

Transcripto BCR-ABL atípico en un paciente con leucemia mieloide crónica

Atypical BCR-ABL transcript in a patient with chronic myeloid leukemia

Dra. C. Ana María Amor Vigil,^I Dra. Viviana Cristo Pérez,^{II} Lic. Yarienis González Medina,^I Dra. Ania Hernández Cabezas,^I Dra. Valia Pavón Morán,^I Dra. C. Gisela Martínez Antuña^{II}

^I Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

^{II} Hospital Militar Docente "Carlos J. Finlay". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se presenta un paciente con leucemia mieloide crónica (LMC) y un transcripto BCR-ABL atípico. Mediante el análisis cualitativo de los productos de la reacción en cadena de la polimerasa, y por comparación con los pesos moleculares del producto de amplificación de muestras de pacientes positivos a los puntos de ruptura más frecuentes e13a2 (b2a2) y e14a2 (b3a2), se determinó que el gen quimérico BCR-ABL de este paciente debe corresponder al transcripto e13a3 (b2a3) que aparece con muy poca frecuencia en la LMC. El paciente se encuentra en tratamiento con imatinib (400 mg diarios) desde el inicio de la enfermedad. A los 6 meses no se detectó presencia del gen quimérico BCR-ABL; 2 estudios moleculares posteriores, al año y a los 2 años de tratamiento, resultaron positivos, pero esto no implicó modificación del tratamiento. La evolución favorable del paciente, a pesar de la recaída molecular, concuerda con lo esperado descrito en la literatura en relación con la presencia del transcripto b2a3 en la LMC.

Palabras clave: transcripto BCR-ABL atípico, gen quimérico BCR-ABL, leucemia mieloide crónica.

ABSTRACT

The case of a patient with chronic myeloid leukemia and atypical BCR-ABL transcript was presented. By using the qualitative analysis of the polymerase chain

reaction products and the comparison with the molecular weights of the amplification product from the samples taken from those patients positive to the most frequent rupture points e13a2 (b2a2) and e14a2 (b3a2), it was determined that chimeric gen BCR-ABL of this patient should correspond to transcript e13a3 (b2a3) that rarely occurs in CML. The patient is being treated with Imatinib (400 mg daily) since the onset of his disease. After six months, the chimeric gen BCR-ABL was not detected. Two molecular studies carried out one year and two years after the treatment yielded positive results, but this did not imply any change to the treatment. Despite the molecular relapse, the favorable recovery of the patient agreed with the expected result described in the literature in terms of the presence of transcript b2a3 in CML.

Key words: atypical BCR-ABL transcript, chimeric gen BCR-ABL, chronic myeloid leukemia.

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un enfermedad mieloproliferativa caracterizada por la producción de un clon de células hematopoyéticas que contienen el cromosoma Filadelfia (Ph). Este cromosoma es el resultado de una traslocación entre los cromosomas 9 y 22, conocida como t(9;22)(q34;q11). El avance de los estudios moleculares ha permitido conocer que esta traslocación ocurre entre el gen ABL localizado en el cromosoma 9 y el gen BCR en el cromosoma 22, y que da lugar al gen híbrido o de fusión BCR-ABL, identificado como la causa principal de la patogénesis de la LMC.¹

En dependencia del punto de unión entre los genes BCR y ABL, se forman diferentes proteínas híbridas.¹ Entre estas, la que aparece con más frecuencia en la LMC es la p210^{BCR/ABL}, que se produce cuando la región conocida en inglés como *major breakpoint cluster region* (M-BCR) del gen BCR se une al gen ABL. Esta unión puede ocurrir entre diferentes puntos de la M-BCR y del gen ABL, lo que da lugar a diferentes transcritos. Al respecto, los que con mayor frecuencia se observan son los que se unen por los exones e14 (conocido también como b3) o e13 (conocido también como b2) del gen BCR y el exón a2 del gen ABL, que da lugar a los transcritos e14a2 (b3a2) y e13a2 (b2a2), respectivamente,² mientras que, en raros casos de esta enfermedad, han sido descritos los transcritos e14a3 (b3a3) o e13a3 (b2a3), donde el exón a2 del gen ABL ha sido deletado.³⁻⁶

La detección del transcrito BCR-ABL en algún paciente con LMC ha cobrado en la actualidad mayor importancia debido a la existencia del tratamiento con imatinib, inhibidor específico de la actividad tirosina kinasa de la proteína anómala BCR-ABL.

Las técnicas de TR-RCP (transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa), estandarizadas por el estudio conjunto europeo *Report of BIOMED-1 Concerted Action*,⁷ permiten el análisis cualitativo de diferentes aberraciones cromosómicas, entre las que se incluye el gen BCR-ABL. En este trabajo se reportó la posibilidad de detectar los transcritos, poco frecuentes, b2a3 y b3a3 con los mismos oligonucleótidos diseñados para el análisis del gen de fusión BCR-ABL que da lugar a la proteína p210^{BCR/ABL}.

En el presente trabajo se comunica un paciente con LMC en cuyo estudio molecular del gen BCR-ABL se encontró una banda de menor peso molecular que los transcriptos más frecuentes, el b3a2 y el b2a2, y que es atribuible al transcripto b2a3, considerado atípico por su baja frecuencia de aparición.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente masculino de 28 años de edad con antecedentes de asma bronquial, que presentó dolores óseos localizados fundamentalmente en la región lumbosacra y el hombro izquierdo durante casi 2 años antes de realizarse el diagnóstico de LMC en enero de 2007, momento en que el estudio imaginológico (radiografía de tórax y resonancia magnética nuclear) resultó normal. En el examen físico se observaron mucosas algo hipocoloreadas y esplenomegalia de 7 cm. En el ultrasonido se confirmó la esplenomegalia y no se observaron anomalías ni en el hígado ni en la vesícula.

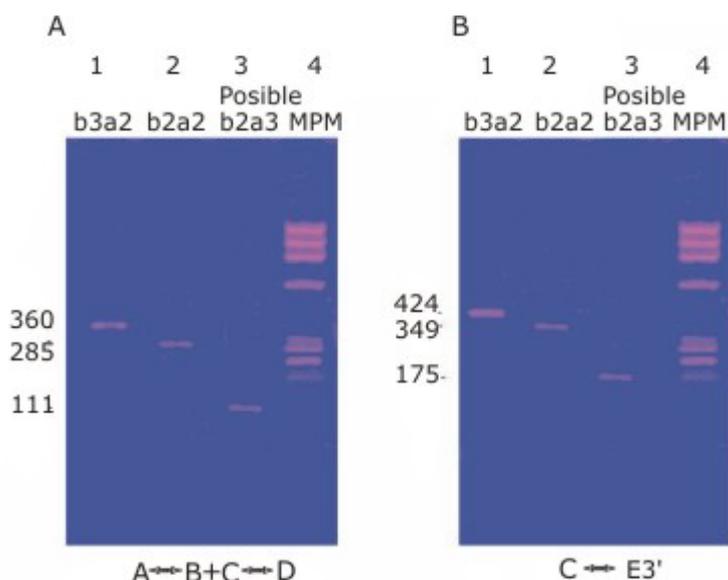
El análisis de sangre periférica mostró: hemoglobina 10,2 g/dL; hematocrito 0,34; conteo de plaquetas $150 \times 10^9/L$; conteo de leucocitos $80 \times 10^9/L$; *stabs* 3 %; mielocitos 20 %; monocitos 4 %; neutrófilos 63 %; y linfocitos 10 %.

El medulograma no fue útil para estudio por escaso material medular. En la biopsia realizada en cresta iliaca se observó 98 % de celularidad, depresión eritropoyética severa, hiperplasia granulomegacariopoyética severa y ligera respectivamente, hiperplasia notable eosinofílica, con ligero incremento de formas tempranas e intermedias y retículo incrementado grado II-III, aspecto que correspondió a un trastorno mieloproliferativo crónico con incremento de retículo. No fue posible determinar la presencia del cromosoma Ph por estudio citogenético al inicio de la enfermedad.

Para el estudio del gen BCR-ABL por TR-RCP se hizo un aspirado de médula ósea y se aislaron las células mononucleadas.⁷ Tras aislar el ARN y realizar la TR-RCP, la reacción resultó positiva, pero mostró un producto de menor peso molecular que el de los transcriptos más frecuentes b3a2 y b2a2. Para descartar un producto inespecífico de la reacción se hizo una RCP de confirmación (conocida como *shifted* en inglés)⁷ la cual resultó positiva y mostró, igualmente, una banda de peso molecular (PM) inferior al de los transcriptos más frecuentes.

En la figura se muestra la banda única en la línea correspondiente al paciente, tanto con el producto de la RCP inicial (Fig. A), como en la RCP de confirmación (Fig. B) y se compara con los transcriptos típicos b2a2 y b3a2.

La posición de la banda y el PM aproximado, que se infirió por comparación con el marcador de PM, resultaron similares al transcripto atípico b2a3 reportado por otros autores.^{3,4,8-11} Con estos resultados se concluyó que era muy posible que el paciente portara un transcripto BCR-ABL cuyo PM corresponde al b2a3 y que ha sido observado con muy baja frecuencia, por lo que su aparición se considera atípica o rara.



A: amplificación con los oligonucleótidos A y B en la primera RCP, más C y D en la segunda RCP o RCP anidada (*nested*).
 B: amplificación con los oligonucleótidos C y E3' en la RCP de confirmación.

En el carril 3 correspondiente al paciente se observa, en la figura (A y B) una banda de menor peso molecular atribuible al transcrito b2a3. En paralelo se muestran los transcritos más frecuentes b3a2 y b2a2 (carriles 1 y 2 de muestras controles). Las bandas se comparan con un marcador de peso molecular (MPM, carril 4) y se indican los pesos moleculares en pares de base (pb), reportados por el Biomed1 para cada transcrito.

Fig. Corrida electroforética en gel de agarosa de los productos de reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

El paciente comenzó tratamiento con imatinib (400 mg diarios) desde el inicio de su enfermedad y mostró una evolución favorable. A los 6 meses de tratamiento el estudio del cariotipo por citogenética convencional resultó negativo para el cromosoma Ph y en el estudio molecular no se detectó la presencia del gen BCR-ABL. En 2 estudios posteriores, al año y a los dos años de tratamiento, el estudio molecular fue positivo para el gen BCR-ABL y mostró igual característica a la encontrada antes del tratamiento. Sin embargo, el paciente estaba en remisión hematológica y debido a su buen estado clínico no se adoptaron medidas terapéuticas adicionales.

DISCUSIÓN

Ante la presencia de un fragmento de PM no esperado obtenido por la PCR, siempre surge la duda de que pudiera ser un producto inespecífico de la reacción. Sin embargo, en el caso que presentamos, el producto de amplificación que se observó presentaba un PM similar al transcrito poco común b2a3, cuya posibilidad de ser

detectado con los oligonucleótidos convencionales para el estudio del gen BCR-ABL, se ha reportado con anterioridad.⁷ Por esta razón, si bien para una certeza de 100 % sería necesario secuenciar el fragmento, es muy probable que se esté en presencia de un transcrito b2a3 porque, además, la RCP de comprobación (*shifted*) también mostró una banda de menor PM, similar a la reportada por el estudio conjunto europeo citado antes.⁷

La respuesta favorable al tratamiento con imatinib, está en correspondencia con la reportada para la gran mayoría de los casos con transcritos BCR-ABL en los que el exón a2 del gen ABL está deletado. Se ha planteado que estos pacientes casi siempre presentan una evolución más benigna de la enfermedad y responden bien al tratamiento con imatinib.¹²⁻¹⁵

A pesar de la positividad del gen BCR-ABL observada a los 2 años de tratamiento, el paciente no había hecho recaída hematológica hasta ese momento, lo cual concuerda con la evolución favorable de la enfermedad esperada para este tipo de transcrito. Se ha señalado que muchos de los casos con transcritos BCR-ABL atípicos tienen un curso más benigno y responden al imatinib y al interferon α ,¹²⁻¹⁵ a pesar de que también en estos pacientes se ha observado la ocurrencia de crisis blástica mieloide.^{14,16} Teóricamente, todos los transcritos BCR-ABL deben responder al tratamiento con imatinib, independiente del sitio de unión del gen BCR con el exón 2 o 3 del gen ABL, ya que todos codifican el sitio de unión del ATP a la ABL kinasa, sitio por el que el imatinib ejerce su acción inhibitoria.¹⁷ Por otra parte, se piensa que los transcritos con delección del exón a2 del gen ABL, como sería nuestro caso, están asociados a un curso clínico más benigno porque tienen el dominio SH3 truncado y, por lo tanto, deben ser menos leucemogénicos, lo que quizá se deba a una disminución de la activación de STAT5.¹⁷

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kurzrock R, Gutterman JU, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med.* 1988;319(15):990-8. PMID: 3047582 [PubMed-indexed for MEDLINE].
2. Selleri L, von Linderen M, Hermans A, Meijer D, Torelli G, Grosveld G. Chronic myeloid leukemia may be associated with several bcr/abl transcripts including the acute lymphoid leukemia type 7 kb transcript. *Blood.* 1990;75(5):1146-53. PMID: 2407300 [PubMed-indexed for MEDLINE].
3. van der Plas DC, Soekarman D, van Gent AM, Grosveld G, Hagemeyer A. Bcr-abl mRNA lacking abl exon a2 detected by polymerase chain reaction in a chronic myelogenous leukemia patient. *Leukemia.* 1991;5(6):457-61. PMID: 2056770 [PubMed-indexed for MEDLINE].
4. Páldi-Haris P, Barta A, Lengyel L, Bártai A, Masszi T, Reményi P, et al. Molecular background of a new case of chronic myelogenous leukemia with bcr-abl chimera mRNA lacking the A2 exon. *Leukemia.* 1994;8(10):1791. PMID: 7934177 [PubMed-indexed for MEDLINE].
5. Polák J, Zemanová Z, Michalová K, Klamová H, Cermák J, Haskovec C. A new case of chronic myeloid leukemia (CML) in myeloid blast crisis with an atypical (b3/a3) junction of the BCR/ABL gene. *Leukemia.* 1998;12(2):250. PMID: 9519792 [PubMed-indexed for MEDLINE].

6. Amabile M, Martinelli G, Terragna C, Montefusco V, Tabilio A, Tura S. An atypical (b3a3) junction of the bcr/abl gene lacking abl exon a2 in a patient with chronic myeloid leukemia [carta]. *Haematologica*. 1999;84(6):573-5. PMID: 10366813 [PubMed-indexed for MEDLINE].
7. van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of BIOMED-1 Concerted Action. *Leukemia*. 1999;13(12):1901-28. PMID: 10602411 [PubMed-indexed for MEDLINE].
8. Moravcová J, Rulcová J, Polák J, Klamová H, Haskovec C, Zemanová Z. CML patient with rare b2a3 (e13a3) variant of BCR-ABL transcript: Complete molecular response to imatinib [carta]. *Leuk Res*. 2005;29(11):1365-6. PMID: 15876454 [PubMed-indexed for MEDLINE].
9. Liu L, Tanaka H, Ito K, Kyo T, Ito T, Kimura A. Chronic Myelogenous Leukemia with e13a3 (b2a3) Type of BCR-ABL Transcript Having a DNA Breakpoint between ABL exons a2 and a3. *Am J Hematol*. 2003;74(4):268-72. PMID: 14635208 [PubMed-indexed for MEDLINE].
10. Iwata S, Mizutani S, Nakazawa S, Yata J. Heterogeneity of the breakpoint in the ABL gen in cases with BCR/ABL transcript lacking ABL exon a2 [reporte de casos]. *Leukemia*. 1994;8(10):1696-702. PMID: 7934165 [PubMed-indexed for MEDLINE].
11. Martinelli G, Amabile M, Terragna C, Testoni N, Ottaviani E, Montefusco V, et al. Concomitant expression of the rare E1/A3 and B2/A3 types of BCR/ABL transcript in a chronic myeloid leukemia (CML) patient [reporte de caso]. *Leukemia*. 1999;13(9):1463-4. PMID:10483000 [PubMed-indexed for MEDLINE].
12. Al-Ali HK, Leiblein S, Kovacs I, Hennig E, Niederwieser D, Deininger MWN. CML with an e1a3 BCR-ABL fusion: rare, benign, and a potential diagnostic pitfall [carta]. *Blood*. 2002;100(3):1092-3. PMID: 12130477 [PubMed-indexed for MEDLINE].
13. Snyder DS, McMahon R, Cohen S, Slovak ML. Chronic myeloid leukemia with an e13a3 BCR-ABL fusion: benign course responsive to imatinib with an RT-PCR advisory [reporte de caso]. *Am J Hematol*. 2004;75(2):92-5. PMID: 14755375 [PubMed-indexed for MEDLINE].
14. Lee JJ, Kim HJ, Kim YJ, Lee S, Hwang JY, Kim YL, et al. Imatinib induces a cytogenetic response in blast crisis or interferon failure chronic myeloid leukemia patients with e19a2 BCR-ABL transcripts [carta]. *Leukemia*. 2004;18 (9):1539-40. PMID: 15284852 [PubMed-indexed for MEDLINE].
15. Popovici C, Cailleres S, David M, Lafage-Pochitaloff M, Sainty D, Mozziconacci MJ. E6a2 BCR-ABL fusion with BCR exon 5-deleted transcript in a Philadelphia positive CML responsive to Imatinib [reporte de caso]. *Leuk Lymphoma*. 2005;46(9):1375-7. PMID: 16109618 [PubMed-indexed for MEDLINE].
16. Ohsaka A, Hoshino S, Kobayashi M, Kudo H, Kawaguchi R. Blast crisis of Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukaemia carrying micro-bcr breakpoint (e19a2 and e191a) [reporte de caso]. *Br J Haematol*. 2002;118(1):251-4. PMID: 12100156 [PubMed-indexed for MEDLINE].

17. Burmeister T, Schwartz S, Taubald A, Jost E, Lipp T, Schneller F, et al. Atypical BCR-ABL mRNA transcripts in adult acute lymphoblastic leukemia (reporte breve). Haematologica. 2007;92(12):1699-702. PMID: 18055996 [PubMed-indexed for MEDLINE].

Recibido: 12 de julio de 2007.
Aprobado: 3 de febrero de 2011.

Ana María Amor Vigil. Instituto de Hematología e Inmunología. Correo electrónico: ihidir@hemato.sld.cu