain of Function*); HbF: Hemoglobina Fetal; eADA: Adenosín-Deaminasa eritrocitaria.

ANEXO 2. CRITERIOS PARA CATEGORIZAR VARIANTES VUS

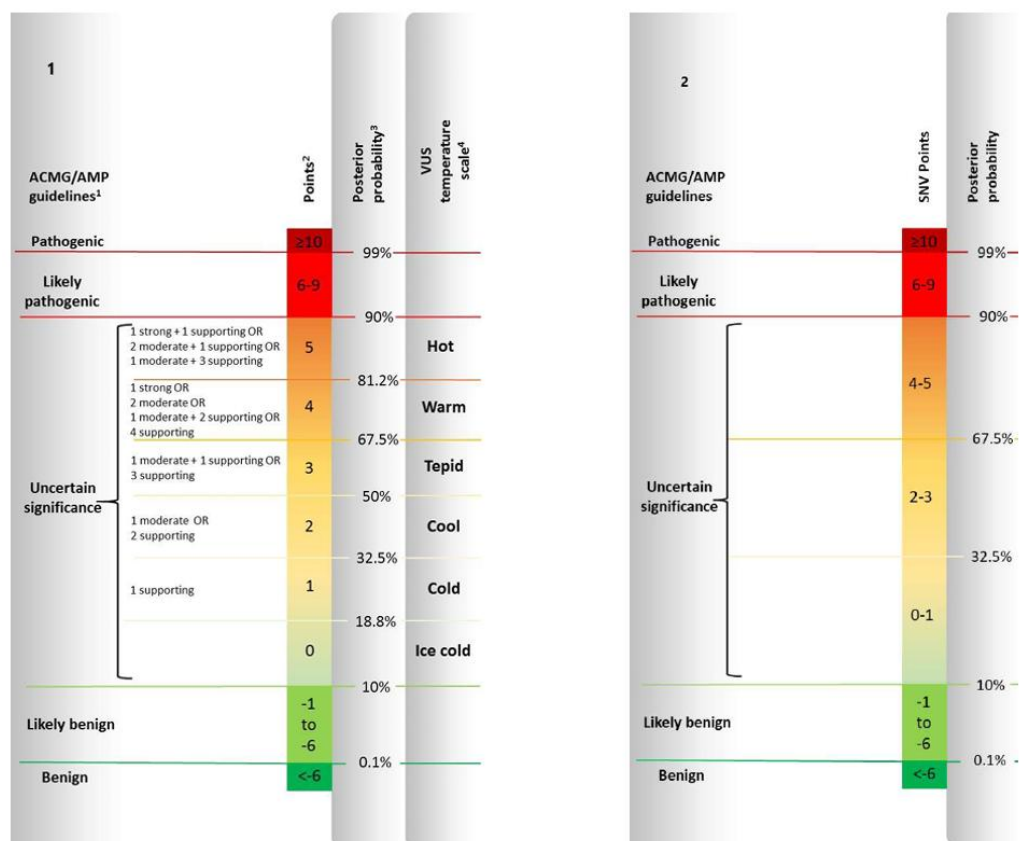


Figura suplementaria 1 y 2. Descripción de variantes de significado clínico incierto según las guías de la ACGS^{238,239}.

ANEXO 3. APLICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE LA ACMG EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Tabla Suplementaria 2. Aplicación de los criterios de la ACMG/AMP en genes de predisposición a neoplasias hematológicas hereditarias (adaptado de Feurstein *et al.*²⁴⁰).

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
Evidencia de patogenicidad						
PVS1 para SNVs	Variante nula en un gen donde la pérdida de función (LOF) es un mecanismo conocido de enfermedad	Variantes truncadas con predicción de NMD (exón presente en el transcrito biológicamente relevante)	Variantes truncadas sin predicción de NMD y cuya región afectada es (1) crítica para la función de la proteína o (2) el exón está presente en el transcrito biológicamente relevante, la función de la región es desconocida, las variantes LOF en el exón son poco frecuentes en la población y la variante destruye más del 10% de la proteína	Variantes truncadas sin predicción de NMD y cuyo exón está presente en el transcrito biológicamente relevante, la función de la región es desconocida, las variantes LOF en el exón son poco frecuentes en la población y la variante destruye menos del 10% de la proteína; o una variante que afecta el codón de iniciación sin codones de iniciación alternativos conocidos y una o más variantes patogénicas <i>upstream</i> del codón de iniciación	Variante que afecta al codón de iniciación sin codones de iniciación alternativos conocidos y sin variantes patogénicas <i>upstream</i> del codón de iniciación	NMD no se predice que ocurra en el último exón 3' o entre los 50 nucleótidos del penúltimo exón 3'. Si el impacto en el marco de lectura es desconocido, se debe utilizar el enfoque más conservador (por ejemplo, asumir que no hay impacto en el marco de lectura)

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
PVS1 para deleciones		Deleción de un gen completo o deleciones de uno o varios exones que interrumpen el marco de lectura y conducen a NMD (el exón está presente en el transcrito biológicamente relevante)	Deleción de uno o varios exones sin predicción de NMD y cuya región afectada es (1) crítica para la función de la proteína o (2) el exón está presente en el transcrito biológicamente relevante, la función de la región es desconocida, las deleciones del exón son poco frecuentes en la población y la variante destruye más del 10% de la proteína	Deleción de uno o varios exones sin predicción de NMD y cuyo exón está presente en el transcrito biológicamente relevante, la función de la región es desconocida, las deleciones del exón son poco frecuentes en la población y la variante destruye menos del 10% de la proteína	NA	
PS1	Mismo cambio de aminoácido que una variante patogénica previamente establecida, independientemente del cambio de nucleótido	NA	Aplicable si SpliceAI no predice ningún cambio en el <i>splicing</i> (SpliceAI $\leq 0,2$)	NA	NA	PS1 no debe ser usado junto con PM1

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
PS2	Variante <i>de novo</i> (confirmada la paternidad en progenitores) en un paciente sin antecedentes familiares	Según el sistema de puntos de SVI en PS2, el nivel de fuerza depende de la especificidad del fenotipo y el número de variantes reportadas <i>de novo</i>				En la mayoría de las neoplasias hematológicas hereditarias, el fenotipo será consistente con el gen, aunque no altamente específico, con una gran heterogeneidad genética que limita el <i>score</i> máximo a 1 (nivel de fuerza moderado)
PS3	Estudios funcionales <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i> bien establecidos que respalden un efecto dañino	Según las recomendaciones de SVI en PS3, el nivel de fuerza depende del número de controles benignos y patogénicos utilizados al calcular la probabilidad de patogenicidad				Considerar acumular evidencia de múltiples pruebas funcionales diferentes para alcanzar un nivel de fuerza mayor. PS3 no debe usarse para variantes que cumplen PVS1. Si una variante cumple PVS1_strong (sin NMD predicho) y PS3, se recomienda aplicar PVS1_strong y PS3_moderate o actualizar PVS1_strong a PVS1 sin aplicar PS3

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
PS4	La prevalencia de la variante en individuos afectados es significativamente mayor en comparación con controles sanos	NA	Basado en OR calculado >100	Basado en OR calculado >30. En ausencia de estudios de caso-control o cuasi caso-control: si se encuentra en dos o más probandos afectados no relacionados y la variante cumple PM2_supporting	Basado en OR calculado >10. En ausencia de estudios de caso-control o cuasi caso-control: si se encuentra en un solo caso afectado y la variante cumple PM2_supporting	Los cálculos de OR se basan en estudios de casos y controles o estudios cuasi caso-control utilizando la prevalencia de la enfermedad y gnomAD como población de control
PM1	Ubicado en un <i>hotspot</i> mutacional y/o en un dominio funcional crítico y bien establecido sin variantes benignas	NA	NA	Aplicable para variantes <i>missense</i> en dominios funcionales conocidos o <i>hotspots</i> mutacionales con muy pocas o ninguna variante benigna. Basado en evidencia somática: PM1 se puede aplicar si más de 10 muestras somáticas con este cambio de aminoácido	Aplicable para variantes <i>missense</i> en dominios funcionales conocidos o <i>hotspots</i> mutacionales con alguna variante benigna. Basado en evidencia somática: PM1_supporting se usa si más de 1 pero menos de 10 muestras somáticas con este cambio de aminoácido	PM1 también se puede utilizar para regiones no codificantes si las variantes se encuentran dentro de una región con significado biológico. Los <i>hotspots</i> somáticos solo se pueden usar para PM1 cuando no se han identificado <i>hotspots</i> de línea germinal. PS1 o PM5 no deben usarse en combinación con PM1

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
PM2	Ausente en sujetos control	NA	NA	NA	La variante tiene que estar completamente ausente en gnomAD para enfermedades dominantes y presente en un máximo de 10 alelos en enfermedades recesivas, con una cobertura promedio de la región secuenciada de al menos 20x.	Un criterio very strong y uno supporting pueden alcanzar una clasificación patogénica, por ejemplo, en el caso de una variante LOF novedosa que cumple con PVS1 y PM2_supporting.
PM3	Para trastornos recesivos, detectados en <i>trans</i> con una variante patogénica	Según el sistema de puntos de SVI en PM3, el nivel de fuerza depende de la fase del alelo variante (<i>cis</i> vs. <i>trans</i>) y de la clasificación de la variante en el otro alelo				Para usar PM3, el probando debe estar afectado. Además, la variante debe cumplir con PM2_supporting (≤ 10 alelos)
PM4	Cambios en la longitud de la proteína debido a deleciones/insertiones <i>inframe</i> en una región no repetitiva	NA	NA	Puede aplicarse si la variante no se encuentra dentro de un elemento repetitivo	NA	

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
	o variantes de <i>stop-loss</i>					
PM5	Cambio <i>missense</i> en un residuo aminoacídico donde hay descrito otro cambio <i>missense</i> patogénico	NA	Cambio <i>missense</i> en el mismo residuo donde se han observado ≥ 2 cambios <i>missense</i> patogénicos diferentes anteriormente	Cambio <i>missense</i> en el mismo residuo donde se ha observado un cambio <i>missense</i> patogénico diferente anteriormente	Cambio <i>missense</i> en el mismo residuo donde se ha observado un cambio <i>missense</i> probablemente patogénico diferente anteriormente	SpliceAI no debe predecir ningún cambio en el <i>splicing</i> del nuevo residuo ($\text{SpliceAI} \leq 0.2$). Se puede utilizar la puntuación de Grantham (similitud fisicoquímica) para comparar el nuevo cambio de aminoácido con la variante <i>missense</i> previamente descrita. PM5 no debe utilizarse junto con PM1
PM6	Se asume <i>de novo</i> (sin confirmación de paternidad en progenitores) en un paciente sin antecedentes familiares	Según el sistema de puntos SVI en PS2, el nivel de fuerza depende de la especificidad del fenotipo y el número de variantes reportadas de novo				

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
PP1	Segregación con la enfermedad en varios miembros afectados de la familia	NA	Cinco o más meiosis (hijos) en una familia ($\leq 1/32$) o cuatro o más meiosis en más de una familia ($\leq 1/16$)	Cuatro meiosis ($1/16$) en una familia o tres meiosis ($1/8$) en más de una familia	Tres meiosis ($1/8$) en una familia o dos meiosis ($1/4$) en más de una familia	$N = (1/2)^m$ donde m es el número de meiosis contadas dentro de una o varias familias diferentes. Solo se pueden contar individuos genotípicamente positivos (o heterocigotos obligados) y fenotípicamente positivos
PP2	Variante <i>missense</i> en un gen que tiene una tasa baja de variantes <i>missense</i> benignas y donde las variantes <i>missense</i> son un mecanismo común de enfermedad.	NA	NA	NA	Solo aplicable para genes con un score de restricción <i>missense</i> Z (gnomAD) ≥ 3.09	

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
PP3	Múltiples herramientas de predicción <i>in silico</i> respaldan un efecto perjudicial en el gen o producto génico	NA	NA	NA	Aplicable para variantes <i>missense</i> para las cuales los predictores <i>in silico</i> de Ensemble predicen impacto en la estructura de la proteína, la conservación evolutiva y las propiedades bioquímicas. También es aplicable para variantes <i>missense</i> , intrónicas y no codificantes con impacto previsto en el <i>splicing</i> (SpliceAI ≥ 0.38). No aplicable para variantes de <i>splicing</i> canónicas	El análisis de la curva ROC ha demostrado que los predictores <i>in silico</i> BayesDel addAF, REVEL y Eigen para <i>missense</i> tienen el mejor rendimiento. El análisis de la curva ROC ha demostrado que SpliceAI es el predictor de <i>splicing</i> de mayor rendimiento. PP3 no debe aplicarse a variantes que cumplan PVS1
PP4	El fenotipo del paciente o la historia familiar son altamente específicos para una enfermedad con	NA	NA	Sólo aplicable en casos con fenotipo distinto causado por una variante en un pequeño subconjunto de genes	Solo es aplicable cuando hay características específicas (extrahematológicas) y/o hallazgos de	

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
	una única etiología genética				laboratorio presentes	
PP5	Una fuente fiable recientemente informa que una variante es patogénica, pero el laboratorio no tiene acceso a la evidencia para realizar un análisis independiente	NA	NA	NA	NA	Esta regla generalmente no es aplicable.
Evidencia de benignidad						
BA1		Independiente: Basado en el cálculo BA1 usando la aplicación de frecuencia alélica	NA	NA	NA	El cálculo utilizando la aplicación de frecuencia alélica se basa en la prevalencia de la enfermedad, penetrancia y heterogeneidad alélica/genética

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
BS1	La frecuencia alélica es mayor de la esperada para el trastorno	NA	Para el cálculo: App de frecuencia alélica, o la MAF de la variante patogénica más común (>2,5 veces mayor)	NA	MAF es de 1 a 2,5 veces mayor que la variante patogénica más común	El cálculo utilizando la aplicación de frecuencia alélica se basa en la prevalencia de la enfermedad, penetrancia y heterogeneidad alélica/genética. Alternativamente, se puede utilizar la MAF de la variante patogénica más común en gnomAD
BS2	Observado en un individuo adulto sano para un trastorno recesivo, dominante o ligado al cromosoma X, con penetrancia completa esperada a una edad temprana	NA	Raramente aplicable ya que la mayoría de los trastornos tienen penetrancia incompleta con heterogeneidad variable	NA	NA	
BS3	Estudios funcionales bien establecidos <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i> demuestran que no hay efecto dañino en la función	NA	Según las recomendaciones de SVI sobre BS3, el nivel de fuerza depende del número de controles benignos y patogénicos utilizados mediante el cálculo de las probabilidades de patogenicidad			Considerar la acumulación de evidencia de múltiples pruebas funcionales diferentes para alcanzar un nivel de fortaleza mayor

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
	proteica o en el <i>splicing</i>					
BS4	Ausencia de segregación en miembros afectados de una familia	NA	Aplicable cuando se observa en al menos dos meiosis	NA	NA	BS4 sólo debe aplicarse en miembros de la familia con genotipo positivo y fenotipo negativo (con suficiente evidencia fenotípica y de laboratorio) y una enfermedad con alta penetrancia
BP1	Variante <i>missense</i> en un gen para el cual se sabe que las variantes truncantes causan enfermedad	NA	NA	NA	Aplicable cuando las variantes truncantes (LOF) son el único mecanismo de enfermedad	

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
BP2	Observado en trans con una variante patogénica para un trastorno dominante de penetrancia completa u observado en cis con una variante patogénica en cualquier patrón de herencia	NA	NA	NA	También es aplicable para variantes homocigotas en trastornos dominantes cuando una variante patogénica nunca ha sido detectada en estado homocigoto y/o modelos animales muestran que la pérdida completa de función es letal para el embrión	
BP3	Deleciones/Inserciones <i>inframe</i> en una región repetitiva sin función conocida	NA	NA	NA	Puede aplicarse si la variante se encuentra dentro de un elemento repetido	

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
BP4	Múltiples herramientas de predicción <i>in silico</i> sugieren que no hay impacto en el gen o producto génico	NA	NA	NA	Aplicable para variantes <i>missense</i> para las cuales los predictores <i>in silico</i> de Ensemble no predicen impacto en la estructura de la proteína, conservación evolutiva y propiedades bioquímicas. Aplicable para variantes <i>missense</i> , intrónicas y no codificantes con ningún impacto predicho en el <i>splicing</i> (Splice AI $\leq 0,2$)	El análisis de curva ROC ha demostrado que los predictores <i>in silico</i> de BayesDel addAF, REVEL y Eigen para <i>missense</i> tienen el mejor rendimiento. El análisis de curva ROC ha demostrado que SpliceAI es el predictor de <i>splicing</i> de mayor rendimiento
BP5	Variante encontrada en un caso con una base molecular alternativa para la enfermedad	NA	NA	NA	Probandos con variantes patogénicas en más de un gen predisponente, aunque sea raro, se han descrito. Este criterio sólo debe	

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
					usarse si el fenotipo encaja solo con la variante alternativa	
BP6	Una fuente fiable recientemente informa una variante como benigna, pero la evidencia no está disponible para que el laboratorio realice un análisis independiente	NA	NA	NA	NA	Esta regla en general no es aplicable
BP7	Variante sinónima para la que los algoritmos de predicción de <i>splicing</i> no predicen impacto en la secuencia de consenso de <i>splicing</i> , ni la creación de un nuevo sitio de <i>splicing</i> , y el	NA	NA	NA	Aplicable si el nucleótido no está altamente conservado y no hay predicción de impacto en el <i>splicing</i> (SpliceAI $\leq 0,2$).	La conservación puede evaluarse usando PhyloP, GERP o PhastCons.

Código ACMG/AMP	Reglas de la ACMG/AMP	Fuerza				Comentario
		Muy alta (very strong)	Alta (strong)	Moderada (moderate)	Apoyo (supporting)	
	nucleótido no es altamente conservado.					

ACMG: colegio americano de genética médica y genómica (del inglés, *American College of Medical Genetics and Genomics*); AMP: asociación de patología molecular (del inglés, *Association for Molecular Pathology*); LoF: pérdida de función (del inglés, *Loss of Function*); MAF: frecuencia alélica menor (del inglés, *Minor Allele Frequency*); NA: No Aplica; NMD: degradación del mRNA mediada por variantes *nonsense* (del inglés, *Nonsense-Mediated Decay*); OR: Odds Ratio; SNP: polimorfismo de un solo nucleótido (del inglés, *Single Nucleotide Polymorphism*); SNV: variante de un solo nucleótido (del inglés, *Single Nucleotide Variant*); SVI-WG: grupo de trabajo de interpretación de variantes de secuencia de ClinGen (del inglés, *Sequence Variant Interpretation Working Group* (de ClinGen)).

ANEXO 4. PANELES SOMÁTICOS DE SECUENCIACIÓN MASIVA.

El estudio molecular somático se llevó a cabo mediante NGS, utilizando distintos paneles comerciales según la patología a estudio.

1. Pacientes con Insuficiencia Medular/Síndrome Mielodisplásico (SMD)

Para el estudio somático de estos pacientes, se utilizó el panel comercial Myeloid Solution™ (MYS) de SOPHiA Genetics™: un panel dirigido de captura de una región genómica de 49 Kb y una profundidad media de lectura de 2.000X. Este panel comprendía 30 genes relevantes asociados con SMD y LMA y permitió analizar la región codificante completa, las regiones con mayor incidencia de mutaciones en un gen (regiones *hotspot*), las regiones intrónicas flanqueantes a los exones (+/-5pb) y las CNV de los genes incluidos en el panel de NGS.

El panel contenía los siguientes genes: *ABL1* (exones 4-9), *ASXL1* (exones 9,11,12), *BRAF* (exón 15), *CALR* (exón 9), *CBL* (exón 8,9), *CEBPA* (gen completo), *CSF3R* (gen completo), *DNMT3A* (gen completo), *ETV6* (gen completo), *EZH2* (gen completo), *FLT3* (exones 13-15,20), *HRAS* (exones 2,3), *IDH1* (exón 4), *IDH2* (exón 4), *JAK2* (gen completo), *KIT* (exones 2,8-11,13,17,18), *KRAS* (exones 2,3), *MPL* (exón 10), *NPM1* (exones 10,11), *NRAS* (exones 2,3), *PTPN11* (exones 3,7-13), *RUNX1* (gen completo), *SETBP1* (exón 4), *SF3B1* (exones 10-16), *SRSF2* (exón 1), *TET2* (gen completo), *TP53* (gen completo), *U2AF1* (exones 2,6), *WT1* (exones 6-10), *ZRSR2* (gen completo).

2. Pacientes con Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA)

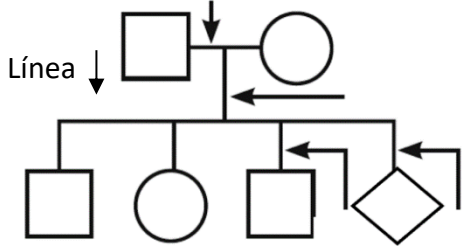
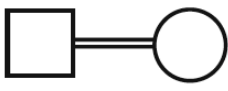
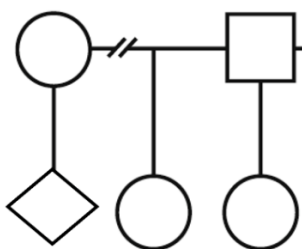
Para el estudio somático de estos pacientes, se utilizó la plataforma Genexus Integrated Sequencer basada en amplicones con el panel Oncomine Myeloid Assay GX v2 (Ref: A50694) y una profundidad media de lectura de 2000X. Las variantes fueron filtradas con el Ion Torrent Genexus System, siendo excluidas variantes sinónimas, variantes intrónicas y variantes polimórficas.

El panel incluía la región codificante y *hotspots* de mutaciones en 45 genes (región *hotspot* de *ANKRD26*, *ABL1*, *BRAF*, *CBL*, *CSF3R*, *DDX41*, *DNMT3A*, *FLT3*, *GATA2*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *MYD88*, *NPM1*, *NRAS*, *PPM1D*, *PTPN11*, *SMC1A*, *SMC3*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1* y *WT1*; y la región codificante completa de *ASXL1*, *BCOR*, *CALR*, *CEBPA*, *ETV6*, *EZH2*, *IKZF1*, *NF1*, *PHF6*, *PRPF8*, *RB1*, *RUNX1*, *SH2B3*, *STAG2*, *TET2*, *TP53* y *ZRSR2*). Además, permitió la detección de reordenamientos en 30 genes *driver* (*ABL1*, *ALK*, *BCL2*, *BRAF*, *CCND1*, *CREBBP*, *EGFR*, *ETV6*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FUS*, *HMGA2*, *JAK2*, *KMT2A* (*MLL* PTDs), *MECOM*, *MET*, *MLLT10*, *MLLT3*, *MYBL1*, *MYH11*, *NTRK3*, *NUP98*, *NUP214*, *PDGFRA*, *PDGFRB*, *RARA*, *RBM15*, *RUNX1*, *TCF3* y *TFE3*) y la expresión de 5 genes (*BAALC*, *MECOM*, *MYC*, *SMC1A* y *WT1*).

ANEXO 5. ELABORACIÓN DEL ÁRBOL GENEALÓGICO

Tabla Suplementaria 3. Símbolos utilizados para la elaboración del árbol genealógico

	Varón	Mujer	Género no especificado	Comentario
Individuo				Se puede añadir la edad junto a/debajo de cada símbolo
Individuo afectado				Cuando hay más de 1 patología, puede fraccionarse el símbolo de cada individuo, explicando en la leyenda el significado de cada fracción
				
Múltiples individuos, número conocido				Número de hermanos dentro de cada símbolo sin contar al afectado
Múltiples individuos, número desconocido				
Individuo fallecido				
Consultando				Individuo buscando asesoramiento o test genético
Probando				Individuo afectado que acude para test y asesoramiento genético
Portador				No manifiesta la enfermedad independientemente del tipo de herencia

	Varón	Mujer	Género no especificado	Comentario
				Los hermanos se ordenan por orden decreciente de edad
				Consanguinidad
				Divorcio

Adaptado de Bennett *et al.* ²⁶⁴

ANEXO 6. PANEL CUSTOM DE NGS

Tabla Suplementaria 4. Relación de genes de nuestro panel de NGS

Gen	Transcrito codificante	Chr	Patología
<i>ABCB7</i>	NM_004299	Chr X	Anemia sideroblástica congénita
<i>ACD</i>	NM_001082486	Chr 16	Disqueratosis Congénita
<i>ALAS2</i>	NM_000032	Chr X	Anemia sideroblástica congénita
<i>ANKRD26</i>	NM_014915	Chr 10	Neoplasia hematológica familiar
<i>ATG2B</i>	NM_018036	Chr 14	Neoplasia hematológica familiar
<i>ATM</i>	NM_000051	Chr 11	Predisposición pan-cáncer
<i>ATR</i>	NM_001184	Chr 3	Predisposición pan-cáncer
<i>BLM</i>	NM_000057	Chr 15	Otros síndromes de fallo medular
<i>CALR</i>	NM_004343	Chr 19	Neoplasia hematológica familiar
<i>CDAN1</i>	NM_138477	Chr 15	Anemia diseritropoyética Congénita
<i>CEBPA</i>	NM_004364	Chr 19	Neoplasia hematológica familiar
<i>CHEK2 (CHK2)</i>	NM_007194	Chr 22	Predisposición pan-cáncer
<i>CSF3R</i>	NM_156039	Chr 1	Neutropenia Congénita
<i>CTC1</i>	NM_025099	Chr 17	Disqueratosis Congénita
<i>DDX41</i>	NM_016222	Chr 5	Neoplasia hematológica familiar
<i>DKC1</i>	NM_001363	Chr X	Disqueratosis Congénita
<i>DNAJC21</i>	NM_194283	Chr 5	Otros síndromes de fallo medular
<i>EFL1</i>	NM_024580	Chr 15	Síndrome de Shwachman-Diamond
<i>ELANE</i>	NM_001972	Chr 19	Neutropenia Congénita
<i>EPCAM</i>	NM_002354	Chr 2	Predisposición pan-cáncer
<i>ETV6</i>	NM_001987	Chr 12	Neoplasia hematológica familiar
<i>FANCA</i>	NM_000135	Chr 16	Anemia de Fanconi
<i>FANCB</i>	NM_152633	Chr X	Anemia de Fanconi
<i>FANCC</i>	NM_000136	Chr 9	Anemia de Fanconi
<i>FANCD1/BRCA2</i>	NM_000059	Chr 13	Anemia de Fanconi
<i>FANCD2</i>	NM_033084	Chr 3	Anemia de Fanconi
<i>FANCE</i>	NM_021922	Chr 6	Anemia de Fanconi

Gen	Transcrito codificante	Chr	Patología
<i>FANCF</i>	NM_022725	Chr 11	Anemia de Fanconi
<i>FANCG</i>	NM_004629	Chr 9	Anemia de Fanconi
<i>FANCI</i>	NM_001113378	Chr 15	Anemia de Fanconi
<i>FANCI/BRIP1</i>	NM_032043	Chr 17	Anemia de Fanconi
<i>FANCL</i>	NM_001114636	Chr 2	Anemia de Fanconi
<i>FANCM</i>	NM_020937	Chr 14	Anemia de Fanconi
<i>FANCN/PALB2</i>	NM_024675	Chr 16	Anemia de Fanconi
<i>FANCO/RAD51C</i>	NM_058216	Chr 17	Anemia de Fanconi
<i>FANCP/SLX4</i>	NM_032444	Chr 16	Anemia de Fanconi
<i>FANQ/ERCC4</i>	NM_005236	Chr 16	Anemia de Fanconi
<i>FANCR/RAD51</i>	NM_133487	Chr 15	Anemia de Fanconi
<i>FANCS/BRCA1</i>	NM_007294	Chr 17	Anemia de Fanconi
<i>FANCT/UBE2T</i>	NM_014176	Chr 1	Anemia de Fanconi
<i>FANCU/XRCC2</i>	NM_005431	Chr 7	Anemia de Fanconi
<i>FANCV/MAD2L2</i>	NM_001127325	Chr 1	Anemia de Fanconi
<i>G6PC3</i>	NM_138387	Chr 17	Neutropenia Congénita
<i>GATA1</i>	NM_002049	Chr X	Otros síndromes de fallo medular
<i>GATA2</i>	NM_032638	Chr 3	Otros síndromes de fallo medular
<i>GFI1</i>	NM_001127216	Chr 1	Neutropenia Congénita
<i>HAX1</i>	NM_006118	Chr 1	Neutropenia Congénita
<i>HSPA9</i>	NM_004134	Chr 5	Anemia sideroblástica Congénita
<i>JAGN1</i>	NM_032492	Chr 3	Neutropenia Congénita
<i>JAK2</i>	NM_004972	Chr 9	Neoplasia hematológica familiar
<i>KIF23</i>	NM_138555	Chr 15	Anemia diseritropoyética Congénita
<i>KLF1</i>	NM_006563	Chr 19	Anemia diseritropoyética Congénita
<i>LIG4</i>	NM_001352598	Chr 13	Otros síndromes de fallo medular
<i>LYST</i>	NM_000081	Chr 1	Otros síndromes de fallo medular
<i>MECOM</i>	NM_001105077	Chr 3	Trombocitopenia amegacariocítica
<i>MLH1</i>	NM_000249	Chr 3	Predisposición pan-cáncer

Gen	Transcrito codificante	Chr	Patología
<i>MPL</i>	NM_005373	Chr 1	Trombocitopenia amegacariocítica
<i>MSH2</i>	NM_000251	Chr 2	Predisposición pan-cáncer
<i>MSH6</i>	NM_000179	Chr 2	Predisposición pan-cáncer
<i>NBN (NBS1)</i>	NM_002485	Chr 8	Otros síndromes de fallo medular
<i>NF1</i>	NM_001042492	Chr 17	Otros síndromes de fallo medular
<i>NHP2</i>	NM_017838	Chr 5	Disqueratosis Congénita
<i>NOP10</i>	NM_018648	Chr 15	Disqueratosis Congénita
<i>PARN</i>	NM_002582	Chr 16	Disqueratosis Congénita
<i>PAX5</i>	NM_016734	Chr 9	Neoplasia hematológica familiar
<i>PMS2</i>	NM_000535	Chr 7	Predisposición pan-cáncer
<i>POT1</i>	NM_015450	Chr 7	Disqueratosis Congénita
<i>PPM1D</i>	NM_003620	Chr 17	Predisposición pan-cáncer
<i>PTEN</i>	NM_000314	Chr 10	Predisposición pan-cáncer
<i>PTPN11</i>	NM_002834	Chr 12	Otros síndromes de fallo medular
<i>PUS1</i>	NM_025215	Chr 12	Anemia sideroblástica Congénita
<i>RAD50</i>	NM_005732	Chr 5	Predisposición pan-cáncer
<i>RB1</i>	NM_000321	Chr 13	Predisposición pan-cáncer
<i>RBM8A</i>	NM_005105	Chr 1	Trombocitopenia amegacariocítica
<i>RPL11</i>	NM_000975	Chr 1	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPL15</i>	NM_001253383	Chr 3	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPL26</i>	NM_000987	Chr 17	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPL27</i>	NM_001349922	Chr 17	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPL35A</i>	NM_000996	Chr 3	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPL5</i>	NM_000969	Chr 1	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS10</i>	NM_001203245	Chr 6	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS17</i>	NM_001021	Chr 15	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS19</i>	NM_001022	Chr 19	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS24</i>	NM_001142285	Chr 10	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS26</i>	NM_001029	Chr 12	Anemia de Blackfan-Diamond

Gen	Transcrito codificante	Chr	Patología
<i>RPS27</i>	NM_001030 NM_001349946 NM_001349947	Chr1	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS29</i>	NM_001030001	Chr 14	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RPS7</i>	NM_001011	Chr 2	Anemia de Blackfan-Diamond
<i>RTEL1</i>	NM_032957	Chr 20	Disqueratosis Congénita
<i>RUNX1</i>	NM_001754	Chr 21	Neoplasia hematológica familiar
<i>SAMD9</i>	NM_001193307	Chr 7	Neoplasia hematológica familiar
<i>SAMD9L</i>	NM_152703	Chr 7	Neoplasia hematológica familiar
<i>SBDS</i>	NM_016038	Chr 7	Síndrome de Shwachman-Diamond
<i>SH2B3</i>	NM_005475	Chr 12	Neoplasia hematológica familiar
<i>SLC25A38</i>	NM_017875	Chr 3	Anemia sideroblástica Congénita
<i>SRP54</i>	NM_003136	Chr 14	Neutropenia Congénita
<i>SRP72</i>	NM_006947	Chr 4	Otros síndromes de fallo medular
<i>TERC</i>	NR_001566	Chr 3	Disqueratosis Congénita
<i>TERF1</i>	NM_017489	Chr 8	Disqueratosis Congénita
<i>TERF2</i>	NM_005652	Chr 16	Disqueratosis Congénita
<i>TERT</i>	NM_198253	Chr 5	Disqueratosis Congénita
<i>TINF2</i>	NM_001099274	Chr 14	Disqueratosis Congénita
<i>TP53</i>	NM_000546	Chr 17	Neoplasia hematológica familiar
<i>TRNT1</i>	NM_182916	Chr 3	Anemia sideroblástica Congénita
<i>TSR2</i>	NM_058163	Chr X	
<i>USB1</i>	NM_024598	Chr 16	Neutropenia Congénita
<i>VPS45</i>	NM_007259	Chr 1	Neutropenia Congénita
<i>WAS</i>	NM_000377	Chr X	Neutropenia Congénita
<i>WRAP53 (TCAB1)</i>	NM_001143990	Chr 17	Disqueratosis Congénita
<i>YARS2</i>	NM_001040436	Chr 12	Anemia sideroblástica Congénita

Chr: Cromosoma

ANEXO 7. PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIA HEMATOLÓGICA HEREDITARIA EN NUESTRA SERIE

Tabla Suplementaria 5. Datos al diagnóstico y antecedentes personales y familiares.

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
Caso 1	Varón de 73 años con SMD (tipo: EB-1)	Serie roja: Hb 9,3g/dL; VCM 107,5fL Serie blanca: leucocitos 1.640/mm ³ Plaquetas: 43.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: sí Blastos: 7% Cariotipo: 46,XY[20] Molecular: <i>DDX41</i> (p.Pro379Gln), <i>ASXL1</i> , <i>NRAS</i>	Papiloma vesical con 54a Ca basocelulares de repetición	Hermana: leucemia aguda (33a) Hermano: ca páncreas (56a) Hermana: melanoma y ca mama (86a) Madre: ca útero (40a) y melanoma (54a) Tía materna: ca útero (60a)
Caso 2	Mujer de 64 años con SMD (tipo: EB-2)	Serie roja: Hb 9,4g/dL; VCM 102,2fL Serie blanca: leucocitos 570/mm ³ Plaquetas: 92.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: 14% Cariotipo: 46,XX[20] Molecular: <i>DDX41</i> (p.Glu345Asp)	No	Sobrina: linfocitosis T (33a) Tío materno: neo faringe (65a) Tía materna: neo (<50a)
Caso 3	Varón de 53 años con SMD (tipo: EB-1)	Serie roja: Hb 10,3g/dL; VCM 110,4fL Serie blanca: leucocitos 2.600/mm ³ Plaquetas: 141.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: sí Blastos: 6% Cariotipo: 46,XY [20] Molecular: <i>DDX41</i> (p.Arg471Pro), <i>SRSF2</i>	No	Padre: SMD (57a)
Caso 4	Niño de 3 años con SMD (tipo: citopenia refractaria)	Serie roja: Hb 13,6g/dL; VCM 107,1fL Serie blanca: leucocitos 2.740/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: 2% Cariotipo: 45,XY,-7[6]	Neutropenia desde el primer año de vida (cifra más baja: 520 Ne/mm ³) Infecciones de repetición.	Abuelo materno: ca vejiga, 55a

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
		Plaquetas: 157.000/mm ³		A los 2 años de vida, retraso del lenguaje y rasgos TEA	
Caso 5	Varón de 47 años con SMD-t (tipo: EB-1)	Serie roja: Hb 10,5g/dL; VCM ND Serie blanca: leucocitos 2.160/mm ³ Plaquetas: 162.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: sí Blastos: 8% Cariotipo: complejo	Osteosarcoma maxilar (29a) ADC próstata (45a) Leiomioma maxilar (46a) Extirpación de 8 ca basocelulares/año	No
Caso 6	Mujer de 50 años con LMA (tipo: con cambios relacionados con la mielodisplasia)	Serie roja: Hb 8,2g/dL; VCM 94,8fL Serie blanca: leucocitos 2.430/mm ³ Plaquetas: 35.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: 23% Cariotipo: 46,XX,del(5)(q13q31)[2]/46,X X[18] Molecular: <i>NF1</i> , <i>PHF6</i> , <i>RUNX1</i>	No	Hermano: leucemia aguda (7a) Madre: LMA (64a)
Caso 7	Varón de 68 años con SMD (tipo: EB-1)	Serie roja: Hb 8,8g/dL; VCM ND Serie blanca: leucocitos 1.740/mm ³ Plaquetas: 33.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: sí Blastos: 9% Cariotipo: 47,XY,+21[15]/46,XY[5] Molecular: <i>ZRSR2</i>	Trombocitopenia leve desde los 60a	Hija: trombocitopenia crónica leve (37a) Nieto: Trombocitopenia (7a)
Caso 8	Mujer de 69 años con trombocitopenia (50.000)	Serie roja: 11,1 VCM ND Serie blanca: leucocitos 6.500/mm ³ Plaquetas: 69.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: no Blastos: no Cariotipo: ND	Trombocitopenia desde los 45a (60-90.000/mm ³).	Madre: ca mama, 80a Tía materna: ca mama, 70a Tío materno: leucemia, 80a Abuela paterna: hemorragia fatal post-parto
Caso 9	Mujer de 22 años con SMD (tipo EB-1)	Serie roja: Hb 9,1g/dL; VCM 66,6	Celularidad: aumentada Displasia: sí Blastos: 7%	Bicitopenia (anemia y leucopenia) desde los 19 a Infección por VPH con 19a	Abuelo materno: CCR (55a) Abuela materna: ca mama (45a)

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
		Serie blanca: leucocitos 1.840/mm ³ -Linfocitos 840: ratio CD4/CD8: 1,2, B 2%, NK 2% -Monocitos: 40/mm ³ Plaquetas: 98.000/mm ³	Cariotipo: ND (FISH: 7q-, +8)		
Caso 10	Mujer de 46 años con SMD (tipo displasia multilínea)	Serie roja: Hb 10,2g/dL; VCM 105fL Serie blanca: leucocitos 890/mm ³ -Linfocitos 280 -Monocitos: 10/mm ³ Plaquetas: 68.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: no Cariotipo: 46,XX[20]	TBC con 15a Diagnóstico SMD (tipo: ARS) a los 22a LLGG (36a) Enfermedad relacionada con VPH desde los 33a, incluyendo carcinoma escamoso anal a los 43a Linfedema MID (45a) Infecciones de repetición (IOT por gripe A, VMNI por SarsCov2) Esplenomegalia 18cm	No
Caso 11	Varón de 23 años con SMD (diagnosticado en la infancia)	Serie roja: Hb 10,8g/dL; VCM 104,6 fL Serie blanca: leucocitos 5.500/mm ³ -Linfocitos 810/mm ³ -Monocitos: 50/mm ³ Plaquetas: 150.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20]	Muy bajo peso al nacer Ductus arterioso persistente Retraso constitucional del crecimiento. Hidrocele derecho. Diagnóstico SMD (tipo: citopenia refractaria) a los 10a	Hermano: LMA, -7 (6a), fallecido tras alo-TPH (el donante fue el caso índice) Madre: SMD (35a) Tío: LMA CBF (40a)

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
Caso 12	Mujer de 55 años con LMA (tipo: NOS)	Serie roja: Hb 9,9g/dL; VCM ND Serie blanca: leucocitos 1.600/mm ³ Plaquetas: 127.000/mm ³	Celularidad: ND Displasia: ND Blastos: 66% Cariotipo ND (FISH: -7)	No	Padre: neo pulmón (70a) Tía paterna: neo páncreas (80a) Tío paterno: neo riñón (70a)
Caso 13	Varón de 28 años con SMD (diagnosticado en la infancia)	Serie roja: Hb 14,3g/dL; VCM 99fL Serie blanca: leucocitos 3.700/mm ³ Plaquetas: 74.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: no Cariotipo 45,XY,-7[8]/46,XY[12]	Diagnóstico SMD (tipo: citopenia refractaria) con 12a	Tío paterno: ca pulmón (40a) Abuela materna: CCR (80a)
Caso 14	Mujer de 59 años con SMD (tipo: EB-2)	Serie roja: Hb 8,1g/dL; VCM ND Serie blanca: leucocitos 1.700/mm ³ Plaquetas: 30.000/mm ³	Celularidad: ND Displasia: sí Blastos: 11% Cariotipo: 46,XX,del(12)(p12),del(17)(p13)[2]/46,XX[1]	Tumor seroso ovárico no tratado, 57a	No
Caso 15	Niño de 13 años con SMD (tipo: EB-1)	Serie roja: Hb 2,3g/dL; VCM 103fL Serie blanca: leucocitos 1.320/mm ³ Plaquetas: 7.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: 6% Cariotipo: 46,XY,add(7)(p10),i(17)(q10)[20] Test fragilidad: positivo	No	Hermana: anemia de Fanconi diagnosticada tras el estudio familiar (10a) Historia de leucemia en familiares jóvenes (rama paterna): consanguinidad familiar
Caso 16	Niño de 8 años con bicitopenia	Serie roja: Hb 11,2g/dL; 97,8VCM fL Serie blanca: leucocitos 4.260/mm ³ Plaquetas: 82.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: no Blastos: 3% Cariotipo: ?46,XY[5] Test de fragilidad: posible mosaicismo	Estenosis de píloro RN Ingresos hospitalarios reiterados por infecciones Hipoacusia neurosensorial por agenesia nervio coclear (3a)	No

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
				Fimosis	
Caso 17	Niño de 10 años con pancitopenia	Serie roja: Hb 11,6g/dL; 93,8VCM fL Serie blanca: leucocitos 2.580/mm ³ Plaquetas: 114.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: no Blastos: 0% Cariotipo: 46,XY[20] Test fragilidad: ND	Talla baja PNA y RVU al nacer	No
Caso 18	Varón de 37 años con sospecha clínica de anemia de Fanconi (diagnosticado en la infancia)	Serie roja: Hb 14,7g/dL; 94,3VCM fL Serie blanca: leucocitos 4.800/mm ³ Plaquetas: 238.000/mm ³	ND Test de fragilidad cromosómica: positivo	Hipoplasia 1º metacarpiano y falanges de pulgar derecho Agnesia del 1º metacarpiano e hipoplasia de las falanges de pulgar izquierdo Hipospadias glandar y frenillo hipoplásico RVU Estenosis de uretra membranosa	Hermano: anemia de Fanconi (diagnóstico clínico en la infancia)
Caso 19	Varón de 17 años con aplasia medular no grave	Serie roja: Hb 9,9g/dL; VCM 106 fL Serie blanca: leucocitos 3.200/mm ³ Plaquetas: 66.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: no Blastos: 0% Cariotipo: 46,XY[20] Longitud telomérica: acortada	Miopía, astigmatismo, esteatosis hepática, pie plano, distrofia ungueal en primer dedo mano izquierda Diagnóstico AM con 10a	Abuela materna: anemia crónica no filiada
Caso 20	Niño de 13 años con bicitopenia	Serie roja: Hb 13,4g/dL; VCM 86,8fL Serie blanca: leucocitos 3.180/mm ³ (Ne 1.400) Plaquetas: 84.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: 1% Cariotipo: 46,XY[20]	Distrofia ungueal Leucoplasia de mucosa yugal Esplenomegalia Dificultad para tragar	Hermano: DC Abuela paterna: CCR (34a) Abuelo paterno: neo pulmón (45a)

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
Caso 21	Mujer de 12 años con neutropenia cíclica grave	Serie roja: Hb 11,9g/dL; VCM 86fL Serie blanca: leucocitos 2.110/mm ³ (Ne 20/mm ³) Plaquetas: 220.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XX[6] *Detención madurativa total en mielocito Molecular: <i>CSF3R</i> no mutado	Diagnóstico neutropenia severa con 2a Ingresos reiterados por tiiflitis, ileitis, absceso perianal y cuadros respiratorios. Ha requerido GCSF.	Abuelo materno: neo pulmón (81a)
Caso 22	Niña recién nacida con neutropenia grave	Serie roja: Hb 16,5g/dL; VCM 98,7 fL Serie blanca: leucocitos 2.620/mm ³ (Ne 70/mm ³) Plaquetas: 256.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: no Blastos: no Cariotipo: ND *Detención madurativa total en mielocito Molecular: <i>CSF3R</i> no mutado	Retraso en la caída del cordón umbilical con onfalitis leve.	Abuelo paterno: neo laringe
Caso 23	Niño recién nacido con neutropenia grave	Serie roja: Hb 10,4g/dL; VCM 92,5 fL Serie blanca: leucocitos 5.750/mm ³ (Ne 40/mm ³) Plaquetas: 419.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20] *Detención madurativa total en mielocito Molecular: <i>CSF3R</i> no mutado	Retraso en la caída del cordón umbilical con onfalitis leve.	No
Caso 24	Niña recién nacida con neutropenia grave	Serie roja: Hb 15,3g/dL; VCM 80,7 fL Serie blanca: leucocitos 4.400/mm ³ (Ne 0/mm ³) Plaquetas: 272.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XX[20] *Detención madurativa total en mielocito Molecular: <i>CSF3R</i> no mutado	No	Abuelo materno: tumor cerebral
Caso 25	Mujer de 16 años con neutropenia	Serie roja: Hb 13g/dL; VCM 91fL	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no	Conducto arterioso abierto	No

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
	crónica (moderada)	Serie blanca: leucocitos 4.900/mm ³ (Ne 700/mm ³) Plaquetas: 327.000/mm ³	Cariotipo: ND *No arresto madurativo	Anemia por eritroblastopenia neonatal (resuelta) Diagnóstico de neutropenia grave con 1a. A partir de los 4a, la cifra de neutrófilos mejoró. Ingresos de repetición en la infancia por complicaciones infecciosas. Respuesta parcial al G-CSF.	
Caso 26	Varón de 15 años con neutropenia cíclica (moderada-grave) y monocitosis	Serie roja: Hb 13,9g/dL; VCM 92fL Serie blanca: leucocitos 3.300/mm ³ (Ne 260/mm ³ , M 1400/mm ³) Plaquetas: 152.000/mm ³	ND *Detención madurativa total en mielocito	Diagnóstico de neutropenia moderada-grave cíclica al nacer, con escasas complicaciones infecciosas Sordera neurosensorial, 11a Dermatitis atópica, hipospadias y aftas orales	Hermana 12a: neutropenia congénita (200/mm ³) y monocitosis (1300/mm ³). No sordera. Padre, 45a: neutropenia crónica (800/mm ³), monocitosis (1800/mm ³) y sordera neurosensorial
Caso 27	Niño de 2 años con neutropenia severa congénita	Serie roja: Hb 9,9g/dL; VCM 81,6fL Serie blanca: leucocitos 5.600/mm ³ (Ne 300/mm ³) Plaquetas: 336.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20] *Detención madurativa parcial en mielocito	Talla baja al nacer, recuperada Neutropenia grave desde el nacimiento, que fluctúa entre grave-moderada y que ha ocasionado ingresos por complicaciones infecciosas Excreción aumentada de ácido 3-metilglutacónico y ácido 3-metilglutárico	No

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
Caso 28	Varón de 40 años con neutropenia congénita (moderada-grave) y trombocitopenia leve	Serie roja: Hb 17g/dL; VCM 93fL Serie blanca: leucocitos 3.160/mm ³ (Ne 800/mm ³) Plaquetas: 100.000/mm ³	ND	Diagnóstico de neutropenia congénita (moderada-grave) con 8 años (Ne 300). Algún ingreso por fiebre neutropénica, para lo que ha requerido G-CSF (con respuesta parcial). Con los años, ha aumentado cifras de Ne: 500-1000, aunque presenta descensos esporádicos. No eccema. Trombocitopenia leve (100-150.000)	Hermano: neutropenia
Caso 29	Niña de 14 años con neutropenia leve congénita	Serie roja: Hb 13,6g/dL; VCM 81fL Serie blanca: leucocitos 4.300/mm ³ (Ne 1.200/mm ³) Plaquetas: 144.000/mm ³	ND	Infecciones leves de repetición Pubertad precoz	Padre: Neutropenia crónica moderada
Caso 30	Niño de 1 año con trombocitopenia y dermatitis atópica (eccema generalizado)	Serie roja: Hb 11,2g/dL; VCM 76fL Serie blanca: leucocitos 10.600/mm ³ (Ne 7.000/mm ³) Plaquetas: 27.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20]	No	No
Caso 31	Varón de 30 años con anemia congénita y	Serie roja: Hb 8,1g/dL; VCM 101fL	Celularidad: aumentada Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20]	No	Madre: anemia crónica no filiada Abuelo paterno: ADC próstata (61a)

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
	malformaciones óseas	Serie blanca: leucocitos 4.080/mm ³ (Ne 1.200/mm ³) Plaquetas: 144.000/mm ³			Abuela materna: neo pulmón (83a)
Caso 32	Niña de 7 años con anemia congénita y síndrome polimalformativo	Serie roja: Hb 9,1g/dL; VCM 89fL Serie blanca: leucocitos 3.900/mm ³ (Ne 1.800/mm ³) Plaquetas: 452.000/mm ³	Médula ósea compatible con eritroblastopenia Cariotipo: 46,XX[20]	Talla baja , CIA intervenida, riñón en herradura, múltiples efélides en la cara, máculas hipo/hiperpigmentadas, implantación baja de pabellones auriculares En tratamiento con hierro desde los 3-4 meses y corticoideo crónico desde el 1,5 año de vida	No
Caso 33	Niño de 10 años con anemia congénita, neutropenia leve y síndrome polimalformativo	Serie roja: Hb 9g/dL; VCM 101fL Serie blanca: leucocitos 6.140/mm ³ (Ne 1.290/mm ³) Plaquetas: 425.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20] *Disminución leve de la serie eritroide	Hipospadias, genitales ambiguos, criptorquidia derecha, arteria umbilical única, agenesia pulgar derecho e hipoplasia izquierdo, agenesia del radio Plagiocefalia, leve hipotonía	Abuelo paterno: ca gástrico
Caso 34	Niño de 11 años que presentó anemia desde el nacimiento hasta los 8 años	Serie roja: Hb 16,1g/dL; VCM 98,2fL Serie blanca: leucocitos 8.510/mm ³ Plaquetas: 262.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20] *Al diagnóstico, existía disminución de la serie eritroide, que se normalizó	Cardiología Wolff-Parkinson-White, soplo cardiaco, retraso en el lenguaje, adrenarquia prematura, intolerancia alimentaria, con déficit de	Abuela materna: ca útero, 67a

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
				vitaminas liposolubles, posible TEA	
Caso 35	Mujer de 16 años con eritroblastopenia congénita	Serie roja: Hb 13,3g/dL; VCM 100fL Serie blanca: leucocitos 6.700/mm ³ Plaquetas: 221.000/mm ³	Hipoplasia eritroide medular, con normalidad del resto de series. Cariotipo: 46,XX[20]	Riñón ectópico	Padre: anemia con 6 años, que se resolvió de forma espontánea Abuelo paterno: ca páncreas
Caso 36	Varón de 23 años con anemia congénita	Serie roja: Hb 11,8g/dL; VCM 108fL Serie blanca: leucocitos 5.600/mm ³ Plaquetas: 395.000/mm ³	Hipoplasia severa de serie eritroide Cariotipo: 46,XY[20]	Manchas acrómicas dispersas en tronco y una mancha café con leche en espalda	Abuelo paterno: cáncer Abuelo materno: ca páncreas
Caso 37	Varón de 16 años con diagnóstico clínico de Síndrome de Shwachman-Diamond (diagnosticado en la infancia)	Serie roja: Hb 14g/dL; VCM 100fL Serie blanca: leucocitos 15.700 (Ne 6.700)/mm ³ Plaquetas: 68.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: no Blastos: no Cariotipo: 46,XY[20] Molecular: <i>IDH1</i>	Insuficiencia pancreática crónica Esplenomegalia Lleva G-CSF crónico 3x semana (si se retrasa en la medicación: Ne 300). Esto lo lleva desde el diagnóstico por infecciones de repetición	No
Caso 38	Varón de 37 años con pancitopenia leve y esplenomegalia (desde hace 20 años)	Serie roja: Hb 12,5g/dL; VCM 90fL Serie blanca: leucocitos 3.000 (Ne 1.400)/mm ³ Plaquetas: 85.000/mm ³	ND	Facies triangular, frente grande, talla corta y cabello rizado	Padre: cáncer
Caso 39	Varón de 59 años con LMA-t (tipo:	Serie roja: Hb 8,5g/dL; VCM 92fL	Celularidad: aumentada Displasia: sí	ADC próstata con 57a	Padre: MM (62a) y CCR (68a) Tío paterno: CCR (60a)

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
	secundario a terapia)	Serie blanca: leucocitos 127.490/mm ³ Plaquetas: 83.000/mm ³	Blastos: 94% Cariotipo: 46,XY[20] Molecular: <i>IDH1</i> , <i>NPM1</i> , <i>PTPN11</i>		Tía materna: ADC gástrico (84a) Tío materno: ADC próstata (80a)
Caso 40	Mujer de 58 años con SMD-t (tipo: EB-1)	Serie roja: Hb 11g/dL; VCM ND Serie blanca: leucocitos 2.220/mm ³ Plaquetas: 111.000/mm ³	Celularidad: ND Displasia: ND Blastos: 7% Cariotipo: complejo Molecular: <i>ASXL1</i>	LMA con 47a	Padre: ADC próstata (70a) Tío paterno: neo esófago (70a)
Caso 41	Mujer de 58 años con LMA-t (tipo: LMA con translocación (10;11), secundaria a terapia).	Serie roja: Hb 9,2g/dL; VCM 118,2fL Serie blanca: leucocitos 3.090/mm ³ Plaquetas: 281.000/mm ³	Celularidad: aumentada Displasia: sí Blastos: 76% Cariotipo: 46,XX[20] Molecular: <i>KMT2A::MLLT10 (MLL::AF10)</i>	ADC ovario con 54a	Hermana: ca mama (45a) Abuela materna: ca ovario Tía: ca ovario (44a)
Caso 42	Mujer de 55 años con LMA-t (tipo: secundaria a terapia)	Serie roja: Hb 8,4g/dL; VCM 97,4fL Serie blanca: leucocitos 2.900/mm ³ Plaquetas: 122.000/mm ³	Celularidad: disminuida Displasia: sí Blastos: 25% Cariotipo: complejo Molecular: <i>TP53</i>	ADC ovario con 51a	Padre: tumor (75a) Tía paterna: ca mama Tío paterno: ca vejiga (72a)
Caso 43	Mujer de 67 años con LMA-t (tipo: secundaria a terapia)	Serie roja: Hb 9,2g/dL; VCM 107,4fL Serie blanca: leucocitos 3.820/mm ³ Plaquetas: 43.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: sí Blastos: 65% Cariotipo: 46,XX[20]	ADC ovario con 64a	Hermana: ca mama (53a)
Caso 44	Mujer de 62 años con SMD (tipo: EB-2)	Serie roja: Hb 10,1g/dL; VCM ND	ND Cariotipo: complejo Molecular: <i>CBL</i>	No	Hermana: LMA (52a) Padre: LMA (37a)

Paciente	Datos al diagnóstico			Antecedentes Personales	Antecedentes familiares de 1º o 2º grado
	Clínica hematológica	Sangre periférica	Médula ósea		
		Serie blanca: leucocitos 6.700/mm ³ Plaquetas: 181.000/mm ³			
Caso 45	Varón de 20 años con LLA-B (diagnosticada en la infancia)	ND	ND	No	Madre: ca mama Abuelo paterno: ca renal, 82a Tía paterna: GMSI, 50a
Caso 46	Mujer de 63 años con trombocitemia esencial (diagnosticada con 61 años)	Serie roja: Hb 14,4g/dL; VCM ND Serie blanca: leucocitos 5.380/mm ³ Plaquetas: 517.000/mm ³	Celularidad: normal Displasia: no Blastos: no	No	Hija: trombocitosis desde los 9 años Abuelo paterno: neo pulmón, 55a

SMD: Síndrome Mielodisplásico; EB-1: Exceso de Blastos tipo 1; Hb: Hemoglobina; VCM: Volumen Corpuscular Medio; ca: cáncer; a: años; EB-2: Exceso de Blastos tipo 2; neo: neoplasia; Ne: Neutrófilos; TEA: Trastorno del Espectro Autista; SMD-t: Síndrome Mielodisplásico relacionado con la terapia; ADC: Adenocarcinoma; LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda; ND: No Disponible; VPH: Virus del Papiloma Humano; CCR: Cáncer Colo Rectal; TBC: Tuberculosis; ARS: Anemia Refractaria Simple; LLGG: Leucemia de Linfocitos Grandes Granulares; MID: Miembro Inferior Derecho; IOT: Intubación Orotraqueal; VMNI: Ventilación Mecánica No Invasiva; alo-TPH: Trasplante alogénico de Progenitores Hematopoyéticos; LMA CBF: Leucemia Mieloblástica Aguda *Core Binding Factor*; LMA NOS: Leucemia Mieloblástica Aguda *Not Otherwise specified*; RN: Recién Nacido; PNA: Pielonefritis Aguda; RVU: Reflujo Vesico-ureteral; AM: Aplasia Medular; DC: Disqueratosis Congénita; M: Monocitos; CIA: Comunicación Inter-auricular; LMA-t: Leucemia Mieloblástica Aguda relacionada con la terapia; MM: Mieloma Múltiple; LLA-B: Leucemia Linfoblástica Aguda de estirpe B; GMSI: Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto.

Tabla Suplementaria 6. Hallazgos en el análisis en línea germinal y manejo del paciente y familiares.

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
Caso 1	Fibroblastos cutáneos	<i>DDX41</i> (NM_016222): c.27+1G>A	Heterocigosis	Segregación y seguimiento de portadores sanos	Enfermedad estable en seguimiento.
Caso 2	Fibroblastos cutáneos	<i>DDX41</i> (NM_016222): c.1015C>T; p.Arg339Cys	Heterocigosis	Segregación	Trasplantada de su hermano (no portador), estable y en seguimiento.
Caso 3	Fibroblastos cutáneos	<i>DDX41</i> (NM_016222): c.536C>T; p.Pro179Leu	Heterocigosis	Segregación y seguimiento de portadores sanos	Trasplantado de su hermana (portadora). SMD/LMA en células del donante y éxito.
Caso 4	Fibroblastos cutáneos	<i>DDX41</i> (NM_016222): c.364G>T; p.Glu122*	Heterocigosis	Segregación y seguimiento de portadores sanos	Trasplantado de DNE, estable y en seguimiento
Caso 5	Fibroblastos cutáneos	<i>TP53</i> (NM_000546): c.844C>T; p.Arg282Trp	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Éxito
Caso 6	Fibroblastos cutáneos	<i>RUNX1</i> (NM_001754): c.319C>G; p.Arg107Gly	Heterocigosis	Segregación	Trasplantada de su hijo (no portador), estable y en seguimiento

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
Caso 7	Fibroblastos cutáneos	<i>RUNX1</i> (NM_001754): c.601C>T; p.Arg201*	Heterocigosis	Segregación y seguimiento de portadores con citopenias leves	Trasplantado de su hija (no portadora), estable y en seguimiento
Caso 8	Sangre periférica	<i>RUNX1</i> (NM_001754): c.597dupG; p.Pro200Alafs*13	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Estable y en seguimiento, en tratamiento activo con Eltrombopag
Caso 9	Fibroblastos cutáneos	<i>GATA2</i> (NM_032638): c.1045T>A; p.Cys349Ser	Heterocigosis	Segregación	Trasplantada de DNE, estable y en seguimiento
Caso 10	Fibroblastos cutáneos	<i>GATA2</i> (NM_032638): c.616G>T; p.Glu206*	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Ingresos por complicaciones infecciosas Desarrollo de enfermedad intersticial pulmonar difusa En seguimiento por distintas unidades (ginecología, oncología, neumología y unidad de linfedemas). Por parte de hematología, se encuentra pendiente de decisión de alo-TPH.
Caso 11	Fibroblastos cutáneos	<i>GATA2</i> (NM_032638): c.1117T>C; p.Cys373Arg	Heterocigosis	Segregación	Enfermedad estable y en seguimiento
Caso 12	Fibroblastos cutáneos	<i>SAMD9</i> (NM_017654): c.661C>T; p.Arg221*	Heterocigosis	Información no comunicada	Trasplantada de DNE, recaída y éxitus
Caso 13	Fibroblastos cutáneos	<i>SAMD9</i> (NM_017654): c.4432A>G; p.Ile1478Val	Heterocigosis	Segregación	Enfermedad estable y en seguimiento

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
Caso 14	Fibroblastos cutáneos	<i>SAMD9</i> (NM_017654): c.1046_1047delCT; p.Ser349*	Heterocigosis	Segregación, sin control clínico	Trasplantada de su hija (no portadora). Posteriormente, neo páncreas y éxitus.
Caso 15	Sangre periférica	<i>FANCA</i> (NM_000135): c.295C>T; p.Gln99*	Homocigosis	Segregación. Una hermana homocigota (enferma), en seguimiento por Hematología.	Trasplantado de su hermana (portadora sana), con recaída y segundo alo-TPH (mismo donante)
Caso 16	Sangre periférica	<i>FANCA</i> (NM_000135): delección exones 21 y 22	Homocigosis por LOH materna	Segregación	Trasplantado de DNE, estable y en seguimiento
Caso 17	Sangre periférica	<i>FANCA</i> (NM_000135): -V1: c.295C>T; p.Gln99*. -V2: c.3558dupG; p.Arg1187Glufs*28.	Heterocigosis compuesta	Segregación	Enfermedad estable y en seguimiento
Caso 18	Sangre periférica	<i>FANCD2</i> (NM_001018115): -V1: c.2444G>A; p.Arg815Gln. -V2: c.2613A>C; p.Lys871Asn.	Heterocigosis compuesta	Segregación. Un hermano heterocigoto compuesto (enfermo), en seguimiento por Hematología	Carcinoma de raíz dental Seguimiento en Hematología con hematopoyesis conservada
Caso 19	Sangre periférica	<i>RTEL1</i> (NM_001283009): -V1: c.2920C>T; p.Arg974*. -V2: c.658G>A; p.Asp220Asn.	Heterocigosis compuesta	Segregación	Recibió tratamiento con Danazol para la DC. Trasplante de médula ósea de DNE. En seguimiento por Neumología por afectación

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
					pulmonar con patrón restrictivo leve (EICR crónico vs manifestación de la DC).
Caso 20	Sangre periférica	<i>DKC1</i> (NM_001363): c.1058C>T; p.Ala353Val.	Hemicigosis	Segregación. Un hermano hemicigoto (enfermo), en seguimiento por Hematología.	Estenosis esofágica secundaria a esofagitis no eosinofílica que ha precisado varias dilataciones. Adenocarcinoma en sigma-recto extirpado Ecografía hepática de control: múltiples lesiones hipoeoicas.
Caso 21	Sangre periférica	<i>ELANE</i> (NM_001972): c.416C>T; p.Pro139Leu	Heterocigosis	Segregación	Ciclos variables de 3-4 semanas. Los nadires cursan con neutropenia muy severa con clínica habitual de gingivitis y aftas
Caso 22	Sangre periférica	<i>ELANE</i> (NM_001972): c.212G>A; p.Cys71Tyr	Heterocigosis	Segregación	Repetidos ingresos por complicaciones infecciosas que han requerido G-CSF.
Caso 23	Sangre periférica	<i>ELANE</i> (NM_001972): c.275_289del; p.Arg92_Arg96del	Heterocigosis	Segregación	Repetidos ingresos por complicaciones infecciosas que han requerido G-CSF.
Caso 24	Sangre periférica	<i>ELANE</i> (NM_001972): c.561C>A; p.Cys187*	Heterocigosis	Segregación	Repetidos ingresos por complicaciones infecciosas que han requerido G-CSF.

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
Caso 25	Sangre periférica	<i>CSF3R</i> (NM_000760): c.1245delG; p.Thr416Profs*17	Homocigosis	Segregación	Complicaciones infecciosas de manejo ambulatorio
Caso 26	Sangre periférica	<i>GFI1</i> (NM_005263): c.1145A>G; p.Asn382Ser	Heterocigosis	Segregación. Padre y hermana heterocigotos (enfermos), en seguimiento por Hematología.	Complicaciones infecciosas de manejo ambulatorio Seguimiento por ORL.
Caso 27	Sangre periférica	<i>TAZ</i> (NM_000116): c.110-2A>G	Hemicigosis	Segregación	Repetidos ingresos por complicaciones infecciosas que han requerido G-CSF. Hipotonía y afectación de la motricidad fina y grosera
Caso 28	Sangre periférica	<i>WAS</i> (NM_000377): c.881T>C; p.Ile294Thr	Hemicigosis	Segregación	Enfermedad estable y en seguimiento
Caso 29	Sangre periférica	<i>WAS</i> (NM_000377): c.881T>C; p.Ile294Thr	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Enfermedad estable y en seguimiento
Caso 30	Sangre periférica	<i>WAS</i> (NM_000377): c.217T>C; p.Cys73Arg	Hemicigosis	Segregación	Trasplante de DNE, con posterior DLI. Actualmente, en tratamiento con Eltrombopag por trombocitopenia (16.000 plaquetas/mm ³).
Caso 31	Sangre periférica	<i>RPL5</i> (NM_000969): c.228delC; p.Cys76Trpfs*13	Heterocigosis	Segregación. Madre heterocigota (enferma), en seguimiento por Hematología.	Actualmente en tratamiento con EPO, transfusión y ciclosporina. Abuela materna: neo pulmón (83a)

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
Caso 32	Sangre periférica	<i>RPL5</i> (NM_000969): c.74-1G>A	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Actualmente en tratamiento con corticoides Además, seguimiento multidisciplinar por distintas especialidades
Caso 33	Sangre periférica	<i>RPL11</i> : delección completa del gen	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Actualmente en tratamiento con corticoides Además, seguimiento multidisciplinar por distintas especialidades
Caso 34	Sangre periférica	Síndrome de genes contiguos que afecta a <i>RPS17</i>	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Resolución de la anemia, en seguimiento por Hematología
Caso 35	Sangre periférica	<i>RPS19</i> (NM_001022): c.3G>T; p.Met1Ile	Heterocigosis	Segregación. Padre heterocigoto (enfermo en la infancia, con resolución posterior espontánea), no lleva seguimiento.	Resolución de la anemia, en seguimiento por Hematología
Caso 36	Sangre periférica	<i>RPS26</i> (NM_001029): c.3+1G>A	Heterocigosis	Segregación	Actualmente en tratamiento con corticoides
Caso 37	Sangre periférica	<i>SBDS</i> (NM_016038): -V1: c.258+2T>C . -V2: Delección del exón 2.	Heterocigosis compuesta	La familia se muestra expectante por el momento	En tratamiento con G-CSF crónico.
Caso 38	Sangre periférica	<i>PTPN11</i> (NM_002834): c.923A>G; p.Asn308Ser	Heterocigosis	La familia se muestra expectante por el momento	Enfermedad estable y en seguimiento

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
					Seguimiento por Cardiología
Caso 39	Fibroblastos cutáneos	<i>ATM</i> (NM_000051): c.4452_4462delGGATGTGT CAT; p.Met1484Ilefs*3	Heterocigosis	La familia ha sido derivada a CGC.	Trasplantado de su hermana (estado portador desconocido), estable y en seguimiento En seguimiento por Oncología/CGC
Caso 40	Fibroblastos cutáneos	<i>ATM</i> (NM_000051): c.7456C>T; p.Arg2486*	Heterocigosis	Información no comunicada	Trasplantada de su hermana (estado portador desconocido), con complicaciones postrasplante y éxitus.
Caso 41	Sangre periférica	<i>BRCA1</i> (NM_007294): c.2527del; p.Thr843Glnfs*3	Heterocigosis	Segregación y seguimiento en Oncología/ CGC	Trasplantada de su hermano (portador), estable y en seguimiento En seguimiento por Oncología/CGC
Caso 42	Fibroblastos cutáneos	<i>BRCA2</i> (NM_000059): c.8961_8964delGAGT; p.Ser2988Phefs*12	Heterocigosis	Segregación y seguimiento en CGC	Éxitus por hemorragia cerebral
Caso 43	Selección de linfocitos T CD3 ⁺	<i>CHEK2</i> (NM_007194): c.591delA; p.Val198Phefs*7	Heterocigosis	La familia ha sido derivada a CGC.	Éxitus por progresión de su enfermedad hematológica
Caso 44	Fibroblastos cutáneos	<i>CHEK2</i> (NM_007194): c.349A>G; p.Arg117Gly	Heterocigosis	La familia ha sido derivada a CGC	Trasplantada de DNE, con éxitus reciente por causa desconocida.

Paciente	Análisis en línea germinal			Actitud con sus familiares	Evolución del paciente
	Muestra	Variante genética	Estado alélico		
					Había comenzado seguimiento por CGC.
Caso 45	Fibroblastos cutáneos	<i>PAX5</i> (NM_016734): c.101C>G; p.Pro34Arg	Heterocigosis	Segregación. Control de portadores al inicio, que no se continúa en el momento actual	Enfermedad estable y en seguimiento
Caso 46	Fibroblastos cutáneos	<i>JAK2</i> (NM_004972): c.2984T>C; p.Phe995Ser	Heterocigosis	Segregación Hermana heterocigota (enferma), en seguimiento por Hematología.	Enfermedad estable y en seguimiento

SMD/LMA: Síndrome Mielodisplásico/Leucemia Mieloblástica Aguda; DNE: Donante No Emparentado; alo-TPH: Trasplante alogénico de Progenitores Hematopoyéticos; LOH: pérdida de heterocigosidad (del inglés, *Loss of Heterozygosity*); DC: Disqueratosis Congénita; EICR: Enfermedad Injerto Contra Receptor; ORL: Otorrinolaringología; DLI: infusión de linfocitos del donante (del inglés, *Donor Lymphocyte Infusion*); EPO: Eritropoyetina; CGC: Consejo Genético del Cáncer.

Tabla suplementaria 7. Resumen de las manifestaciones clínicas según la afectación de órganos y tejidos.

Grupo	Diagnóstico	Edad	Gen	CITOPENIAS	VERRUGAS	INFECCIONES	LINFEDEMA	HIPOACUSIA	UÑAS	PIEL	MUCOSAS	PULMÓN	HÍGADO	DESARROLLO	ESQUELETO	EXTREMIDADES	UROLÓGICO	NEUROLÓGICO	DIGESTIVO	NEOPLASIAS
Predisposición sin germinal alteraciones previas	SMD	73	<i>DDX41</i>																	
	SMD	64	<i>DDX41</i>																	
	SMD	53	<i>DDX41</i>																	
	SMD	3	<i>DDX41</i>																	
	SMD	47	<i>TP53</i>																	
Predisposición y germinal alteraciones plaquetarias	LMA	50	<i>RUNX1</i>																	
	SMD	68	<i>RUNX1</i>																	
	IM	45	<i>RUNX1</i>																	
Predisposición germinal y disfunción orgánica	SMD	22	<i>GATA2</i>																	
	SMD	22	<i>GATA2</i>																	
	SMD	10	<i>GATA2</i>																	
	LMA	55	<i>SAMD9</i>																	
	SMD	12	<i>SAMD9</i>																	
	SMD	59	<i>SAMD9</i>																	
	SMD	13	<i>FANCA</i>																	
	IM	8	<i>FANCA</i>																	
	IM	10	<i>FANCA</i>																	
	IM	10	<i>FANCD2</i>																	
	IM	10	<i>RTEL1</i>																	
	IM	13	<i>DKC1</i>																	

Grupo	Diagnóstico	Edad	Gen	CITOPENIAS	VERRUGAS	INFECCIONES	LINFEDEMA	HIPOACUSIA	UÑAS	PIEL	MUCOSAS	PULMÓN	HÍGADO	DESARROLLO	ESQUELETO	EXTREMIDADES	UROLOGÍA	NEUROLÓGICO	DIGESTIVO	NEOPLASIAS
	IM	2	ELANE																	
	IM	0	ELANE																	
	IM	0	ELANE																	
	IM	0	ELANE																	
	IM	0	CSF3R																	
	IM	0	GF1																	
	IM	2	TAZ																	
	IM	8	WAS																	
	IM	7	WAS																	
	IM	1	WAS																	
	IM	0	RPL5																	
	IM	0	RPL5																	
	IM	0	RPL11																	
	IM	0	RPS17																	
	IM	0	RPS19																	
	IM	0	RPS26																	
	IM	10	SBDS																	
	IM	10	PTPN11																	
Predisposición pan-cáncer	LMA	59	ATM																	
	SMD	58	ATM																	
	LMA	58	BRCA1																	
	LMA	55	BRCA2																	

Grupo	Diagnóstico	Edad	Gen	CITOPENIAS	VERRUGAS	INFECCIONES	LINFEDEMA	HIPOACUSIA	UÑAS	PIEL	MUCOSAS	PULMÓN	HÍGADO	DESARROLLO	ESQUELETO	EXTREMIDADES	UROLOGÍA	NEUROLÓGICO	DIGESTIVO	NEOPLASIAS
	LMA	67	CHEK2																	
	SMD	62	CHEK2																	
Otros	LLA	3	PAX5																	
	TE	61	JAK2																	

SMD: Síndrome Mielodisplásico; LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda; IM: Insuficiencia Medular

ANEXO 8. CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE LOS PACIENTES CON UNA NEOPLASIA HEMATOLÓGICA HEREDITARIA EN LA SERIE CONSECUTIVA

Tabla suplementaria 8. Caracterización biológica germinal y somática.

Variantes germinales (P/LP)	Diagnóstico	Edad al diagnóstico/sexo	Variantes germinales (VUS)	Variantes somáticas	Cariotipo
<i>ATM</i> : c.4452_4462delGGATGTGTCAT; p.Met1484Ilefs*3	LMA-t	59/H	no	<i>IDH1</i> : c.395G>A; p.Arg132His <i>NPM1</i> : c.863_864insCTTG; p.Trp288fs <i>PTPN11</i> : c.205G>A; p.Glu69Lys <i>PTPN11</i> : c.214G>A; p.Ala72Thr	46,XY[20]
<i>ATM</i> : c.7456C>T; p.Arg2486*	SMD-t	58/M	<i>FANCA</i> : c.1594G>A; p.Glu532Lys <i>GATA2</i> : c.395G>A; p.Gly132Glu <i>RPS27</i> : c.89C>T; p.Ser30Phe	<i>RUNX1</i> : c.593A>G; p.Asp198Gly <i>DNMT3A</i> : c.2500A>G; p.Thr834Ala <i>EZH2</i> : c.371A>G; p.Asp124Gly	47,XX,+der(1)del(1)(p33),-7,+8[10]
<i>BRCA1</i> : c.2527del; p.Thr843Glnfs*3	LMA-t	58/M	ND	<i>DNMT3A</i> : c.2338_2340delinsGGA; p.Ile780Gly <i>U2AF1</i> : c.104G>T; p.Arg35Leu	46,XX[20]; FISH: KMT2A/MLLT10
<i>BRCA2</i> : c.8961_8964delGAGT; p.Ser2988Phefs*12	LMA-t	55/M	no	<i>TP53</i> : c.536A>T; p.His179Leu	46,XX,del(5)(q13q31)[2]/46,sl1,add(3)(q27)[3]/43-44,sl2,+der(5)del(5)(q13q31),-16,-17,-18[cp5]
<i>CHEK2</i> : c.349A>G; p.Arg117Gly	SMD	62/M	no	<i>ASXL1</i> : p.Gln512* <i>CBL</i> : p.Tyr371Cys	45,XX,del(5)(q13q31),-7,der(11)t(7;11)(q11.2;q21)[15]/45,XX,del(5)(q13q31),-7,der(11)t(7;11)(q11.2;p11.2)[3]/46,XX[2]

Variantes germinales (P/LP)	Diagnóstico	Edad al diagnóstico/sexo	Variantes germinales (VUS)	Variantes somáticas	Cariotipo
<i>CHEK2</i> : c.591delA; p.Val198Phefs*7	LMA-t	67/M	<i>CHEK2</i> : c.1421G>A; p.Arg474His <i>JAGN1</i> : c.334A>G; p.Ile112Val	<i>RUNX1</i> : c.329A>G; p.Lys110Arg <i>NF1</i> : c.3987_3988delAGinsTT; p.Glu1330* <i>BCOR</i> : c.3205_3214delGAGGCCATTG; p.Glu1069Glnfs*41 <i>PRPF8</i> : c.4793A>T; p.Asp1598Val	46,XX[20]
<i>DDX41</i> : c.1015C>T; p.Arg339Cys	SMD	64/M	no	<i>DDX41</i> : c.1035G>T; p.Glu345Asp	46,XX[20]
<i>DDX41</i> : c.27+1G>A	SMD	73/H	no	<i>ASXL1</i> : c.1900_1922del; p.Glu635Argfs*15 <i>NRAS</i> : c.35G>A; p.Gly12Asp <i>DDX41</i> : c.1136C>A; p.Pro379Gln	46,XY[20]
<i>DDX41</i> : c.536C>T; p.Pro179Leu	SMD	54/H	no	<i>DDX41</i> : c.1412G>C; p.Arg471Pro <i>SRSF2</i> : p.Pro95His	46,XY[20]
<i>GATA2</i> : c.1045T>A; p.Cys349Ser	SMD	22/M	no	no	48,XX,add(7)(q21),+8,+21[cp10]
<i>GATA2</i> : c.616G>T, p.Glu206*	SMD	22/M	no	no	46,XX[20]
<i>RPL5</i> : c.228delC; p.Cys76Trpfs*13	IM	2/H	no	no	46,XY[20]
<i>RTEL1</i> : c.2920C>T; p.Arg974*// c.658G>A; p.Asp220Asn	IM	10/H	<i>FANCL</i> : c.1007_1008insGCTTAT; p.Gln335_Ile336insMetLeu	no	46,XY[8]

Variantes germinales (P/LP)	Diagnóstico	Edad al diagnóstico/sexo	Variantes germinales (VUS)	Variantes somáticas	Cariotipo
<i>RUNX1</i> : c.319C>G; p.Arg107Gly	LMA	50/M	no	<i>RUNX1</i> : c.1274C>T; p.Pro425Leu <i>RUNX1</i> : c.1424_1425ins10; p.Val476Alafs*127 <i>NF1</i> : c.6772C>T; p.Arg2258* <i>PHF6</i> : c.749T>A; p.Val250Asp	46,XX,del(5)(q13q31)[2]/46,XX[18]
<i>SAMD9</i> : c.1046_1047delCT; p.Ser349*	SMD	59/M	no	<i>TP53</i> : c.488A>G; p.Tyr163Cys	46,XX,del(12)(p12),del(17)(p13)[2]/46,XX[1]
<i>SAMD9</i> : c.661C>T; p.Arg221*	LMA	55/M	<i>WAS</i> : c.175_176delCCinsTT; p.Pro59Phe	<i>IDH1</i> : c.394C>G; p.Arg132Gly <i>CSF3R</i> : c.2326C>T; p.Gln776* <i>DNMT3A</i> : c.1668-1G>A	Cariotipo ND. FISH -7
<i>TP53</i> : c.844C>T; p.Arg282Trp	SMD-t	47/H	no	<i>JAK2</i> : c.1849G>T; p.(Val617Phe)	Cariotipo ND. FISH: +8, 5q-, p53, -7, +20q

P: patogénico (del inglés, *Pathogenic*); LP: probablemente patogénico (del inglés, *Likely Pathogenic*); VUS: variante de significado clínico incierto (del inglés, *Variant of Uncertain Significance*); LMA-t: Leucemia Mieloblástica Aguda relacionada con la terapia, H: Hombre; SMD-t: Síndrome Mielodisplásico relacionado con la terapia; M: Mujer; SMD: Síndrome Mielodisplásico; IM: Insuficiencia Medular; LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda.

