

Biología molecular y leucemia: E2A-PBX1 y recaída al sistema nervioso central

Juan Carlos Núñez-Enríquez,^a Juan Manuel Mejía Aranguré^b

Molecular biology and childhood leukemia: E2A-PBX1 and central nervous system relapse

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer in children. The inclusion of molecular biology techniques in the diagnosis and prognostic stratification of these patients has allowed major treatment achievements in developed countries. One of the best studied gene rearrangements is E2A-PBX1, which predicts isolated central nervous system relapse in patients with ALL. However, further research on the search for new molecular markers related to prognosis of patients with childhood leukemia is required. Such studies need the integration of different disciplines, including epidemiology. Epidemiological studies are needed not only to accelerate the discovery of new molecular markers and new biological signals as to the etiology and pathophysiology of cancer, but also to evaluate the clinical impact of these findings in well-defined populations.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna más frecuente en niños.¹ En los últimos treinta años se han logrado avances significativos en el tratamiento de la LLA en países desarrollados con tasas de sobrevida libre de eventos a cinco años del 80%.² Dichos avances se han atribuido principalmente a esquemas de quimioterapia basados en la combinación de múltiples fármacos, quimioprofilaxis al sistema nervioso central para prevenir las recaídas a este sitio, intensificación de la quimioterapia convencional y a la estratificación pronóstica de los pacientes con LLA.³

Estratificación pronóstica y marcadores moleculares en LLA

La estratificación pronóstica es un elemento indispensable para la elección del tratamiento más adecuado de los niños con LLA.⁴ Se realiza con base en el riesgo de recaída asignado al momento del diagnóstico y tomando en cuenta variables como la edad, la cuenta inicial de leucocitos, el inmunofenotipo, alteraciones genéticas específicas y la respuesta inicial al tratamiento de quimioterapia (cuadro I).⁵ La finalidad del tratamiento basado en una estratificación pronóstica es evitar las recaídas y aumentar la sobrevida libre de eventos al reducir la intensidad de la quimioterapia en los pacientes con LLA clasificados como de riesgo estándar e incrementando la intensidad de la quimioterapia para los pacientes clasificados como de alto riesgo.¹

Sin embargo, muchas de las características tomadas en cuenta para estratificar el riesgo de recaída en los pacientes con LLA han ido perdiendo su peso como factores pronósticos debido a las mejoras que se han logrado en la terapia para estos niños. Tal es el caso de los pacientes con inmunofenotipo de células *T*, quienes presentaban tasas de recaída y morbilidad muy elevadas. Actualmente su riesgo de recaída o de muerte en países desarrollados es similar al de los pacientes con un inmunofenotipo pre-B.⁶⁻⁸

Además, con los avances en la genética se han descubierto nuevos factores asociados con el pronóstico de los pacientes con LLA, como los rearreglos

Keywords	Palabras clave
Leukemia	Leucemia linfoides aguda
Child	Niño
Gene rearrangement	Reordenamiento genético
Fusion oncogene proteins	Proteínas de fusión onco génicas
Local neoplasm recurrence	Recurrencia local de neoplasia

^aUnidad de Investigación en Epidemiología Clínica, Hospital de Pediatría

^bCoordinación de Investigación en Salud

Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal, México

Comunicación con: Juan Carlos Núñez-Enríquez

Teléfono: (55) 5627 6900, extensión 22451

Correo electrónico: jcarlos_nu@hotmail.com

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en niños. La inclusión de técnicas de biología molecular en el diagnóstico y la estratificación pronóstica de estos pacientes ha permitido que se logren avances importantes del tratamiento en países desarrollados. Uno de los rearreglos genéticos más estudiados es el E2A-PBX1, el cual predice la recaída aislada al sistema nervioso central (SNC) en pacientes con LLA. Es necesaria una mayor investigación acerca de la búsqueda de nuevos marcadores moleculares

relacionados con el pronóstico de los pacientes con leucemia infantil. Este tipo de estudios requieren de la integración de diferentes disciplinas del campo de la investigación, entre ellas la epidemiología. Los estudios epidemiológicos son necesarios no solo para acelerar los descubrimientos de nuevos marcadores moleculares y nuevas señales biológicas en cuanto a la etiología y la fisiopatología del cáncer, sino también para evaluar el impacto clínico de esos descubrimientos en poblaciones bien definidas.

Resumen

génicos y las anormalidades en el número de cromosomas.⁹

Las anormalidades genéticas más importantes en LLA infantil incluyen la translocación t (12; 21) (p13; q22) que da lugar al rearreglo génico TEL-AML1; al rearreglo génico BCR-ABL que surge de la translocación t (9; 22) (q34; q11); a los rearreglos del gen *MLL* y al rearreglo génico E2A-PBX1. Los pacientes con LLA que sean positivos para TEL-AML1 tienen un pronóstico favorable, mientras que aquellos con la fusión E2A-PBX1 requieren un tratamiento más intensivo para obtener un buen resultado. Por otra parte, los pacientes positivos al rearreglo MLL-AF4 o a BCR-ABL son a menudo candidatos a un trasplante hematopoyético alógénico de células madre en la primera remisión.¹⁰

Otras alteraciones genéticas asociadas con el pronóstico de los pacientes con LLA son las anomalías cromosómicas de tipo numérico, como la hiperdiploidía asociada con un buen pronóstico y la hipodiploidía asociada con un pronóstico extremadamente pobre.¹¹

En esta revisión nos enfocaremos sobre el impacto del rearreglo génico E2A-PBX1 sobre el pronóstico de los pacientes pediátricos con LLA. El principal papel que juega el rearreglo génico E2A-PBX1 tiene que ver en la predicción para las recaídas aisladas al sistema nervioso central (SNC). Se ha referido que las recaídas que ocurren en el SNC fueron por mucho tiempo el mayor obstáculo para lograr mejores tasas de curación en niños con LLA de países desarrollados, ya que el 50 % de los pacientes que recaían a este sitio presentaban segundas recaídas, progresión de la enfermedad o defunción a pesar de recibir dosis intensas de quimioterapia intratecal y sistémica.^{12,13,14} Las recaídas a SNC son en su mayoría asintomáticas y difíciles de diagnosticar. El diagnóstico de recaída a SNC se confirma mediante la presencia de blastos en el citocentrífugado de líquido cefalorraquídeo (LCR) o por hallazgos tomográficos específicos.¹⁴

En una investigación de Pui *et al.* durante el periodo de junio de 2000 a octubre de 2007 se estudiaron 498 pacientes con LLA de 1 a 18 años de edad.¹⁵ Los autores reportaron un riesgo acumulado a cinco años del 2.7 % (IC 95 %: 1.1-4.3) para presentar recaída a SNC. Las características principales de los pacientes fueron las siguientes: el sexo masculino representó al 56 % de los casos con una mediana de edad de 5.3 años, 12 % eran hispanos y presentaban una mediana de leucocitos de 11.700 x mm³. El inmunofenotipo de células T se encontró en el 15.3 % de los pacientes y la frecuencia del rearreglo génico E2A-PBX1 fue de 5.8 %. La recaída a SNC se presentó en el 3 % de los casos estudiados. Los factores pronósticos independientes para recaída aislada a SNC fueron el rearreglo génico E2A-PBX1 (hazard ratio [HR] de 15; IC 95 %: 3.1-73.0; *p* = 0.001), la infiltración leucémica al SNC al momento del diagnóstico (HR 6.4; IC 95 %: 1.7-23.0; *p* = 0.005), la punción lumbar traumática (HR 2.6; IC 95 %: 1.2-5.2; *p* = 0.02), el inmunofenotipo de células T (HR 7.7; IC 95 %: 1.4-43.0; *p* = 0.02) y la hiperleucocitosis mayor a 100.000 x mm³.¹⁵

A partir de estos factores pronósticos, se iniciaron protocolos de tratamiento (el uso de quimioterapia intratecal más radiación a SNC “profiláctica”), lo cual redujo a menos del 2 % el porcentaje de recaídas a este sitio. Los resultados de este estudio se consideran al día de hoy como uno de los avances más sobresalientes en el tratamiento de los niños con LLA.¹⁵

Rearreglo génico E2A-PBX1

El gen *E2A* se encuentra en la banda cromosómica 19p13 y 3 en el llamado punto de ruptura de la translocación t (1;19) (q23, p13). Esta es característica de los pacientes con LLA de linaje pre-B y se puede encontrar como una translocación balanceada (1;19) o no balanceada der (19) t (1;19) (q23, p13) con 2 cromosomas normales. La forma más común en pacientes pediátricos con LLA corresponde a la forma no balan-

ceada.¹⁶⁻¹⁸ La prevalencia de este rearrreglo génico varía entre el 4 y el 8 % de los pacientes con LLA.¹⁹

La translocación resultante de la fusión del gen *E2A* (también llamado *TCF3*) en el sitio 19p13 con el gen *PBX1* en el sitio 1q23 resulta en la formación de un factor de transcripción químérico que a su vez causa una activación anormal y la disfunción del gen homeobox (*PBX1*), lo cual genera la transactivación de varios genes y, finalmente, un fenotipo celular maligno.¹⁶ Los estudios experimentales han demostrado que el rearrreglo génico *E2A-PBX1* inicialmente causa un bloqueo de la diferenciación celular normal de progenitores mieloides y paradójicamente induce apoptosis en las líneas celulares Pre-B. Esto a su vez induce una proliferación inmortal del factor de células madre (FCM) pro-timocitos mediante un mecanismo dependiente de transactivación y de funciones de protección del ácido desoxirribonucleico (ADN).¹⁷

Se ha sugerido por varios autores que la oncogénesis inducida por este mecanismo requiere de un dominio de activación aminoterminal llamado AD1 que se considera esencial para la inmortalización de las células de la médula ósea. Sin embargo, estos mecanismos no han sido demostrados totalmente.^{17,18}

Métodos utilizados para detectar el rearrreglo génico *E2A-PBX1*

Los métodos que hasta el momento han demostrado ser adecuados para la detección de dicha alteración genética son el método FISH (cuyas siglas en inglés significan hibridación fluorescente *in situ*), la reacción

en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR) y la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR).¹⁶ Otro método utilizado es el de la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa múltiple (MRT-PCR), que es un método citogenético validado recientemente.²⁰ Sin embargo, las técnicas usadas para detectar este y otros rearranglos génicos requieren de mucho tiempo para obtener el resultado, por lo que recientemente se han desarrollado técnicas de detección de rearranglos génicos basadas en citometría de flujo con las cuales se obtiene el resultado en un lapso no mayor de cuatro horas.²¹

Conclusiones

La LLA es el cáncer más común en pediatría. La inclusión de técnicas de biología molecular en el diagnóstico y la estratificación pronóstica de estos pacientes ha permitido que se logren avances importantes del tratamiento en países desarrollados. Uno de los rearranglos génicos más estudiados es el *E2A-PBX1*, el cual predice la recaída aislada al SNC en pacientes con LLA. Actualmente, con el incremento en la intensidad de la quimioterapia en el subgrupo de pacientes con *E2A-PBX1* positivo se ha logrado que estos tengan una sobrevida similar a la de pacientes clasificados como de riesgo estándar.²²

Es necesaria una mayor investigación acerca de la búsqueda de nuevos marcadores moleculares relacionados con el pronóstico de los pacientes con leucemia infantil. Este tipo de estudios requieren de la integración de diferentes disciplinas del campo de la investigación, entre

Cuadro I Clasificación de riesgo utilizada en el estudio St. Jude Total XV para estratificar el tratamiento en los pacientes con leucemia⁵

Criterio utilizado	Grupo de riesgo (% estimado de pacientes por grupo)		
	Estándar (40 %)	Alto (50 %)	Muy alto (10 %)
Edad	1 a 9.9 años		< 1 año; > 10 años
Cuenta de leucocitos	< 50.000 xmm ³		> 100.000 xmm ³
Infiltración al SNC (SNC-3)*	No		Sí
Infiltración testicular	No		Sí
Inmunofenotipo	Linaje B	Aquellos pacientes que no cumplen con los criterios para los grupos de riesgo estándar ni de muy alto riesgo. Incluye a la mayoría de pacientes con inmunofenotipo de células T	Linaje T
Marcadores moleculares	TEL/AML1 positivo, BCR-ABL negativo, E2A-PBX1 negativo MLL negativo		BCR-ABL positivo
Alteración en el número de cromosomas por célula	Hiperdiploidía (51 a 65 cromosomas)		Hipodiploidía (< 45 cromosomas)
Índice de ADN	> 1.16		< 1:16
Respuesta temprana al tratamiento	Favorable [†]		Desfavorable [‡]

* > 5 leucocitos por campo más presencia de blastos en el líquido cefalorraquídeo o parálisis de nervios craneales al momento del diagnóstico

† < 5 % de blastos al día 15 de inducción a la remisión o < 0.01 % de blastos al día 42

‡ > 1 % de blastos al día 42 de la inducción a la remisión o > 0.1 % de blastos a los cuatro meses de la inducción a la remisión

ellas la epidemiología. Los estudios epidemiológicos son necesarios no solo para acelerar los descubrimientos de nuevos marcadores moleculares y nuevas señales biológicas en cuanto a la etiología y la fisiopatología del cáncer, sino también para evaluar el impacto clínico de esos descubrimientos en poblaciones bien definidas.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo por parte del Fondo de Investigación en Salud (FIS/IMSS/PROT/MD13/1254;FIS/

IMSS/PROT/PRIO/14/031) del Instituto Mexicano del Seguro Social y del CONACyT (PDCPN2013-01-215726,FIS/IMSS/PROT/1364).

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no ha sido reportado alguno que esté relacionado con este artículo.

Referencias

- Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. Acute lymphocytic leukemia. In: Pizzo PA, Poplack DG, editors. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 538-590.
- Friedmann AM, Weinstein HJ. The role of prognostic features in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncologist*. 2000;5(4):321-8.
- Lazic J, Tasic N, Dokmanovic L, Krstovski N, Rodic P, Pavlovic S, et al. Clinical features of the most common fusion genes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Med Oncol*. 2010 Jun;27(2):449-53.
- Ferrando AA, Look AT. Clinical implications of recurring chromosomal and associated molecular abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol*. 2000 Oct;37(4):381-95.
- Chan GCF, Pui CH. Current status of acute lymphoblastic leukaemia in children. *HK J Paediatr (New Series)*. 2003;8:170-3.
- Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, Lampert F, Harbott J, Henze G, et al. Favorable outcome of B-cell acute lymphoblastic leukemia in childhood: a report of three consecutive studies of the BFM group. *Blood*. 1992 Nov 15;80:2471-8.
- Schorin MA, Blattner S, Gelber RD, Tarbell NJ, Donnelly M, Dalton V, et al. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Cancer Institute/Children's Hospital Acute Lymphoblastic Leukemia Consortium Protocol 85-01. *J Clin Oncol*. 1994;12(4):740-7.
- Steinherz PG, Gaynon PS, Breneman JC, Cherlow JM, Grossman NJ, Kersey JH, et al. Treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia with bulky extramedullary disease and T-cell phenotype or other poor prognostic features: randomized controlled trial from the Children's Cancer Group. *Cancer*. 1998 Feb 1;82(3):600-12.
- Crist W, Pullen J, Boyett J, Falletta J, van Eys J, Borowitz M, et al. Clinical and biologic features predict a poor prognosis in acute lymphoid leukemias in infants: a Pediatric Oncology Group study. *Blood*. 1986;67(1):135-40.
- Rubnitz JE, Pui CH. Molecular diagnostics in the treatment of leukemia. *Curr Opin Hematol*. 1999 Jul;6(4):229-35.
- Harrison CJ. The genetics of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 2000 Sep;13(3):427-39.
- Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1993 May 1;81(9):2237-51.
- Pui CH, Howard SC. Current management and challenges of malignant disease in the CNS in paediatric leukaemia. *Lancet Oncol*. 2008 Mar;9(3):257-68.
- Pui CH, Thiel E. Central nervous system disease in hematologic malignancies: historical perspective and practical applications. *Semin Oncol*. 2009 Aug;36(4 Suppl 2):S2-S16.
- Pui CH, Campana D, Pei D, Bowman WP, Sandlund JT, Kaste SC, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med*. 2009 Jun 25;360(26):2730-41.
- Braoudaki M, Tzortzatou-Stathopoulou F. Clinical cytogenetics in pediatric acute leukemia: an update. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2012 Aug;12(4):230-7. Epub 2012 May 19.
- Sykes DB, Kamps MP. E2a/Pbx1 induces the rapid proliferation of stem cell factor-dependent murine pro-T cells that cause acute T-lymphoid or myeloid leukemias in mice. *Mol Cell Biol*. 2004 Feb;24(3):1256-69.
- Bayly R, Murase T, Hyndman BD, Savage R, Nur-mohamed S, Munro K, et al. Critical role for a single leucine residue in leukemia induction by E2A-PBX1. *Mol Cell Biol*. 2006 Sep;26(17):6442-52.
- Pui CH, Mullighan CG, Evans WE, Relling MV. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood*. 2012 Aug 9;120(6):1165-74.
- Cho YU, Chi HS, Park CJ, Jang S, Seo EJ. Rapid detection of prognostically significant fusion transcripts in acute leukemia using simplified multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. *J Korean Med Sci*. 2012;27(10):1155-61.
- Dekking E, van der Velden VH, Böttcher S, Brüggenmann M, Sonneveld E, Koning-Goedheer A, et al. Detection of fusion genes at the protein level in leukemia patients via the flow cytometric immunobead assay. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2010 Sep;23(3):333-45.
- Moorman AV. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev*. 2012 May;26(3):123-35. Epub 2012 Mar 20.