

Klonális hematopoézis hatása a szolid tumorok molekuláris diagnosztikájára

ÓRFI ZOLTÁN¹, KÁLLAI ATTILA³, CSABÁN DÓRA¹, MEGGYESI NÓRA¹, NAGY-SCHWENDTNER MARIANN¹, HARASZTDOMBI JÓZSEF², KAJTÁR BÉLA⁵, CEGLÉDI ANDREA², BÁTAI ÁRPÁD², TORDAI ATTILA⁴, REMÉNYI PÉTER², MIKALA GÁBOR², UNGVÁRI ZOLTÁN³, ANDRIKOVICS HAJNALKA¹

Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, ¹Molekuláris Genetikai Laboratórium, ²Hematológiai és Össejttranszplantációs Osztály; Semmelweis Egyetem, ³Megelőző Orvostani és Népegészségtani Intézet, ⁴Transzfuziológiai Tanszék, Budapest; ⁵Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvosi Kar, Patológiai Intézet, Pécs

Levelezési cím:

Dr. Andrikovics Hajnalka, Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Molekuláris Genetikai Laboratórium, Budapest, 1097, Albert Flórián u. 5-7; e-mail: andrikovics.hajnalka@dpckorhaz.hu, tel.: +36-1-219-6188

Közlésre érkezett:

2024. szeptember 25.

Elfogadva:

2024. november 25.

Jelen közleményünk az ismeretlen jelentőségű klonális hematopoézissel (CHIP) kapcsolatos legújabb molekuláris genetikai diagnosztikai, illetve klinikai vonatkozásokat mutatja be. A CHIP a daganatmegelőző állapotok folyamatosan bővülő csoportjához tartozik, amelyek a molekuláris diagnosztikai eszköztár fejlődése és az átlagéletkor növekedése következtében egyre több esetben kerülnek felismerésre a rutin betegellátás során. A CHIP-mutációk gyakorisága az életkorral párhuzamosan emelkedik (50 éveseknél 1–2%, 80 éveseknél 15–45%). Nemzetközi tanulmányok szerint a szolid tumoron végzett molekuláris patológiai vizsgálatok 5–8%-a tartalmazhat téves eredményt a tumorokban jelen lévő leukocitáknak köszönhetően, míg ez az arány a liquid biopsziás mintákon végzett vizsgálatok esetében akár 10–15%-ra nőhet a klonális hematopoézis következtében. A félrevezető diagnosztikai vélemény elkerülése érdekében javasolt különböző szöveti eredetű, illetve vér/tumor mintapárok összehasonlító elemzése. A szerzők példákkal mutatják be a szolid tumorok célzott terápiáit befolyásoló CHIP-eltéréseket (például *KRAS*, *ATM*, *IDH1*, *TP53*). Tárgyalásra kerül a CHIP jelentésének hatása a csírvonalas genetikai eltérések kimutatása során. *Magy Onkol* 68:351–362, 2024

Kulcsszavak: klonális hematopoézis, ismeretlen jelentőségű klonális hematopoézis, molekuláris diagnosztika, sejtmentes szabad DNS, *TP53*

*This review presents the latest molecular genetic diagnostic and clinical aspects related to clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). CHIP belongs to the continuously expanding group of pre-cancerous conditions, increasingly recognized in routine patient care due to the development of molecular diagnostic tools and the increase in life expectancy. The incidence of CHIP mutations increases with age (1–2% in individuals aged 50 years, 15–45% in those aged 80 years). According to international studies, 5–8% of examinations performed on solid tumors may contain erroneous results due to the presence of leukocytes. This rate increases to 10–15% in case of liquid biopsy samples. To avoid misleading diagnostic results, it is recommended to perform comparative analysis of samples from different tissue origins, blood/tumor sample pairs. The authors illustrate CHIP-related alterations affecting targeted therapies for solid tumors (e.g. *KRAS*, *ATM*, *IDH1*, *TP53*). The impact of CHIP on the detection of germline genetic alterations is also discussed.*

Órfi Z, Kállai A, Csabán D, Meggyesi N, Nagy-Schwendtner M, Harasztombi J, Kajtár B, Ceglédi A, Bártai Á, Tordai A, Reményi P, Mikala G, Ungvári Z, Andrikovics H. The role of clonal hematopoiesis in the molecular diagnostics of solid tumors. *Magy Onkol* 68:351–362, 2024

Keywords: clonal hematopoiesis, clonal hematopoiesis of indeterminate potential, molecular diagnostics, cell-free DNA, *TP53*

BEVEZETÉS

Születéstől kezdve az életkor előrehaladtával környezeti hatások vagy DNS-replikációs hibák miatt testi sejtjeinkben genetikai eltérések keletkeznek. Az eltérések által biztosított növekedési előny klonális expanzióhoz és mozaicizmushoz vezet. Ez minden sejtre jellemző általános jelenség, azonban egyes szervek viszonylagos védettséget élveznek, így például a vérképzésben egységnyi idő alatt feleannyi nukleotidcsere keletkezik, mint a vastagbél, a vékonybél vagy a máj őssejtjeiben (1). A genetikai elváltozások felhalmozódását ok-okozati tényezőként hozzák összefüggésbe az öregedéssel, életkorral összefüggő kór állapotokkal, beleértve degeneratív és rosszindulatú megbetegedéseket.

Klonális hematopoézis (CH) esetén szomatikus genetikai variánsok vagy mozaik kromoszómaeltérések (mCA) azonosíthatók. Az ismeretlen jelentőségű klonális hematopoézisben (CHIP) a hematológiai malignitásokban ismert kóros szomatikus mutációk vannak jelen, melyeknek variánsallél-frekvenciája (VAF) legalább 2%, viszont nem társul hozzá vérkép-, csontvelő/nyirokcsomó morfológiai eltérés vagy egyéb, az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által definiált hematológiai neoplázia.

A mieloid és limfoid sejtvonalat érintő klonális hematopoézis (M-CHIP és L-CHIP) kórereditében szerepet játszó genetikai eltérések feltűnő eloszlásbeli különbséget mutatnak. Míg M-CHIP esetén túlnyomó többségben (85%) három gén eltérései (*DNMT3A*, *TET2* és *ASXL1*) azonosíthatók, addig az L-CHIP variánsok nagyszámú gént érintenek, viszonylag egyenletes eloszlásban. Ezek a gének a hematopoézis epigenetikai, transzkripcionális szabályozásában, a DNS-hibajavításban, valamint az apoptózisban és a jelátvitelben vesznek részt (1. táblázat). A preneoplasztikus állapotok következő fázisaiban már kimutathatók vérképtérések, mint citopéniák (ismeretlen jelentőségű klonális citopénia, CCUS) vagy citózis (ismeretlen jelentőségű klonális monocitózis, CMUS). Más esetekben kóros immunfenotípusú sejtek azonosíthatók

Rövidítések:

ACMG: Amerikai Orvosi Genetikai és Genomikai Kollégium, **AML:** akut mieloid leukémia, **CCUS:** ismeretlen jelentőségű klonális citopénia, **cfDNS:** sejtmentes szabad DNS, **CH:** klonális hematopoézis, **CHIP:** ismeretlen jelentőségű klonális hematopoézis, **CLL:** krónikus limfoid leukémia, **CMUS:** ismeretlen jelentőségű klonális monocitózis, **CRC:** kolorektális rák, **DDR:** DNS-károsodásra adott válasz, **ESMO:** European Society for Medical Oncology, **HM:** hereditér rákszíndróma, **HRR:** homológ rekombinációs repair, **HSCT:** hematopoietikus őssejt-transzplantáció, **L-CHIP:** limfoid eredetű CHIP, **LOD:** kimutathatósági határ, **MBL:** monoklonális B-limfocitózis, **M-CHIP:** mieloid eredetű CHIP, **mCA:** mozaik kromoszómaeltérés, **MDS:** mielodiszplázia, **MGUS:** ismeretlen jelentőségű monoklonális gammopátia, **MM:** multiplex mielóma, **MPN:** mieloproliferatív neoplázia, **NSCLC:** nem kissejtes tüdőrák, **PARP:** poli (ADP-ribóz) polimeráz, **PARPi:** PARP-inhibitor, **t-MN:** terápiaasszociált mieloid neoplázia, **VAF:** variánsallél-frekvencia, **WHO:** World Health Organization

áramlási citometriával (pl. monoklonális B-sejtes limfocitózis, MBL). A leggyakrabban felfedezett eltérések egyike a kóros monoklonális antitesttermelés (ismeretlen jelentőségű monoklonális gammopátia, MGUS). A többlépcsős patogenezisnek megfelelően onkogén mutációk akkumulációja eredményezi a preneopláziás állapotok átalakulását a WHO által definiált mieloid és limfoid hematológiai malignitássá (2, 3) (1. ábra).

A klonális expanzió kiváltó faktorai

Kutatások szerint egy embernek körülbelül 50 000–200 000 hematopoetikus őssejtje van. Becslések szerint 80 éves élettartam alatt körülbelül 60–240 millió bázis genetikai alterációja következhet be az őssejt-populációban (1, 4). A látszólag véletlenszerűen kialakult genetikai eltéréseket hordozó őssejtek klonális expanziójához különböző stresszorok vezethetnek. Hematológiában a klónok egyik vezető szelektációs tényezője a krónikus gyulladás és a gyulladással kölcsönösen összefüggő metabolikus zavarok. Az onkogén driverek alkalmassá teszik az adott klónt, hogy a normális hematopoetikus ő- vagy progenitorsejtekhez képest hatékonyabban osztódjanak gyulladással környezetben. Ezáltal a CH-klón növekedése és gyulladást fokozó hatása egy öngerjesztő ördögi kört formálhat. A CHIP-ek 50%-át kitevő, *DNMT3A*-variánst hordozó klónok autoimmun betegségből vagy krónikus fertőzéstől eredő immunstimulációból (5) származó interferon-gamma hatás alatt klónexpanziót mutatnak. A CHIP-variánsok mintegy 15%-áért felelős *TET2*-génmutáns klónok a citokintermelésük stimulálásával fokozzák az inzulinrezisztenciát a fehér zsírszövetben (6), így növelhetik a diabétesz kialakulásának valószínűségét. Az emelkedett vércukorszint destabilizálja a *TET2*-komplexet, csökkentve a funkcióját, ezáltal gyorsítva a klón növekedését (7). A CHIP-eltérések mintegy 5%-át kitevő *ASXL1*-mutáció ismert rizikófaktora a dohányzás, amely esetében a krónikus gyulladás hozzájárul a klón növekedéséhez (8).

A DNS-károsodásra adott válaszból (DDR) részt vevő gének variánsait hordozó őssejtekben citotoxikus stressz hatására következik be expanzió. A legismertebb DDR-gén a *TP53*, érintettsége az összes CHIP-eltérés 2%-át teszi ki. A gén a p53 tumorszuppresszor fehérjét kódolja, amely szabályozza a sejtciklust, az apoptózist és a DNS-hibajavítást. A fehérje DNS-károsodás, hipoxia, metabolikus diszfunkció és egyéb stresszorok hatására történő aktiválódását követően célgénjeit úgy szabályozza, hogy megtörténhessen a DNS-hibajavítás vagy apoptózisba vezesse a sejtet. A *TP53* gén érintettsége általában kemo- vagy sugárterápia után jelenik meg, feltételezhetően meglévő, rezisztens klón proliferatív előnye által vagy gyerekkori eseteknél közvetlen a citotoxikus stressz hatására (9, 10). A *PPM1D*-mutációk a CHIP-mutációk 4%-át teszik ki, ez a gén egy foszfatáz fehérjét kódol, amely defoszforilálja a p53-at és negatívan szabályozza a DDR többi komponensét (11, 12). A CH-driver *CHEK2* és *ATM* további DDR-gének, melyek a p53 foszforilálásán keresztül növelik annak élettartamát (13).

1. TÁBLÁZAT. Klonális hematopoézisben érintett gének kóroki genetikai variánsainak előfordulási gyakorisága százalékos formában preneopláziás állapotban (CHIP) és különböző WHO-definiált hematológiai neopláziákban

Gén	Funkció	Előfordulás	CHIP % (n=46706)	MDS% (n=3323)	AML% (n=805)	CLL% (n=1148)	Szolid tumor	
							prevalencia	terápia
<i>DNMT3A</i>	epigenetika	M	3,91%	18,4%	26,2%	0,2%		
<i>TET2</i>	epigenetika	M	1,09%	51,1%	20,0%	0,3%		
<i>ASXL1</i>	epigenetika	M	0,43%	31,0%	12,2%	1,0%		
<i>TP53</i>	DDR	M/L	0,11%	15,3%	12,4%	10,5%		
<i>PPM1D</i>	DDR	M	0,10%	2,3%	0,4%	0,4%		
<i>JAK2</i>	jelátvitel	M	0,05%	4,2%	4,5%	0,2%		
<i>SRSF2</i>	splicing	M	0,07%	17,6%	13,5%	0,1%		
<i>SF3B1</i>	splicing	M/L	0,06%	24,0%	6,1%	17,6%		
<i>ZRSR2</i>	splicing	M	0,01%	6,8%	1,7%	0,1%		
<i>KRAS</i>	jelátvitel	M/L	0,02%	4,2%	5,5%	2,4%	NSCLC: KRAS G12C: 12% CRC: 4,9% CRC: KRAS G12C: 4% pankreász G12C: 1-2% kolangiokarcinóma G12C: <1%	NSCLC: KRAS G12C TKI CRC: anti-EGFR mAB CRC: KRAS G12C TKI + anti-EGFR mAB pankreász: KRAS G12C TKI kolangiokarcinóma: KRAS G12C TKI
<i>NRAS</i>	jelátvitel	M/L	0,01%	6,2%	14,9%	1,4%	CRC: 7,5%	CRC: anti-EGFR mAB
<i>NF1</i>	jelátvitel	M	0,03%	7,0%	3,7%	0,5%		
<i>BRAF</i>	jelátvitel	M	0,00%	1,0%	0,6%	3,4%	melanóma: 40-45% vékonybél-adenokarcinóma: 5-6% NSCLC: 2% CRC: 5% kolangiokarcinóma: 50% tiroid (anapl.): 10-50% tiroid (papill.): 40-50%	agnosztikus: BRAFi + MEKi CRC: BRAFi + EGFRi tiroid (anapl.): BRAFi + MEKi tiroid (papill.): BRAFi
<i>KIT</i>	jelátvitel	M	0,00%	2,0%	2,4%	0,3%	GIST: 85%	KIT/PDGFR TKI
<i>RUNX1</i>	transzkripciósfaktor	M	0,03%	17,7%	15,5%	ND		
<i>IDH2</i>	epigenetika	M	0,01%	5,5%	13,9%	ND		
<i>IDH1</i>	epigenetika	M	0,00%	3,3%	8,8%	0,3%	kolangiokarcinóma: 8-18%	IDH1i
<i>MYD88</i>	limfoid jelátvitel	L	0,01%	NA	0,1%	3,2%		
<i>NOTCH1</i>	limfoid jelátvitel	L	0,01%	4,2%	ND	4,8%		

1. TÁBLÁZAT (folytatás). Klonális hematopoézisben érintett gének kóroki genetikai variánsainak előfordulási gyakorisága százalékos formában preneoplázias állapotban (CHIP) és különböző WHO-definiált hematológiai neopláziákban

Gén	Funkció	Előfordulás	CHIP % (n=46706)	MDS % (n=3323)	AML % (n=805)	CLL % (n=1148)	Szolid tumor	
							prevalencia	terápia
PTEN	tumorszuppresszor / apoptózis	M	0,00%	0,2%	0,2%	0,1%	emlő: 7%; proszta: 40%	AKTi
ATM	DDR	L	0,03%	NA	0,6%	13,5%	proszta: 6%	PARPi
CHEK2	DDR	L	0,01%	0,4%	ND	0,4%		
BRCA1/2	DNS-hibajavítás		0,00%	NA	0,1%	0,9%	emlő: 3% szomatikus; 4% csírvonalas proszta: 9–11% (csírvonalas/szoma- tikus) pankreasz: 4–7% ovárium: 15–17% csírvonalas; 5–7% szomatikus	PARPi
PALB2	DNS-hibajavítás		0,00%	NA	ND	0,2%	emlő: 1% (csírvonalas) proszta: 1% pankreasz: 3–4%	PARPi

A táblázatban feltüntetésre kerültek a szolid tumorok molekuláris diagnosztikájában kitért jelentőségű gének, amelyek kimutatása a célzott terápia miatt fontos [32]. A mutatott adatok egy-egy közelmúltban publikált, nagy elemszámú vizsgálat adataiból származnak és a mutációk előfordulási gyakoriságát ábrázolják %-ban: CHIP (populációs adatbázis; UK Biobank) [16], MDS [43], AML [58], CLL [59]. Csak azok a WHO-definiált hematológiai betegségek kerültek bemutatásra a táblázatban, amelyek gyakoriak, és a kórkép, valamint prekursor állapot a perifériás vérben kimutatható. AML: akut mieloid leukémia, CHIP: ismeretlen jelentőségű klonális hematopoézis, CLL: krónikus limfoid leukémia, CRC: kolorektális rák, cs: csírvonalas, DDR: DNS-károsodásra adott válasz, i: inhibitor, L: limfoid, M: mieloid, mAB: monoklonális antitest, MDS: mielodiszplázia, NA: nincs adat, ND: nem detektált, NSCLC: nem kissejtes tüdőrák, PARP: poli (ADP-riboz) polimeráz, sz: szomatikus, TKI: tirozinkináz-inhibitor

A CH prevalenciája és demográfiai jellemzői

Az 1% VAF-ot meghaladó mértékű CH 70 év feletti életkorban szinte mindenkinél előfordul (4). Hematológiai rendellenességgel nem rendelkező személyek csoportjában, a hematológiai driver génekkel jellemzett CHIP előfordulási gyakoriságát az ötvenévesek körében 1–2%-ra tették, majd a prevalencia az életkor előrehaladtával folyamatosan emelkedett (60 éveseknél 10% és 80 év felett ~15–45%) [14, 15]. Egymással rokon kapcsolatban nem álló, 40–70 éves, hematológiai betegségben nem szenvedő 46 706 egyén (UK Biobank) vizsgálatok az L-CHIP gyakorisága az M-CHIP-hez viszonyítva alacsonyabbnak bizonyult (1,3% vs. 5,8%). A mCA L-CHIP-ben gyakoribb (0,8%), mint M-CHIP esetében (0,4%) [16].

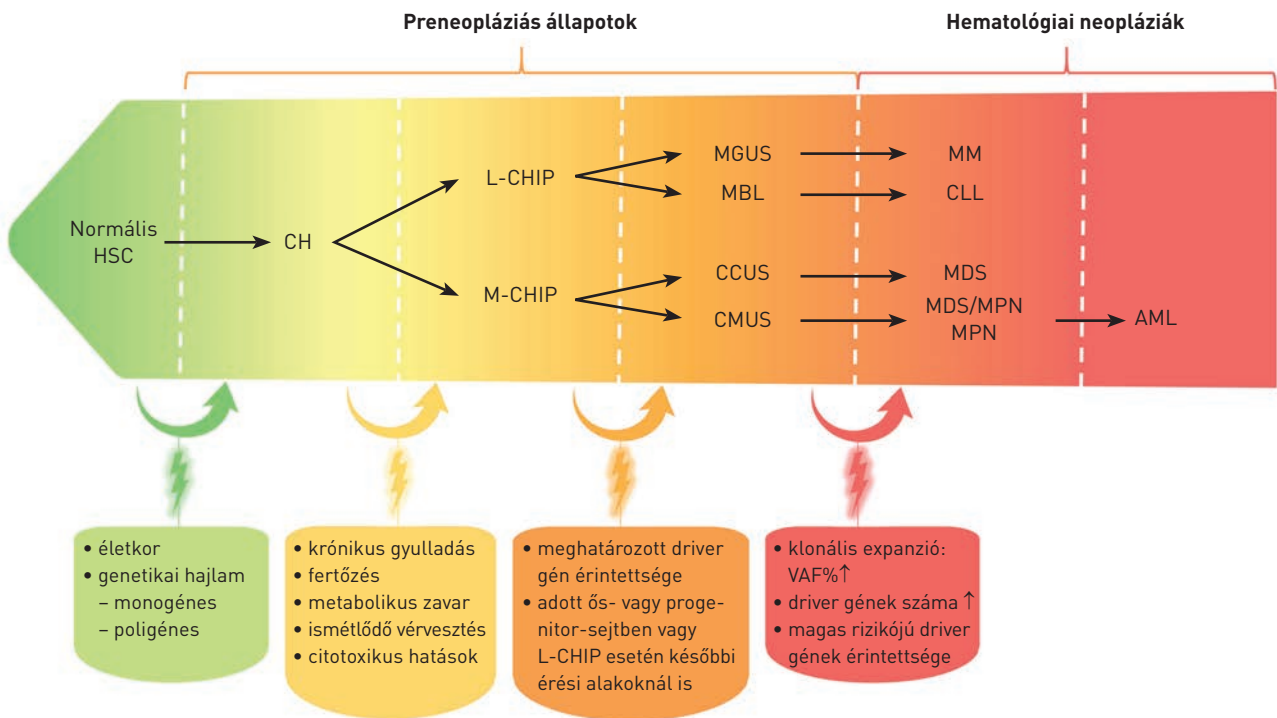
A CH előfordulási gyakorisága a kemoterápia előtt álló, szolid tumorban szenvedő betegeknél magasabbnak tűnik az átlagpopulációhoz képest (25–33% vs. ~10%) [10, 17]. Háttérben közös genetikai hajlam és stresszorhatások feltételezhetőek. A CH jelenléte szolid tumoros betegeknél összefüggésbe hozható az életkor előrehaladtával, a dohányzással és a sugárterápiával [10]. A korábbi kemoterápia típusa (pl. alkilálószerek, platinaalapú kemoterápiák, topoizomeráz-II-gátlók, taxánok, PARP-inhibitorok) és annak dózisa is összefüggést mutat a CH kialakulásával [18], főként a DDR-gének tekintetében [10, 19, 20]. A CH előfordulhat akár csak célzott terápiával kezelt, fiatal onkológiai betegeknél is [21].

A CH HATÁSA A SZOLID TUMOROK MOLEKULÁRIS PATOLÓGIAI VIZSGÁLATAIRA

A CH-ban előforduló mutációk részben átfedést mutatnak a szolid tumorokban onkológiai relevanciával bíró variánsokkal. A CH-ban jelen levő onkogén mutációk a vizsgált tumor álpozitív molekuláris patológiai eredményéhez, hatástalan célzott terápiás kezeléshez vezet, hiszen a kimutatott genetikai eltérés nincs jelen a tumorban, csak a vérésejtben. Fordított esetben a mutáció jelenléte téves hatástalanságot jelezhet és az onkológiai beteg emiatt nem kapja meg a számára megfelelő terápiát.

CH tumorszövet vizsgálatok

A tumorszövetet infiltráló hematopoetikus sejtek az esetek többségében alacsony számban vannak jelen, így a CH-eredetű VAF



1. ÁBRA. Klonális hematopoézissel [CH] jellemzett hematológiai neopláziák kialakulása pre malignus állapotokon keresztül. A „véletlenszerűen” bekövetkező szomatikus mutációk stresszorok hatására az érintett klónok expansziójához vezetnek. A >2% variánsallél-frekvenciával jelen levő (azaz a sejtek legalább 4%-át érintő) preneoplasztikus tünetmentes állapotot ismeretlen jelentőségű klonális hematopoézisnek (CHIP) nevezzük. További klonális expanszió bár még tünetmentes lehet, de egyszerű laboratóriumi vizsgálatokkal kimutathatóak. A többlépcsős patogenezisnek megfelelően onkogén mutációk akkumulációja eredményezi a preneoplázias állapotok átalakulását a WHO-definiált hematológiai malignitássá (HSC: hematopoetikus őssejt, CH: klonális hematopoézis, L-CHIP: limfoid eredetű CHIP, M-CHIP: mieloid eredetű CHIP, MGUS: ismeretlen jelentőségű monoklonális gammopátia, MBL: monoklonális B-sejtes limfocitózis, CCUS: ismeretlen jelentőségű klonális citopénia; CMUS: ismeretlen jelentőségű klonális monocitózis, MM: multiplex mielóma, CLL: krónikus limfoid leukémia, MDS: mielodiszplázia, MPN: mieloproliferatív neoplázia, AML: akut mieloid leukémia, VAF: variánsallél-frekvencia)

legtöbbször a kimutathatósági határ alatt található. Az alkalmazott módszer érzékenységétől függően a CH jelenléte a következőképp alakult tumorszövetek vizsgálatokor: egy 8810 fős betegcsoportban a CH-eredetű mutációk medián VAF-értéke a tumorszövetben 0,5%, míg a párhuzamosan vizsgált perifériás vérben 4,4% volt [10]; egy másik, 17 469 fős betegcsoport vizsgálatokor a tumorszövetben a medián VAF 4% és a vérmintában 16% volt. A tumor és a perifériás vérminta párhuzamos vizsgálatokor a betegek 5–8%-ánál legalább egy CH-val összefüggő mutációt tévesen daganatból származónak tulajdonítanak, ha csak a tumorszövet szekvenálása történik meg. Többféle szolid tumor (n=1757) multigén vizsgálatokor a CH-ban is érintett génekben az esetek 65%-ában találtak eltéréseket a tumormintában, a TP53 kivételével (35%). A DNMT3A-mutációk túlnyomó többsége (64%), míg a TP53-mutációk kisebb része (4%) származott CH-ból [22]. A CH miatt álpozitív tumoros esetek 0,1%-ánál (17/17 469) azonosítottak olyan génerintettséget, amely tumoreredetűnek diagnosztizálása potenciálisan terápiát befolyásolhatott volna 2018-ban [17].

CH sejtmentes szabad DNS vizsgálatokor

A liquid biopszia, azaz a plazma sejtmentes szabad DNS-ének (cfDNA) vizsgálata ígéretes, nem invazív alternatíva a szolid tumorok mintavételi nehézségeinek enyhítésére. A plazma-cfDNA eredete összetett: a vizsgált egyén különböző szöveteiből, terhesség esetén magzatból és fertőzések esetén kórokozókól is származhat. A keringő tumor-DNS (ctDNA) a cfDNA egyik összetevője, amely a cfDNA 0,1–10%-át is kiteheti a daganat típusától és kiterjedtségétől függően. Nemcsak a tumor alapító mutációi, de térbeli heterogenitás esetén a különböző rezisztenciamutációk is kimutathatóak egyetlen mintavétellel, távoli metasztázisokból. A cfDNA rövid felezési ideje miatt vizsgálata valós időben tükrözi a daganatsejtek mennyiségét: szintje drámaian csökken a tumor eltávolítása vagy hatékony kezelése után, emelkedő mennyisége pedig hónapokkal előre jelezheti a kiújulást [23].

A különböző szövetek hozzájárulása a plazma cfDNA-frakciójához eltérő, a vizsgálatok szerint a cfDNA akár 85%-a származhat hematopoézisből [24–26]. A szöveti eredet eloszlási arányát iszkémia, trauma, fertőzés vagy gyulladás, illetve

tumoros átalakulás befolyásolhatja. A klinikailag releváns mutációk cfDNS-ből végzett szűrések alacsony kimutathatósági határ (limit of detection, LOD) elérése a cél, mivel korai stádiumú tumorok esetén a cfDNS tumoreredetű frakciója gyakran 0,1% alatti. Lokalizált vastagbélrákban, cfDNS és fehérvérsejt mintapárok párhuzamos prospektív vizsgálata során a betegek 27%-ában találtak CHIP-mutációkat [27]. Fontos tudni, hogy a daganatos betegek csoportjában megfigyelt 25–33% CH-előfordulási gyakoriság a minták mérsékelt mélységű szekvenálásából származik (LOD: 2% VAF). Már egészséges egyének esetében is, 50–60 éves korra szinte univerzálisan kimutatható CH (medián VAF: 0,24%; n=19/20) [28]. Ultraszenzitív szekvenálási módszerek alkalmazásakor kimutatták, hogy a cfDNS-mutációk túlnyomó többsége CH-eredetű [81,6% kontroll vs. 53,2% metasztatikus rákbetegeknél] [20]. CH miatt álpozitív cfDNS-vizsgálati eredményt és ennek esetlegesen terápiát is befolyásoló hatását leírták nem kissejtes tüdőrákok (NSCLC) 0,9%-ában [29], valamint prosztatatarákok 10–14,6%-ában [13, 30].

Stratégiák a klonális hematopoézisből származó mutációk kiszűrésére

Bár a hematológiai tüneteket nem mutató populációban általában alacsonyabb variánsallél-frekvenciájú CH-variánsokkal találkozhatunk, onkológiai betegek esetében nem ritka a terápia következtében kialakult CH, magasabb VAF%-kal, amelyhez akár ismeretlen jelentőségű klonális citopénia (CCUS) vagy mielodiszplázia (MDS) társulhat. A mieloid neopláziák WHO-klasszifikációjának 5. kiadásában a leggyakrabban érintett 55 gén esetében definiálták, hogy a gének mely mutációi tekinthetők hematopoetikus drivernek [3]. Szolid tumorokban a legtöbb driver onkogén nem érintett a hematopoézisben. *KRAS*-mutációk előfordulnak CH-ban, de incidenciájuk hematológiai eltérést nem mutató egyéneknél alacsony (0,02%, 8/46 706 UK Biobank résztvevőből). CRC vagy tüdőrák esetében a kimutatott *KRAS*-mutáció jóval nagyobb eséllyel tumoreredetű, mint CH-ból származó pozitivitás. A CH diagnosztikai nehézséget okozhat a szolid tumorokban és a hematológiai malignitásokban egyaránt gyakran előforduló mutációk esetében (pl. *DDR*-gének). A hematopoézis szabályozásában részt vevő gének mutációjakor (pl. *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*, *JAK2*, *IDH2*) a CH nagyobb valószínűségű, mint a tumorszöveti eredet [31, 32].

A perifériás vérmintából izolált genomiális DNS-minta párhuzamos szekvenálásával a CH-ból származó álpozitív eredmények felismerhetőek. Ennek érdekében a plazma-cfDNS vizsgálatok a tumorszövet párhuzamos vizsgálata is javasolt, így a „biológiai zaj”, amely a CH-ból származik, kiszűrhető [20, 22, 33]. A párhuzamos vizsgálatok a tumorszövetben vagy cfDNS-mintában azonosított mutációra célzottan, más érzékeny módszerrel is elvégezhetőek (pl. digitális PCR, kvantitatív PCR). A cfDNS vizsgálatok a perifériás vér genomiális DNS-ét hasonló érzékenységgű módszerrel kell vizsgálni, mert ennek hiányában gyakori

a tévesen álpozitív eredmény (pl. *TP53*) [20]. Az irodalomban közölt vizsgálatok többsége és az Európai Klinikai Onkológiai Társaság (European Society for Medical Oncology, ESMO) egyaránt javasolja a párhuzamos vizsgálatokat. Általában a plazma-cfDNS-vizsgálatra érkező minták buffy coatja rutinszerűen eltávolítható, hogy szükség esetén rendelkezésre álljon anyag a CH kizárásához. Jelenleg a kereskedelmi forgalomban kapható tesztek túlnyomó többsége kizárólag plazma-cfDNS-t elemez költséghatékonysági szempontok miatt. Fontos, hogy a leleten jelezze a laboratórium a párhuzamos minták eltéréseinek az okait: „csak tumorszövet” vagy „csak cfDNS” vizsgálatok esetén az álpozitív és álnegatív teszteredmények lehetőségét fel kell tüntetni [31]. Az alacsony variánsallél-frekvencia önmagában nem utal a CH-ra: mind a tumoros eredetű, mind a CH-eredetű variánsok jelen lehetnek alacsony allélfrekvenciával. A perifériás vérmintában magasabb variánsallél-frekvenciával jelen levő genetikai variáns CH lehetőségére utal, ezért a VAF% értéket a klinikai leleteken fel kell tüntetni. A beteg klinikai előzményeinek és egyéb laboratóriumi eredményeinek figyelembevétele segíthet a mutációk forrásának meghatározásában. A modern technológiai fejlesztések segíteni fogják a későbbiekben az ultraszenzitív szekvenálás alkalmazásakor óhatatlanul felmerülő magas álpozitívarány kiküszöbölésében (unique molecular identifier, bioinformatikai algoritmusok, mesterséges intelligencia). Leírtak már olyan működő modellt is [4324 onkológiai mintát felhasználva], amely segítségével a CH-státusz kimutatható kizárólag cfDNS szekvenálásával [34].

Célzott terápiákat befolyásoló CH-eltérések konkrét példákkal

KRAS/NRAS

A *KRAS/NRAS* gének aktiváló, onkogén pontmutációi (főként a 12-es, 13-as kodont érintve) a MAPK/ERK útvonalon keresztül szabályozatlan jelátvitelt eredményezhetnek, számos daganatos megbetegedésben előfordulnak. A *KRAS*-és *NRAS*-mutáció jelenléte az érintett kodontól függően befolyásolja a célzott terápiát [1. táblázat]. A *KRAS* p.G12C mutációt hordozó betegek esetében az orális *KRAS* G12C inhibitorok (szotoraszib, adagraszib) adhatóak CRC-ben, NSCLC-ben, hasnyálmirigy-adenokarcinómában és kolangiokarcinómában [32]. Vastagbélrákban az EGFR-gátlókkal (panitumumab, cetuximab) együtt csak akkor javasolt a szotoraszib és adagraszib inhibitorok adása, amennyiben a *KRAS* G12C mutációról van szó. A *KRAS/NRAS* mutációk előfordulási gyakorisága CHIP-ben 0,01–0,02%, míg malignus hematológiai betegségekben emelkedik a gyakoriságuk [1. táblázat], egyes, ritkábban előforduló hematológiai malignitás alcsoportjaiban akár 10–20% is lehet.

Metasztatikus CRC-ben (mCRC) a *KRAS*-mutációk előfordulási gyakorisága magas (~40%). Amennyiben a *KRAS/NRAS* mutációk CH-eredetűek, a betegek eleshetnek bizonyos célzott terápiáktól (pl. cetuximab, panitumumab). A 17 469

beteg adatát és 69 daganattípust elemző tanulmányban *KRAS* p.G12R mutációt azonosítottak egy idős, CRC-ben szenvedő betegnél, amely esetében a perifériás vér (VAF=8,7%) és a párhuzamos tumorminta (VAF=4,1%) CH eredetet feltételezett. További, egyéb tumorban szenvedő betegek esetében 4 olyan *KRAS/NRAS* mutációt találtak, melyekhez CH eredetet társítottak [17]. Az mCRC-ben szenvedő betegek plazma *KRAS, NRAS* cfDNS vizsgálatakor CH-eredetű *KRAS*-mutációt az esetek 1,3%-ában (3/236) azonosítottak. Az alacsony variánsallél-frekvenciájú és a korábban kemoterápiát kapott cfDNS-positív betegeknél javasolják a teljes vérminta párhuzamos, célzott mutációvizsgálatát is, mivel ezekben az alcsoportokban igazolódott CH a mutációpozitivitás hátterében [35]. A klonális evolúció dinamikus természetét vizsgálva CRC-ben a *KRAS*-mutáns klónok szintjének ingadozását figyelték meg az EGFR-gátló antitest-terápiára adott válaszként. A *KRAS*-mutáns klónok mennyisége csökkent az EGFR-gátló terápia megvonása után, melyek ezután újra érzékennyé váltak anti-EGFR antitest-terápiára („rechallenge”). A szerzők nem térnek ki az esetlegesen CH eredményként létrejött *RAS*-mutációkra [36].

NSCLC-ben a *KRAS* az egyik leggyakrabban érintett gén, a betegek körülbelül 25%-a hordoz *KRAS*-mutációt. Beszámoltak CH-eredetű „álpozitív” cfDNS-eredményekről NSCLC-ben is: 221 eset szűrésekor digitális PCR-rel két esetben (0,9%) azonosítottak *EGFR* és *KRAS* driver mutációkat egyaránt hordozó betegeket, mely során a *KRAS* p.G12X mutáció hematopoetikus eredete igazolódott [29].

Homológ rekombinációs repair gének (BRCA1/2, ATM, CHEK2)

A *BRCA1/2, ATM* és *CHEK2* gének a homológ rekombinációs repair (HRR) apparátus részei és a DNS-kettősszál-törés javításában töltenek be fontos szerepet. A CH-eredetű genetikai eltérések bizonyítása fontos, mert az álpozitív eredmények a célzott terápia hatástalanságához vezethetnek [32]. A UK Biobank adataiban összesen 2 CH-eredetű *BRCA1*-mutációt találtak a 46 706 vizsgált egyénben, míg *BRCA2*-mutációról nem számoltak be. A *BRCA1/2* és *CHEK2* mutációk prevalenciája hematológiai malignitásokban 1% alatti [1. táblázat]. A négy HRR-gén közül az *ATM* gyakorisága a legmagasabb CH-ban, CHIP-ben 0,03%, míg CLL-ben elérheti a 13%-ot is [1. táblázat].

Az ESMO ajánlása szerint a célzott poli (ADP-ribóz) polimeráz (PARP) inhibitor terápia (pl. olaparib, rukaparib) lehetősége miatt az emlő-, ovárium- és pankreásdaganatokban javasolt a *BRCA1/2* génmutáció szűrése, prosztata-daganatokban pedig az *ATM* gén státuszának vizsgálata is. A célzott kezelést a *CHEK2*-mutációk jelenléte valószínűleg nem befolyásolja, mivel a legújabb eredmények arra utalnak, hogy a PARP-inhibitorok által kiváltott szintetikus letalitás a *CHEK2*-positív betegek esetében nem érvényesül [37]. Nagy esetszámon, 17 469 fős onkológiai betegcsoporton, egy hasnyálmirigy-daganattal diagnosztizált betegen

azonosítottak funkcióvesztéssel járó *BRCA2*- (VAF=12%) mutációt, ami párosított vérminta hiányában PARP-inhibitor-terápia alkalmazására adhatott volna indokot [17]. Érdekes módon, metasztatikus prosztatarákban szenvedő betegekben a CH-eredetű HRR-gének mutációinak gyakorisága magasabb, a betegcsoport 10%-át érintette, többségük az *ATM* génben volt. Elképzelhető, hogy a csak plazma-cfDNS-tesztelésen alapuló PARPi klinikai vizsgálatokba CH miatt álpozitív *ATM*-érintettségű beteget soroltak be. Ez magyarázatot adhat a PARPi limitált hatékonyságára *ATM*-positív betegeken [13].

IDH1/2

A UK Biobank adatai szerint az izocitrát-dehidrogenáz (*IDH2*) mutációk kis hányada CH-eredetű (0,01%) [16]. Hematológiai malignitásokban 3–20% az *IDH1/2* mutációk prevalenciája, kolangiokarcinómában 8–18% [1. táblázat]. Más tumorokban (pl. hasnyálmirigy, NSCLC, melanóma) is leírtak *IDH1/2* génmutációkat, ezek azonban nagy valószínűséggel hematopoetikus eredetűek, amit a párhuzamos vérmintában detektált magasabb VAF igazolt [17].

TP53

A *TP53* gén mutációinak gyakorisága CHIP-ben 0,11%, malignus hematológiai rendellenességekben 10–15% [1. táblázat]. Az NSCLC kezelésében gyakran tapasztalható rezisztencia jelentős részben a *TP53* gén mutációinak tulajdonítható. A ciszplatin, amely az NSCLC első vonalbeli kezelési lehetősége, hozzájárulhat a kemorezisztenciához, így *TP53*-mutáns klónok felszaporodásához. Plazma-cfDNS-mintákból kimutatott *TP53*-mutációk igen magas arányban valószínűleg CH-eredetűek: 33 plazma, tumor, illetve perifériás vér eredetű mintapár összehasonlítása során csupán 14 *TP53*-mutációról sikerült beazonosítani, hogy szolid tumorból származnak. Öt olyan *TP53*-mutációt azonosítottak, melyeket a tumor-NGS nem detektált [29].

Bár jelenleg szolid tumorok esetén nincs *TP53*-mutációkor célzott terápia, ígéretes fejlesztések történtek. Az eprenetapopt nevű, kis molekulatömegű hatóanyag a mutáns p53 fehérje tumorszuppresszor funkcióját képes helyreállítani és főként a magas evolutionary action score értékű (EAp53) missense mutációknál várható hatás [38]. *TP53*-tól független útvonalon ható célzott kezelés hatékonynak bizonyulhat *TP53*-pozitivitás esetén, például Bruton-tirozinkináz-inhibitor, ibrutinib krónikus limfoid leukémiában [39].

CH HATÁSA A HUMÁNGENETIKAI VIZSGÁLATOKRA

Mivel a CH-ban érintett gének átfedést mutatnak a hereditér rákszindrómákért (HM) felelős génekkel, az örökletes genetikai eltérések kimutatására használt, perifériás vérből végzett vizsgálat álpozitív eredményt adhat CH esetén. Az onkológiai terápiais döntéshozatal a csíravonal-mutációs státuszon is alapulhat, ezért alapvető, hogy a csíravonalas genetikai variánsok elkülöníthetők legyenek a szomatikus

CH okozta genetikai variánsoktól. A csírvonalas patogén variánsok klinikailag jelentős kockázatot hordozhatnak a jövőbeli tumorkialakulására, és potenciálisan jelen lehetnek más családtagokban is.

Csírvonalas variánsok azonosítására az Amerikai Orvosi Genetikai és Genomikai Kollégium (ACMG) klasszifikáció irányelvei, illetve az ESMO adnak iránymutatást [40]. A HM-gének CH-érintettsége az átlagpopulációban ritka, de előfordulhat. A valószínűleg szomatikus variánsok (VAF: 10–30%) aránya 25, illetve 28 HM-gén vizsgálatakor 0,06% [137/222 098] – 0,22% [753/348 853] [41, 42]. A CH jelenségére utalt a tanulmányokban az idősebb életkor és a korábbi malignitás diagnózisa. A valószínűleg szomatikus mutációk mindkét tanulmányban leggyakrabban a DDR-génekben fordultak elő (*TP53*, *CHEK2* és *ATM*). A három gén patogén vagy valószínűleg patogén (P/LP) variánsai UK Biobank vizsgálatában is 0,15%-nak adódtak [70/46 706] [16]. A fennmaradó HM-gének esetében igen ritka volt a CH, de a fentebb említett három közlemény bemutatott *BRCA1*, *BRCA2* vagy *APC* CH-eseteket is.

Hematológiai malignus betegség hiányában a CH VAF% értéke általában alacsony, ezért elkülöníthető a HM-től. Kemo- és sugárterápia után a CH valószínűsége megemelkedik. Az azonosított CHIP-variánsok mindössze 5,5%-ában ($n=198/3591$) haladja meg a VAF értéke a 30%-ot [16], ez MDS esetén az azonosított variánsok 61,5%-át jelenti ($n=9648/15 685$) [43]. Egyes gének érintettségét VAF>30% értékkel CHIP-ben, illetve hematológiai malignitásokban a 2. táblázatban foglaltuk össze, bemutatva, hogy kemoterápia után, citopéniás betegnél nagyobb gyakoriságú az adott gének érintettsége, mint az átlagpopulációban.

Napjainkban a tumorszövetben azonosított, potenciálisan hereditér genetikai variánsokat genetikai tanácsadást követően megerősítik a perifériás vérminta vizsgálatával. A CH a csírvonalas *TP53*, azaz a Li-Fraumeni szindróma (LFS) diagnosztikájában okozhatja a legtöbb problémát. Az NGS elterjedésével egyre több LFS Chompret-kritériumokat nem teljesítő betegeknél azonosítható VAF~50% *TP53* P/LP variáns. Ennek hátterében felmerülhet alacsonyabb penetranciájú [44] vagy *de novo TP53*-variáns [45]. A CH lehetőségét már számos korábbi publikáció felvetette [41, 42, 46]. Tünetmentes CH-ban a *TP53*-variánsok előfordulási gyakorisága 0,1%, míg hematológiai malignitásokban 10%. Citotoxikus kezelések hatására bekövetkezett terápiaasszociált mieloid neopláziában (t-MN-ben) a *TP53* a leggyakrabban érintett gén, előfordulása 21–38%. CHIP-ben a *TP53*-variánsok 6%-a éri el a 30%-os VAF-ot, de hematológiai malignitásokban már az esetek 50–80%-a meghaladja ezt az értéket. Az *ATM* gén érintettsége 0,03% az átlagpopulációban, amelynek gyakorisága monoklonális B-limfocitózisban (MBL) és krónikus limfoid leukémiában (CLL) 10%-ra emelkedik. Az *ATM*-mutáns klón mérete CHIP-ben az esetek 7%-ában, míg a CLL-es betegeknél az esetek 50%-ában haladja meg a valószínűleg szomatikus határértéket. A *BRCA1/BRCA2* VAF>30%,

CH-eredetű szomatikus mutációinak nagyon kicsi az esélye (1., 2. táblázat).

Genomikai adatok kiértékelésekor figyelembe kell venni, hogy a populációs adatbázisok kizárják a ritka veleszületett rendellenességekkel küzdők mintáit, de tartalmazzák az időskori CH-val rendelkező egyének genetikai variánsait. A CH miatt egyes variánsok populációs gyakoriságát túlbecsülik a variánsklasszifikációt végző algoritmusok [47].

A csírvonalas meghatározásokat a CH elenyészően kevés esetben befolyásolhatja (0,06–0,22%), de az onkológiai betegellátás során klonális hematológiai betegségben szenvedő betegek is megfordulhatnak, ahol már a CH magas VAF-értéke az esetek jóval nagyobb százalékában zavarhatja a humángenetikai vizsgálatokat. Ezeket az eredményeket alternatív, hematopoetikus sejtektől mentes mintavételi források alkalmazásával (fibroblasztcultúra, hajhagyma) lehet megerősíteni.

A CH KLINIKAI JELENTŐSÉGE SZOLID TUMORBAN SZENVEDŐ BETEGEKNÉL

Metaanalízisek igazolták, hogy populációs szűrés során azonosított CHIP jelenléte 2024-ben már nem tekinthető ismeretlen jelentőségűnek: összefüggést mutat a bármely okból bekövetkező halálalossal, kardiovaszkuláris eseményekkel (iszkiás szívbetegség, szívelégtelenség, stroke), hematológiai malignitás kialakulásával és fertőzések, pl. Covid-19 kimenetelével [48]. Érdekes módon csak az M-CHIP klónok társultak magasabb mortalitással, iszkiás szívbetegséggel, az L-CHIP-eredetűek nem. Mind a mieloid, mind a limfoid mCA jelenléte emelkedett mortalitással jár [16].

CH szövődményei szolid tumoros betegeknél

CH jelenlétében az onkológiai betegek kedvezőtlenebb összesített túlélést (OS) mutattak, mint a CH-negatív, hasonlóan kezelt betegek [$n=5649$ szolid tumor [10]; $n=414$ NSCLC [49]]. Bár a hematológiai malignitások esélye emelkedik CH esetén [50], önmagában ez nem vezethet ekkora mortalitásemelkedéshez. A WHO-definiált hematológiai malignitások száma alacsony a tanulmányokban. Az M-CHIP/mCA jelenléte a mieloid, míg az L-CHIP/mCA a limfoid malignitások esélyét emeli. A UK Biobank több mint 400 000 résztvevő adatai alapján CHIP/CCUS-ban ($n=27 611$) a mieloid neopláziák 2%-os kumulatív incidenciáját írta le 11 év alatt. A hematológiai malignitás kialakulásának esélye klinikai és laboratóriumi adatok (életkor, vérképparaméterek) és genetikai változók (érintett gének, mutációk száma és VAF) figyelembevételével mára megbecsülhető. Ezek alapján az alacsony (88,4%), közepes (10,5%) és magas kockázatú (1,1%) csoportokban a mieloid neopláziák 10 éves kumulatív incidenciája $0,7\pm 0,1\%$, $7,8\pm 0,8\%$, illetve $52,2\pm 5,0\%$. A CH-rizikópontszám kiszámolásával a magas rizikójú csoportba tartozó betegek korán azonosíthatóak [51]. Hasonló, klinikai és genetikai adatokon alapuló prognosztikai modellt (IPSS-Molecular: IPSS-M) dolgoztak ki MDS-betegeknél

2. TÁBLÁZAT. Klonális hematopoézis hereditár variánsok kikutatását befolyásoló hatása génekenként szemléltetve

Gén	CHIP (n=46706)		MDS (n=3323)		AML (n=805)		CLL (n=1148)		Génhez kapcsolt örökletes betegség OMIM (öröklésmenet)
	mutációk száma	VAF >30%	mutációk száma	VAF >30%	mutációk száma	VAF >30%	mutációk száma	VAF >30%	
<i>DNMT3A</i>	1827	4%	612	49%	211	80%	2	0%	Tatton-Brown-Rahman-sz. (AD)
<i>TET2</i>	510	8%	1699	61%	161	88%	3	33%	HM?, immundeficiencia 75 (AR)
<i>ASXL1</i>	201	15%	1029	64%	98	55%	11	45%	Bohring-Opitz-sz. (AD)
<i>TP53*</i>	50	6%	510	56%	100	85%	121	54%	HM + HHM: Li-Fraumeni-sz. (AD)
<i>PPM1D</i>	47	11%	78	37%	3	33%	5	20%	Jansen-de Vries-sz. (AD)
<i>SRSF2</i>	34	18%	585	79%	109	78%	1	0%	-
<i>SF3B1</i>	28	0%	796	60%	49	82%	202	41%	-
<i>JAK2</i>	23	22%	139	53%	36	81%	2	0%	trombocitémia 3 (AD)
<i>ATM</i>	15	7%	NA	NA	5	40%	155	48%	HM + HHM (emlőrákhajlam AD, ataxia teleangiectasia AR)
<i>NF1</i>	14	0%	233	43%	30	47%	6	67%	HM + HHM (neurofibromatózis, AD)
<i>RUNX1</i>	14	7%	588	44%	125	82%	NA	NA	HHM (trombocitazavar MN-hajlammal AD)
<i>KRAS</i>	8	0%	138	33%	44	45%	28	21%	HM + HHM (Noonan-sz. 3, AD)
<i>CHEK2</i>	5	0%	14	79%	NA	NA	5	60%	HM + HHM (AD)
<i>ETV6</i>	4	50%	94	50%	11	45%	2	0%	HHM (trombocitopénia 5, AD)
<i>NRAS</i>	4	0%	207	33%	120	58%	16	6%	HM + HHM (Noonan-sz. 6, AD)
<i>GATA2</i>	3	0%	68	59%	45	64%	NA	NA	HHM (leukémiahajlam, immundeficiencia 21, AD)
<i>RBT*</i>	2	0%	41	85%	NA	NA	10	40%	HM (+ HHM) retinoblastóma, AD)
<i>PTEN*</i>	1	0%	7	57%	2	0%	1	100%	HM (Cowden-sz. 1, AD)
<i>PTPN11</i>	1	100%	100	27%	45	56%	13	15%	HM + HHM (Noonan-sz. 1, AD)
<i>CEBPA</i>	1	0%	108	44%	61	66%	1	0%	HHM (AML-hajlam, AD)
<i>BRCA1/2*</i>	2	0%	NA	NA	1	100%	10	62%	HM (+ HHM) (AD)

Klonális hematopoézisben érintett gének kóroki genetikai variánsait hordozó személyek száma preneoplázias állapotban és különböző, WHO-definiált hematológiai neopláziákban. Az azonosított esetszámok mellett feltüntetjük azon személyek százalékos arányát, akiknél a variánsallél-frekvencia meghaladja a valószínűleg szomatikus besorolás határát, azaz a 30%-ot (VAF>30%). Irodalmi adatok alapján VAF>30% esetén csírvonal-eredetű mutáció valószínűsíthető és a klonális hematopoézis esetén a csírvonal-eredetű genetikai variánsok igazolására további mintavétel szükséges (pl. hajhagyma). A táblázatban feltüntetésre került néhány hereditár rákhajlamszindróma géne is, ahol a klonális hematopoézis által okozott téves eredmény felesleges szűrővizsgálatokat indikálna az azonosított személynél és családjánál.

A *-al jelelt gének szerepelnek az ACMG másodlagos találatok aktuális listájában (SF v3.2) [60]. A gének által okozott örökletes betegségek, szolid tumorokat okozó hajlam (HM), hereditár hematológiai malignitás hajlam (HHM), illetve ezek társulásai a táblázat utolsó oszlopában találhatóak.

ACMG: Amerikai Orvosi Genetikai és Genomikai Kollégium; AD: autoszomális domináns; AR: autoszomális recesszív; HM: hereditár malignitás, HHM: hematopoetikus hereditár malignitás, NA: nincs adat; OMIM: Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders; VAF: variánsallél-frekvencia, sz.: szindróma

a leukémiás transzformáció és az összesített túlélés becslésére [43]. A kemo- vagy sugárterápiát követő mielodiszpláziára vagy akut mieloid leukémiára (t-MN) specifikus genetikai eltérések és kedvezőtlen prognózis jellemző. Míg *de novo* AML-ben csak az esetek 5–10%-a hordoz *TP53*-mutációt, t-AML-ben ez 30–40% gyakoriságú. Kezelt szolid tumoros betegeknel, akiknél t-AML alakult ki, a CHIP előfordulása jelentősen magasabb a t-AML nélküli, de egyébként hasonló primer tumoros betegekhez képest. Onkológiai betegeknel t-MN-be transzformálódó CHIP-ben leggyakrabban *TP53*-, *PPM1D*-mutációk fordulnak elő [10, 18, 50]. Hasonló folyamatokat azonosítottak PARPi-kezelés során [52]. A citotoxikus terápiák után kialakuló CCUS (t-CCUS) esetén 30% t-MN transzformációs arányt találtak. *TP53* gén érintettsége és citogenetikai eltérés jelenléte összefüggésbe hozható a t-MN kialakulásának nagyobb valószínűségével és kedvezőtlenebb túléléssel. Onkológiai ambulanciákon rendszeres vérképvizsgálatokkal a t-MN-veszélynek kitett betegek hamar kiszűrhetők [53].

A szekunder mieloid neopláziákon kívül kardiovaszkuláris komplikációk is csökkentik a gyógyult rákbetegek várható élettartamát [14, 18, 54]. Nemcsak a *DNMT3A*-, *TET2*- és *ASXL1*-mutációval rendelkező CHIP esetében figyelték meg a kardiovaszkuláris rizikó emelkedését, hanem a *TP53/PPM1D* CHIP esetében is [54]. A CHIP-mutációkat hordozó mieloid sejtek fokozott interleukin- (IL-1 β -, IL-6-) termelése fenntartja a krónikus gyulladást [34], hozzájárul az ateroszklerózis progressziójához, növelve a kardiovaszkuláris morbiditást és mortalitást. Az M-CHIP jelenléte fokozhatja az antraciklininterápia kardiotoxikus hatásait, a gyulladáshoz mediátorok és neutrofil granulociták szívizomszövetbe történő megnövekedett beáramlása által [55, 56].

Korai intervenciók lehetőségei incidentális vagy szekunder CHIP találatok esetén

A preneopláziás CHIP felismerése és kezelése a kardiológiai szövődmények, a hematológiai és egyéb malignitások megelőzése érdekében észszerű lépés. Egyes klinikák ajánlásai alapján a tumoros páciensek 40–50%-át szűrni kellene CHIP-re. A Mayo Clinic ajánlásai alapján a következő esetekben javasolható a „CHIP-Klinikán” való ellátás: CHIP-mutációpanel-, teljesexom- vagy teljesgenom-, cfDNS-szekvenálásakor, HM-vizsgálat mozaikos eredményekkor, tartós, megmagyarázhatatlan citopénia, autológ HSCT, radioimmunoterápia, kiméra antigénreceptor-T-sejt, PARPi-terápia előtt. A CHIP-szűrés fontos, ha a kezelés haszna nem egyértelmű és az alternatív gyógyszerek elérhetőségének kontextusában mérlegelni lehet szükségességét a t-MN kockázatával szemben [57]. Más klinikák (pl. Memorial Sloan Kettering Cancer Center) még nem tartják szükségesnek a CHIP-szűrést kezelési irányelv hiányában. Kutatások folynak betegcsoportok azonosítására, ahol a kardiovaszkuláris és a t-MN-szövődmények megelőzhetők (pl. *IDH1/2* gátlószerek, C-vitamin, anti-IL-1 β , sztatinek és a metformin adásával) [57]. A *JAK2*-mutáció-pozitív

betegek antiaggregációs kezelésével az életet veszélyeztető trombotikus események megelőzhetők.

A CH kimutatása egyre gyakoribbá válik a szomatikus és csíravonalas NGS-tesztelés széleskörű alkalmazása miatt. A klinikai adatok arra utalnak, hogy a korábban ismeretlen jelentőségűnek tartott CH is klinikai következményekkel jár. Rizikófelméressel elkülöníthető a betegek azon 1–5%-a, akik különösen veszélyeztetettek mieloid neoplázia kialakulásának szempontjából [51]. A magas rizikójú csoportokban a hematológiai kivizsgálás elmulasztása a beteg életkilátásait veszélyeztetheti, emiatt a CHIP-betegek megfigyelése javasolható 3–6 havonkénti vérképkontrollal, szükség esetén hematológus bevonásával. Mivel a CHIP-mutációk jelenléte magas kardiovaszkuláris rizikófaktort is képez, minden onkológiai betegnél javasolt az egyéb rizikófaktorok felmérése (diabétesz, hiperkoleszterinémia, dohányzás, hipertónia, obesitás) és a szükséges preventív beavatkozások bevezetése.

ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen irodalmi áttekintésünk a molekuláris patológiai és a klinikai laboratóriumi diagnosztika határterületeit fessegeti, ahol a hematológiai malignitások és a szolid tumorok, valamint a szerzett és az örökletes genetikai eltérések diagnosztikája összefonódik. Klonális hematopoézis jelenlétében a leletek eredményeinek az interpretációja a látzólag elkülönülő szakterületek együttes ismerete nélkül baktatókat tartalmaz.

Az egyénre szabott prognosztikai besorolás és a célzott terápiák alkalmazása egyre inkább beépül az onkológiai betegellátásba. Ennek alapjául szolgál a tumorszövetből vagy a cfDNS-ből végzett molekuláris patológiai diagnosztika. A megfelelő interpretációhoz nélkülözhetetlen, hogy a vizsgálat valóban a szolid tumorban lévő szomatikus mutációkat azonosítsa. CH esetében a tumormintákban lévő leukociták vagy a plazma-cfDNS hematopoézis-eredetű frakciójának szekvenálása a mutáció eredetének téves azonosításához vezethet. A jelenlegi adatok arra utalnak, hogy a CH vizsgálatokat befolyásoló hatása nem elhanyagolhatóan alacsony, idősebb életkorban vagy citotoxikus kezeléseknél köszönhetően fiatalabbakban is jelen lehet hematológiai eltérések nélkül is. A tumorminta szekvenálásakor a párosított vérminták vizsgálata nélkül óvatosan kell eljárni az eredmények értelmezésekor: egyes gének esetében a mutáció a szolid tumorból vagy CH-ből egyaránt származhat. A CH olyan géneket érinthet, amely a tumor kezelési ajánlásait befolyásolhatja. Ha a CH felismerése elmarad, az téves kezelési ajánlásokhoz vezethet a beteg esetében. Szerencsére ezen esetek száma jelenleg alacsony, de a genetikai eltéréshez kapcsolt célzott terápiák terjedésével arányuk várhatóan emelkedni fog. Az örökletes betegségek diagnosztikáját a CH jelenléte szintén befolyásolhatja, téves szűrővizsgálatok és családvizsgálatok indikálásával.

Fontos, hogy a laboratóriumból kiadott lelet tájékoztasson a CH-ből származó téves eredmény lehetőségéről és szükség

esetén a vizsgálat többféle mintatípusból is megtörténjen. A CH felismerése nemcsak diagnosztikai probléma, jelenléte onkológiai betegeknek egy olyan, kardiovaszkuláris és terápiasszociált hematológiai malignitás szempontból magas rizikójú csoportot azonosít, akiknél rendszeresebb követés és megelőző intézkedések szükségesek.

Anyagi támogatás: A Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, TKP2021-EGA-08 számú projekt a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a „Tématerületi Kiválósági Program 2021” pályázati program, a Semmelweis Egyetem, Transzfuziológiai Tanszék Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K135757 számú pályázat támogatásával valósult meg.

IRODALOM

- Osorio FG, Rosendahl Huber A, Oka R, et al: Somatic mutations reveal lineage relationships and age-related mutagenesis in human hematopoiesis. *Cell Rep* 25:2308-2316.e4, 2018
- Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al: The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 36:1720-1748, 2022
- Khoury JD, Solary E, Abla O, et al: The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* 36:1703-1719, 2022
- Mitchell E, Spencer Chapman M, Williams N, et al: Clonal dynamics of haematopoiesis across the human lifespan. *Nature* 606:343-350, 2022
- Hormaechea-Agulla D, Matatall KA, Le DT, et al: Chronic infection drives Dnmt3a-loss-of-function clonal hematopoiesis via IFN γ signaling. *Cell Stem Cell* 28:1428-1442.e6, 2021
- Fuster JJ, Zuriaga MA, Zorita V, et al: TET2-loss-of-function-driven clonal hematopoiesis exacerbates experimental insulin resistance in aging and obesity. *Cell Rep* 33:108326, 2020
- Tobias DK, Manning AK, Wessel J, et al: Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) and incident type 2 diabetes risk. *Diabetes Care* 46:1978-1985, 2023
- Kar SP, Quiros PM, Gu M, et al: Genome-wide analyses of 200,453 individuals yield new insights into the causes and consequences of clonal hematopoiesis. *Nat Genet* 54:1155-1166, 2022
- Schwartz JR, Ma J, Kamens J, et al: The acquisition of molecular drivers in pediatric therapy-related myeloid neoplasms. *Nat Commun* 12:985, 2021
- Coombs CC, Zehir A, Devlin SM, et al: Therapy-related clonal hematopoiesis in patients with non-hematologic cancers is common and associated with adverse clinical outcomes. *Cell Stem Cell* 21:374-382 e4, 2017
- Swisher EM, Harrell MI, Norquist BM, et al: Somatic mosaic mutations in PPM1D and TP53 in the blood of women with ovarian carcinoma. *JAMA Oncol* 2:370-272, 2016
- Dudgeon C, Shreeram S, Tanoue K, et al: Genetic variants and mutations of PPM1D control the response to DNA damage. *Cell Cycle* 12:2656-2664, 2013
- Jensen K, Konnick EQ, Schweizer MT, et al: Association of clonal hematopoiesis in DNA repair genes with prostate cancer plasma cell-free DNA testing interference. *JAMA Oncol* 7:107-110, 2021
- Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al: Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *New Engl J Med* 371:2488-2498, 2014
- Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al: Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *New Engl J Med* 371:2477-2487, 2014
- Niroula A, Sekar A, Murakami MA, et al: Distinction of lymphoid and myeloid clonal hematopoiesis. *Nat Med* 27:1921-1927, 2021
- Ptashkin RN, Mandelker DL, Coombs CC, et al: Prevalence of clonal hematopoiesis mutations in tumor-only clinical genomic profiling of solid tumors. *JAMA Oncol* 4:1589-1593, 2018
- Olszewski AJ, Chorzałska AD, Kim AS, et al: Clonal haematopoiesis of indeterminate potential among cancer survivors exposed to myelotoxic chemotherapy. *Br J Haematol* 186:e31-e35, 2019
- Bolton KL, Ptashkin RN, Gao T, et al: Cancer therapy shapes the fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Nat Genet* 52:1219-1226, 2020
- Razavi P, Li BT, Brown DN, et al: High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants. *Nat Med* 25:1928-1937, 2019
- Bobin C, Iddir Y, Butterworth C, et al: Sequential analysis of cfDNA reveals clonal evolution in patients with neuroblastoma receiving ALK-targeted therapy. *Clin Cancer Res* 30:3316-3328, 2024
- Coombs CC, Gillis NK, Tan X, et al: Identification of clonal hematopoiesis mutations in solid tumor patients undergoing unpaired next-generation sequencing assays. *Clin Cancer Res* 24:5918-5924, 2018
- Arisi MF, Dotan E, Fernandez SV: Circulating tumor DNA in precision oncology and its applications in colorectal cancer. *Int J Mol Sci* 23:4441, 2022
- Moss J, Magenheimer J, Neiman D, et al: Comprehensive human cell-type methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. *Nat Commun* 9:5068, 2018
- Snyder MW, Kircher M, Hill AJ, et al: Cell-free DNA comprises an in vivo nucleosome footprint that informs its tissues-of-origin. *Cell* 164:57-68, 2016
- Lui YY, Chik KW, Chiu RW, et al: Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation. *Clin Chem* 48:421-427, 2002
- Gimeno-Valiente F, Martín-Arana J, Tébar-Martínez R, et al: Sequencing paired tumor DNA and white blood cells improves circulating tumor DNA tracking and detects pathogenic germline variants in localized colon cancer. *ESMO Open* 8:102051, 2023
- Young AL, Challen GA, Birmann BM, et al: Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults. *Nat Commun* 7:12484, 2016
- Hu Y, Ulrich BC, Supplee J, et al: False-positive plasma genotyping due to clonal hematopoiesis. *Clin Cancer Res* 24:4437-4443, 2018
- Mayrhofer M, De Laere B, Whittington T, et al: Cell-free DNA profiling of metastatic prostate cancer reveals microsatellite instability, structural rearrangements and clonal hematopoiesis. *Genome Med* 10:85, 2018
- Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al: ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol* 33:750-768, 2022
- Mosele MF, Westphalen CB, Stenzinger A, et al: Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with advanced cancer in 2024: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol* 35:588-606, 2024
- Krebs MG, Malapelle U, André F, et al: Practical considerations for the use of circulating tumor DNA in the treatment of patients with cancer: a narrative review. *JAMA Oncol* 8:1830-1839, 2022
- Fairchild L, Whalen J, D'Aco K, et al: Clonal hematopoiesis detection in patients with cancer using cell-free DNA sequencing. *Sci Transl Med* 15:eabm8729, 2023
- Huang F, Yang Y, Chen X, et al: Chemotherapy-associated clonal hematopoiesis mutations should be taken seriously in plasma cell-free DNA KRAS/NRAS/BRAF genotyping for metastatic colorectal cancer. *Clin Biochem* 92:46-53, 2021
- Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, et al: Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med* 21:795-801, 2015
- Hayman TJ: Rethinking the use of germline CHEK2 mutation as a marker for PARP inhibitor sensitivity. *JNCI Cancer Spectrum* 8:pkae045, 2024
- Service RF: Rescuing the guardian of the genome. *Science* 354:26-28, 2016
- Munir T, Brown JR, O'Brien S, et al: Final analysis from RESONATE: Up to six years of follow-up on ibrutinib in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol* 94:1353-1363, 2019

40. Mandelker D, Donoghue M, Talukdar S, et al: Germline-focussed analysis of tumour-only sequencing: recommendations from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol* 30:1221-1231, 2019
41. Coffee B, Cox HC, Kidd J, et al: Detection of somatic variants in peripheral blood lymphocytes using a next generation sequencing multigene pan cancer panel. *Cancer Genet* 211:5-8, 2017
42. Slavin TP, Coffee B, Bernhisel R, et al: Prevalence and characteristics of likely-somatic variants in cancer susceptibility genes among individuals who had hereditary pan-cancer panel testing. *Cancer Genet* 235-236:31-38, 2019
43. Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL, et al: Molecular international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *NEJM Evid 1: EVIDoa2200008*, 2022
44. Butz H, Bozsik A, Grolmusz V, et al: Challenging interpretation of germline TP53 variants based on the experience of a national comprehensive cancer centre. *Sci Rep* 13:14259, 2023
45. Renaux-Petel M, Charbonnier F, Thery JC, et al: Contribution of de novo and mosaic TP53 mutations to Li-Fraumeni syndrome. *J Med Genet* 55:173-180, 2018
46. Weitzel JN, Chao EC, Nehoray B, et al: Somatic TP53 variants frequently confound germ-line testing results. *Genet Med* 20:809-816, 2018
47. Brunet T, Berutti R, Dill V, et al: Clonal hematopoiesis as a pitfall in germline variant interpretation in the context of Mendelian disorders. *Hum Mol Genet* 31:2386-2395, 2022
48. Singh J, Li N, Ashrafi E, et al: Clonal hematopoiesis of indeterminate potential as a prognostic factor: a systematic review and meta-analysis. *Blood Adv* 8:3771-3784, 2024
49. Yun JK, Kim S, An H, et al: Pre-operative clonal hematopoiesis is related to adverse outcome in lung cancer after adjuvant therapy. *Genome Med* 15:111, 2023
50. Gillis NK, Ball M, Zhang Q, et al: Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study. *Lancet Oncol* 18:112-121, 2017
51. Weeks LD, Niroula A, Neuberg D, et al: Prediction of risk for myeloid malignancy in clonal hematopoiesis. *NEJM Evid 2: 10.1056/evidoa2200310*, 2023
52. Arends CM, Kopp K, Habesreiter R, et al: Dynamics of clonal hematopoiesis under DNA-damaging treatment in patients with ovarian cancer. *Leukemia* 38:1378-1389, 2024
53. Shah MV, Mangaonkar AA, Begna KH, et al: Therapy-related clonal cytopenia as a precursor to therapy-related myeloid neoplasms. *Blood Cancer J* 12:106, 2022
54. Zekavat SM, Viana-Huete V, Matesanz N, et al: TP53-mediated clonal hematopoiesis confers increased risk for incident atherosclerotic disease. *Nat Cardiovasc Res* 2:144-158, 2023
55. Mammadova J, Colin-Leitzinger C, Nguyen D, et al: Clonal hematopoiesis as a molecular risk factor for doxorubicin-induced cardiotoxicity: a proof-of-concept study. *JCO Precis Oncol* 7:e2300208, 2023
56. Sano S, Wang Y, Ogawa H, et al: TP53-mediated therapy-related clonal hematopoiesis contributes to doxorubicin-induced cardiomyopathy by augmenting a neutrophil-mediated cytotoxic response. *JCI Insight* 6:e146076, 2021
57. Mangaonkar AA, Patnaik MM: Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and clonal cytopenias of undetermined significance: 2023 update on clinical associations and management recommendations. *Am J Hematol* 98:951-964, 2023
58. Bottomly D, Long N, Schultz AR, et al: Integrative analysis of drug response and clinical outcome in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 40:850-864.e9, 2022
59. Knisbacher BA, Lin Z, Hahn CK, et al: Molecular map of chronic lymphocytic leukemia and its impact on outcome. *Nat Genet* 54:1664-1674, 2022
60. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al: ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 25:100866, 2023