

Caracterización del gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con leucemia mieloide aguda, 2000-2016

Characterization of RUNX1-RUNX1T1 fusion gene in Cuban patients with acute myeloid leukemia, 2000-2016

Heidys Garrote Santana, Ana María Amor Vigil, Carmen Alina Díaz Alonso, Lesbia Fernández Martínez, Vera Ruiz Moleón, Sergio Machín García, Antonio Bencomo Hernández

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el gen de fusión RUNX1-RUNX1T codifica para una proteína quimérica con múltiples efectos en la proliferación, diferenciación y viabilidad de las células leucémicas.

Objetivo: describir el comportamiento del RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con dicha enfermedad.

Método: Para ello se estudió el gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 en 251 pacientes con leucemia mieloide aguda, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, en el Instituto de Hematología e Inmunología de La Habana, entre los años 2000 y 2016.

Resultados: El 20,3 % (51 pacientes) fue positivo para el gen de fusión RUNX1-RUNX1T1, con una edad comprendida entre los 11 meses y los 80 años, media de 26 años. En los pacientes pediátricos la frecuencia del transcrito fue casi el doble de la de los adultos (29,2 % y 15,3 %, respectivamente) ($p=0,009$). Mayor cantidad de pacientes masculinos presentaron el gen quimérico. En menores de 25 años hubo una mayor frecuencia del transcrito ($p=0,019$) con predominio significativo de la mutación en los adolescentes ($p=0,027$). Cinco pacientes fueron positivos al RUNX1-RUNX1T1 y a la duplicación interna en tándem del gen FLT3 (12,2 %). Ningún paciente positivo al RUNX1-RUNX1T1 presentó el gen de fusión CBFβ-MYH11. La

mayor asociación estuvo con la mutación A del gen NPM1 para un 25 %. El debut de la enfermedad se caracterizó por anemia moderada ($p= 0,024$), trombocitopenia severa ($p= 0,004$) y gran infiltración medular. La mayor discrepancia entre diagnósticos se concentró entre las variantes morfológicas M2 y M3 ($p= 0,000$).

Conclusiones: En pacientes cubanos la leucemia mieloide aguda con gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 positivo, tiene un comportamiento similar a lo descrito internacionalmente con algunas particularidades en las características hematológicas de presentación de la enfermedad. El estudio molecular es imprescindible para definir el diagnóstico, y la estrategia terapéutica en estos pacientes.

Palabras clave: leucemia mieloide aguda; LMA; RUNX1-RUNX1T1; gen de fusión.

ABSTRACT

Introduction: The RUNX1-RUNX1T fusion gene codes for a chimeric protein with multiple effects on the proliferation, differentiation and viability of leukemic cells.

Objective: To describe the behavior of RUNX1-RUNX1T1 in Cuban patients with this disease.

Method: The RUNX1-RUNX1T1 fusion gene was studied in 251 patients with acute myeloid leukemia, through the polymerase chain reaction, at the Institute of Hematology and Immunology of Havana, between 2000 and 2016.

Results: The 20.3 % (51 patients) were positive for the RUNX1-RUNX1T1 fusion gene, with an age between 11 months and 80 years, average of 26 years. In pediatric patients, the transcript frequency was almost twice that of adults (29.2 % and 15.3 %, respectively) ($p= 0.009$). More male patients presented the chimeric gene. There was a higher frequency of the transcript in children under 25 years of age ($p= 0.019$) with a significant predominance of the mutation in adolescents ($p= 0.027$). Five patients were positive for RUNX1-RUNX1T1 and for internal tandem duplication of the FLT3 gene (12.2 %). No patient positive for RUNX1-RUNX1T1 presented the CBFβ-MYH11 fusion gene. The greatest association was with the A mutation of the NPM1 gene for 25 %. The onset of the disease was characterized by moderate anemia ($p= 0.024$), severe thrombocytopenia ($p= 0.004$) and extensive bone marrow infiltration. The greatest discrepancy between diagnoses was concentrated between the morphological variants M2 and M3 ($p= 0.000$).

Conclusions: In Cuban patients, acute myeloid leukemia with a positive RUNX1-RUNX1T1 fusion gene has a behavior similar to that described internationally with some peculiarities in the hematological characteristics of the disease presentation. The molecular study is essential to define the diagnosis, and the therapeutic strategy in these patients.

Keywords: acute myeloid leukemia; AML; RUNX1 - RUNX1T1; fusion gene.

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide aguda (LMA) representa el 80 % de las leucemias agudas en adultos y del 15 al 20 % de las pediátricas. Dentro de la totalidad de los procesos neoplásicos, la LMA es la causante del 1,2 % de la mortalidad global por cáncer y se espera un aumento de su incidencia a medida que la población envejezca.¹⁻⁴

Los dos esquemas más comunes usados para clasificar la LMA, están representados por el sistema del grupo cooperativo franco-americano-británico (FAB) y el sistema de la Organización Mundial de la Salud (OMS).⁵⁻⁶

La clasificación de la OMS es más útil que la de la FAB desde el punto de vista clínico. El continuo desarrollo de la citogenética y la biología molecular le ha restado protagonismo a la FAB y se reconoce que la interpretación morfológica aislada es insuficiente para establecer grupos de riesgo adecuados.⁶

El diagnóstico actual de la LMA se basa en un análisis integrado de la morfología, la citoquímica, el inmunofenotipo, la citogenética y la biología molecular. Aunque cada uno de estos estudios, aportan información para el diagnóstico, los marcadores moleculares proporcionan la mayor definición, relevancia pronóstico y evaluación de la respuesta terapéutica de la enfermedad.⁷⁻¹³ Así quedó demostrado en las actualizaciones de las neoplasias mieloides y linfoides del 2016.^{6,14} Aunque hay estimaciones generales en el aspecto molecular de las hemopatías malignas, hay diferencias reportadas de acuerdo a factores epidemiológicos, geográficos, ambientales y sociales.¹⁵

La translocación t(8;21) fue la primera anomalía citogenética descrita en la LMA en 1973 por Rowley.¹⁶ Esta alteración está presente aproximadamente entre 5 % y 10 % de todos los casos de LMA. Su base molecular está dada por la fusión del gen del pequeño factor 1 relacionado con la transcripción (RUNX1, por sus siglas en inglés), esencial para una hematopoyesis normal, con el gen correpresor transcripcional y compañero de translocación del RUNX1 (RUNX1T1, por sus siglas en inglés).¹⁷⁻²²

El resultado final de la proteína quimérica generada provoca supresión de algunos genes promotores, localización fuera del microambiente nuclear normal y, por tanto, la imposibilidad para su unión con otros factores hematopoyéticos y reducción de su movilidad, lo que afecta la diferenciación mieloide y predispone a nuevos eventos leucemogénicos.²¹

La translocación recíproca simple es la variante más común para crear el transcritto de fusión.^{21,23-24} El 50 % de los pacientes con RUNX1-RUNX1T1 positivo, tienen al menos una alteración molecular adicional y alrededor del 70 % muestra anomalías cromosómicas en los estudios citogenéticos.^{18,20,24,25}

El gen de fusión está presente del 10 % al 22 % de los casos de LMA con maduración, correspondiente a la LMA M2 de la clasificación FAB.¹⁸ Algunos investigadores han encontrado esta alteración molecular en otros subtipos morfológicos de LMA como M4, M5 y M6.²⁵

El conteo elevado de leucocitos al diagnóstico y un pobre estado general se han señalado como otros elementos desfavorables, mientras que la administración de una consolidación intensiva como parte del tratamiento se asocia a una mejor sobrevida.¹⁸

La LMA es reconocida como una de las hemopatías malignas más heterogéneas desde el punto de vista biológico y molecular.²² No se conoce si el comportamiento clínico-biológico del gen RUNX1-RUNX1T1 en la LMA en pacientes cubanos es similar a lo descrito internacionalmente o está asociado a características particulares, es por ello que el propósito de esta investigación es caracterizar el RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con LMA.

MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, longitudinal, en el período comprendido entre enero de 2000 y diciembre de 2016, en 251 pacientes con diagnóstico de LMA.

Se incluyeron pacientes con diagnóstico clínico-morfológico de LMA no M3 de debut, a los que se le realizó el estudio molecular del RUNX1-RUNX1T1; pacientes con diagnóstico clínico-morfológico de LMA M3 que resultaron negativos al gen de la leucemia promielocítica, receptor alfa del ácido retinoico (PML-RAR α); pacientes con diagnóstico clínico-morfológico de leucemia aguda positivos para un marcador de LMA no M3.

La clasificación de la LMA al inicio de la enfermedad se realizó mediante la FAB. No se incluyeron los pacientes con diagnóstico morfológico de M3 y confirmación molecular de PML-RAR α , por ser una entidad específica con bases moleculares, pronóstico y manejo terapéutico diferentes al resto de las LMA.

La muestra se obtuvo y procesó de acuerdo al protocolo de diagnóstico y tratamiento establecido para los pacientes con LMA al inicio de la enfermedad.²⁶⁻²⁹

Una vez extraído el ARN, se procedió a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción (RT-PCR)¹² y posteriormente se realizaron las PCR con los cebadores diseñados para las fusiones: RUNX1-RUNX1T1, factor de unión al núcleo beta-gen para la cadena pesada de la miosina 11 (CBFB-MYH11) de acuerdo al protocolo internacional BIOMED I¹² También se estudió la duplicación interna en tándem del factor semejante a la tirosina quinasa 3 (FLT3-DIT) según Nakao y col.³⁰ y la mutación A del gen de la nucleofosmina (NPM1 mutA) según Ottone y col.³¹ Los productos amplificados se interpretaron mediante electroforesis en gel de agarosa¹² o capilar.³²

Procesamiento y análisis de la información

Los datos para la investigación se obtuvieron de las historias clínicas y del libro registro del laboratorio. El procesamiento se realizó en computadoras IBM-compatibles, con el empleo del programa estadístico SPSS versión 20.0 para Windows. Para el análisis estadístico de las variables cualitativas se empleó la prueba de χ^2 de Pearson. Si la frecuencia esperada fue menor de 5 se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para las variables cuantitativas se empleó la prueba paramétrica t de Student después de haber verificado que cumplían la hipótesis de normalidad, o en caso contrario la prueba no paramétrica U de Mann Whitney. Para validar los resultados en términos de significación se consideró significativo todo valor de $p < 0.05$ para el estadígrafo asociado a la prueba.

Consideraciones bioéticas

Se respetó lo establecido en los principios básicos de la Declaración de *Helsinki*.³³ Los padres o tutores legales (en el caso de los pacientes pediátricos) y los pacientes adultos, firmaron su consentimiento para la realización de las investigaciones de laboratorio necesarias como parte de los procedimientos de diagnóstico y tratamiento de la LMA.

RESULTADOS

Del total de pacientes, el 20,3 % fue positivo para el gen de fusión RUNX1-RUNX1T1. En ellos, la edad estuvo comprendida entre los 11 meses y los 80 años, con una media de $26 \pm 19,2$ años; en los pacientes negativos fue de $32,4 \pm 21,5$ años ($p = 0,071$). Una mayor cantidad de pacientes masculinos 62,7 % presentaron el gen quimérico, pero sin diferencias significativas respecto al sexo femenino (37,3 %).

En los pacientes pediátricos la frecuencia del transcrito fue casi el doble de la de los adultos, 29,2 % y 15,3 %, respectivamente ($p = 0,009$). Cuando la edad se estratificó, hubo una mayor frecuencia del transcrito en pacientes menores de 25 años y dentro de este grupo predominó la mutación en el subgrupo de pacientes con edad igual o superior a los 12 años y menor que 18 años (tabla 1).

Tabla 1. Relación del RUNX1-RUNX1T1 con la edad, en pacientes cubanos con leucemia mieloide aguda

Edad (años)	RUNX1-RUNX1T1		<i>p</i>
	Positivo n= 51 (%)	Negativo n= 200 (%)	
< 25	31 (60,8)	85 (42,5)	0,019 [¶]
≥ 25	20 (39,2)	115(57,5)	
	n= 31 (%)	(n= 85)	
< 1	1 (3,2)	7 (8,2)	0,027 [§]
≥ 1 - < 12	8 (25,8)	35 (41,2)	
≥ 12 - < 18	17 (54,8)	21 (24,7)	
≥ 18 - < 25	5 (16,2)	22 (25,9)	

[¶] Valor de *p*, prueba χ^2 de Pearson.

[§] Valor de *p*, razón de verosimilitudes.

Al analizar la asociación de la mutación FLT3-DIT con el RUNX1-RUNX1T1, solo cinco pacientes portaron ambas mutaciones (12,2 %). Ningún paciente positivo al RUNX1-RUNX1T1, que además se le estudió la fusión CBF β -MYH11, fue positivo a esta última. La mayor asociación estuvo con el NPM1mutA (25 %) (tabla 2).

Tabla 2. Alteraciones moleculares asociadas al RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con leucemia mieloide aguda

Genes	RUNX1-RUNX1T1		<i>p</i>
	Positivo	Negativo	
FLT3 DIT n= 221 (%)			
Positivo	5 (12,2)	28 (15,6)	0,586
Negativo	36 (87,8)	152 (84,4)	
CBF β -MYH11 (n= 202)			
Positivo	0 (0)	9 (5,4)	0,167
Negativo	34 (100)	159 (94,6)	
NPM1-Mut A (n=1 22)			
Positivo	5 (25)	36 (35,3)	0,373
Negativo	15 (75)	66 (64,7)	

*Valor de *p*, medida de acuerdo de Kappa.

Las características hematológicas de presentación de la enfermedad se muestran en la tabla 3. Los pacientes con LMA positivos al RUNX1-RUNX1T1 debutaron con mayor anemia y trombocitopenia, un conteo de leucocitos en un rango menor, un sistema megacariopoyético deprimido e hiperplasia en médula ósea (MO), en relación con los pacientes negativos al gen quimérico.

La clasificación morfológica al debut se muestra en la figura 1A. El RUNX1-RUNX1T1 fue identificado en la mayoría de las variantes morfológicas de la LMA excepto en la M6 y la M7. También fue detectado en cuatro pacientes que habían sido considerados inicialmente como leucemia linfoblástica aguda (LLA) de acuerdo a la apariencia morfológica de sus células leucémicas. Los pacientes clasificados como M3 en los que se demostró el RUNX1-RUNX1T1, fueron negativos al PML-RAR α .

Luego de estas discrepancias en los diagnósticos fue necesaria una reevaluación morfológica (Fig. 1B). Hay que destacar que 42 pacientes que al debut impresionaron tener desde el punto de vista morfológico las características de una leucemia promielocítica, en esta segunda clasificación y gracias al diagnóstico molecular fueron clasificados como LMA no M3. Por otra parte, del total de pacientes identificados como LMA M2, el 72,4 % fueron positivos al RUNX1-RUNX1T1.

En la tabla 4 se muestra la correlación entre los diagnósticos morfológicos al inicio de la LMA y luego del estudio molecular. De todas las discrepancias, la mayor diferencia, con un comportamiento significativo, se concentró entre los diagnósticos morfológicos M2 y M3.

DISCUSIÓN

Frecuencia del gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con LMA

El gen de fusión RUNX1 - RUNX1T1 está presente en aproximadamente el 5 % y el 10 % de todos los casos de LMA,^{18,34} incluso se ha demostrado hasta en el 12 %.^{1-3,12} El porcentaje superior encontrado en la presente serie para todos los pacientes con LMA y también al estratificar la muestra en pediátricos y adultos, pudiera estar relacionado con la no inclusión de pacientes con LMA M3. La mayor frecuencia del transcrito se describe en pacientes con LMA pediátrica (20 %).^{3,12,18,35} En la LMA de adultos se han reportado frecuencias alrededor del 7 %.^{1-2,36-37} Sin embargo, Kihara y colaboradores notificaron una frecuencia del 20,8 %, muy superior a la mayoría de las investigaciones revisadas.³⁸ En ese estudio, los autores no incluyeron las LMA M3, como en la presente investigación.

Principales variables epidemiológicas y moleculares asociadas al gen de fusión RUNX1-RUNX1T1

La incidencia de la LMA con anomalías citogenéticas favorables disminuye con la edad,^{18,39-41} observación que se aplica también para la t(8;21), más frecuente en niños y adultos jóvenes e infrecuente en pacientes con más de 60 años; cuatro pacientes superaron esta cifra en el presente estudio, el mayor con 80 años. A pesar de la baja frecuencia, otros autores también han constatado esta alteración en octogenarios.^{34,42}

En contraste con lo anterior, el RUNX1-RUNX1T1 es más frecuente en niños y adultos jóvenes. En los pacientes cubanos se comportó de igual manera con significación estadística. En todos los subgrupos en que fueron estratificados los pacientes pediátricos, se encontró la translocación, incluido un lactante. Existe la hipótesis de que este gen de fusión se genera desde estadios tan tempranos del desarrollo, como la etapa intrauterina.⁴³ El análisis de leucocitos del cordón umbilical así lo demuestra y se asocia además con la exposición materna a pesticidas.⁴⁴ Una vez generado el RUNX1-RUNX1T1 se requieren nuevos eventos genéticos y epigenéticos para alcanzar el estado leucémico.^{45,46}

Aunque no hay relación demostrada de esta alteración molecular con el sexo, en este estudio el sexo masculino estuvo mayormente representado, pero sin ninguna significación estadística. Dicho comportamiento pudiera estar vinculado con la mayor incidencia de la LMA en pacientes varones en general.^{2-3,34,42,47}

Luego del compromiso del gen de la proteína tirosina quinasa (KIT, por sus siglas en inglés), los genes que se asocian al RUNX1-RUNX1T1 con mayor frecuencia son: NRAS y ASXL1, aunque muchos otros están descritos.^{17,34,47} La FLT3-DIT se manifiesta con una frecuencia relativamente baja (5 %) en conjunto con el RUNX1-RUNX1T1.^{18,20,25,34} Sin embargo, está descrita en el 20-25 % de todas las LMA, mayormente en aquellas con citogenética normal (28-34 %) ^{38,48} y en una proporción significativa de pacientes con LMA, y las translocaciones t(15;17) y t(6;9).⁷⁷ Prabahan y colaboradores en una serie de pacientes con LMA de tipo factor de unión al núcleo (CBF, por sus siglas en inglés) encontró una frecuencia superior al 7,4 %.⁴⁹ Estudios más recientes identificaron una alta incidencia de mutaciones en genes de tipo tirosina quinasa, incluido el FLT3, en pacientes con LMA de tipo CBF,^{50,51} y las catalogaron como los eventos más frecuentes en este tipo de leucemias.¹⁷ Específicamente la FLT3-DIT ocurrió en el 10 % de los pacientes positivos al RUNX1-RUNX1T1,¹⁷ similar a lo reportado en esta investigación. Las alteraciones del gen NPM1 se encuentran presentes con una alta frecuencia en la LMA (25-53 %) que asciende en las LMA con citogenética normal hasta el 67 %.⁵² Algunos autores han planteado que las alteraciones del NPM1 son mutuamente excluyentes con la fusión RUNX1-RUNX1T1 en pacientes con LMA de *novo*.^{17,34,38,52} Sin embargo, en situaciones de mayor inestabilidad cromosómica, se ha descrito la combinación,^{53,54} lo que pudiera justificar el hallazgo en 5 pacientes de la presente serie. Por otra parte, las mutaciones del NPM1 pueden concomitar con las del FLT3 hasta en el 39 % de los casos,^{52,55} evidenciando mayor desorden clonal y gravedad desde el punto de vista molecular. Ningún paciente positivo al RUNX1-RUNX1T1 presentó el CBF-MYH 11, en coincidencia con la bibliografía.^{17-18,51,56-58}

Características hematológicas de presentación de la LMA de acuerdo al gen de fusión RUNX1-RUNX1T1

La LMA positiva al transcrito RUNX1-RUNX1T1 destaca por sus particularidades hematológicas al inicio de la enfermedad. Habitualmente se constata un conteo de leucocitos en sangre periférica y un conteo de blastos en MO inferior al resto de las LMA e incluso menor que la LMA positiva al CBF β -MYH11.^{17-18,34} En general, la leucocitosis es considerada como un factor pronóstico adverso en la LMA RUNX1-RUNX1T1 positiva, ya sea sola o combinada con un incremento de los blastos en MO.^{18,58}

El incremento de la celularidad, así como la depresión del sistema megacariopoyético en MO son elementos habituales en la LMA en general y está relacionado con la proliferación de células leucémicas y el deterioro de la normal hematopoyesis.^{1-3,36} Sin embargo, Shin y colaboradores demostraron que en el caso particular de la LMA RUNX1-RUNX1T1 positiva, la elevada celularidad en MO es (de manera individual) el parámetro más importante para estimar el riesgo en estos pacientes.⁵⁹

En la presente investigación los pacientes con LMA positivos al RUNX1-RUNX1T1 presentaron más anemia y trombocitopenia al inicio de la enfermedad que los negativos. Llama la atención que no hubo diferencias significativas en el porcentaje de blastos en MO con una mediana del 70 % para ambos grupos. La gran infiltración medular por células leucémicas en pacientes positivos al gen quimérico pudiera estar en relación con la presencia de otras alteraciones moleculares que no fue posible evaluar en el presente estudio o que el debut de la enfermedad ocurrió en la mayoría de los casos en un estadio avanzado de la enfermedad, lo que justificaría la anemia moderada y trombocitopenia grave por desplazamiento de los precursores hematopoyéticos normales en la MO infiltrada.^{1-3, 17-18, 34, 36} El sistema megacariopoyético deprimido y la hiper celularidad en MO, también identificaron el comportamiento hematológico de los pacientes positivos al gen quimérico al inicio de la enfermedad en esta investigación.

Correspondencia entre los criterios diagnósticos: morfológicos y moleculares en la LMA positiva al RUNX1-RUNX1T1, en paciente cubanos

El gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 está presente en el 29 al 40 % de los casos de la LMA con maduración, correspondientes al tipo M2 de la clasificación FAB.^{2,12} Gritsaev describió hasta el 82 % de los casos positivos al RUNX1-RUNX1T1 como M2⁶⁰ y Krauth hasta el 68,2 %.³⁴ Pacientes con otras variantes morfológicas como la M1, M4, M5 y M6, también han resultado portadores de la alteración genética, aunque en muy bajo porcentaje.^{12,20,34,60}

En la presente investigación, luego del diagnóstico definitivo, el 72,4 % de los pacientes clasificados morfológicamente como M2 fueron positivos al gen de fusión. Este resultado pudo estar influenciado por el grupo de pacientes que se mantuvo con el diagnóstico de LMA sin clasificar. Similar a lo descrito en la literatura, el gen de fusión también se constató en otras variantes morfológicas en el presente estudio.^{42,48,52}

La morfología de las células hematopoyéticas de los pacientes con esta alteración molecular se caracteriza por blastos de mediano a gran tamaño, con citoplasma basófilo, inclusiones citoplasmáticas de color salmón e incremento de los precursores eosinófilos. Se aprecian algunos signos de displasia mieloide. La presencia de bastones de Auer es extremadamente frecuente y pueden aparecer en los blastos o en los neutrófilos inmaduros.^{1-3,18} Estas características también pueden estar presentes en otras variantes de la LMA. La presencia de bastones de Auer junto con otros elementos morfológicos y clínicos son típicos de la leucemia promielocítica aguda, variante M3 de la clasificación FAB, lo que pudiera justificar la interpretación inicial del medulograma en un grupo de estos pacientes al debut de la enfermedad; sin embargo, el resultado negativo de la translocación (15;17) a punto de partida del gen de fusión PML-RAR α , que se describe en el 95 % de estos casos, descartó esta variante de LMA en un elevado porcentaje. También hubo una dudosa interpretación en la morfología de los blastos en cuatro pacientes que fueron en un inicio considerados como LLA. La confirmación de la presencia del gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 para estos pacientes con diagnóstico controversial, permitió su reclasificación y la modificación oportuna de la estrategia terapéutica en cada caso.

La LMA con gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 positivo es una entidad con características específicas dentro de las neoplasias mieloides y al mismo tiempo es un grupo heterogéneo con respecto a la naturaleza morfológica de células blásticas.

En pacientes cubanos con LMA, el gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 es más frecuente en niños y adultos jóvenes, su expresión no tiene relación con el sexo y puede estar acompañado por otros marcadores moleculares mieloides; el debut de la enfermedad se caracteriza por anemia moderada, trombocitopenia grave y gran infiltración medular. La apariencia morfológica de las células leucémicas con el gen quimérico RUNX1-RUNX1T1 guarda semejanza con la variante M3 de la LMA, lo que puede ser motivo de discrepancia en el diagnóstico y evidencia la obligatoriedad de los estudios moleculares en estos casos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal J, Levi MM, Press O, Burns L, et al. Acute Myelogenous Leukemia. In: William's Hematology. 9th Ed. New York: McGraw-Hill; 2016.
2. Emadi A, Baer MR. Acute Myeloid Leukemia in Adults. In: Wintrobe's Clinical Hematology. 13th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2014. p. 1577-615.
3. Arceci RJ. Acute Myelogenous Leukemia in Children. In: Wintrobe's Clinical Hematology. 13th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2014. p. 1637-55.

4. Garrote Santana H, Lavaut Sánchez K, Amor Vigil AM, Díaz Alonso C, Fernández Martínez L, Ruiz Moleón V, et al. Cinco décadas de la biología molecular y la citogenética aplicadas a la hematología cubana. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2017 Mar [citado 2018 Ene 19];33(1):1-8. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892017000100004&lng=es
5. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 Aug;33(4):451-8.
6. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391-405.
7. Yohe S. Molecular Genetic Markers in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Med*. 2015 Mar;4(3):460-78.
8. Manivannan P, Puri V, Somasundaram V, Purohit A, Sharma RK, Dabas M, et al. Can threshold for MPO by flow cytometry be reduced in classifying acute leukaemia? A comparison of flow cytometric and cytochemical myeloperoxidase using different flow cytometric cut-offs. *Hematology*. 2015;20(8):455-61.
9. Wang X. Advances and issues in flow cytometric detection of immunophenotypic changes and genomic rearrangements in acute pediatric leukemia. *Transl Pediatr* 2014;3(2):149-55.
10. Soriano I, Vásquez E, Niquén S, Fernández M, Castañeda K, Fernández J. Caracterización inmunofenotípica de leucemias agudas diagnosticadas en un Hospital Nivel III en el periodo 2010-2013, Chiclayo-Perú. *Rev Cuerpo Méd HNAAA*. 2015;8(1):5-9.
11. Hu L, Ru K, Zhang L, Huang Y, Zhu X, Liu H, et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH): an increasingly demanded tool for biomarker research and personalized medicine. *Biomark Res*. 2014 Feb 5;2(1):3.
12. 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 the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia*. 1999 Dec;13(12):1901-28.

13. Luthra R, Patel KP, Reddy NG, Haghshenas V, Routbort MJ, Harmon MA, et al. Next-generation sequencing-based multigene mutational screening for acute myeloid leukemia using MiSeq: applicability for diagnostics and disease monitoring. *Haematologica*. 2014 Mar;99(3):465-73.
14. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Lee Harris N, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2375-90.
15. Soares Almeida AL, Campos de Azevedo I, de Souza Rego Pinto Carvalho DP, Fortes Vitor A, Pereira Santos VE, Ferreira Jr MA. Clinical and epidemiological aspects of leukemias. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2017 Jun [citado 2017 Ago 8];33(2):1-14. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892017000200006&lng=es
16. Rowley JD. Identification of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Ann Genet*. 1973;16(2):109-12.
17. Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, Petit A, Bucci M, Geffroy S, et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 2016 May;127(20):2451-9.
18. Reikvam H, Hatfield KJ, Kittang AO, Hovland R, Bruserud O. Acute myeloid leukemia with the t(8;21) translocation: clinical consequences and biological implications. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:1-23.
19. Sakurai M, Kunimoto H, Watanabe N, Fukuchi Y, Yuasa S, Yamazaki S, et al. Impaired hematopoietic differentiation of RUNX1-mutated induced pluripotent stem cells derived from FPD/AML patients. *Leukemia*. 2014;28:2344-54.
20. Garrote H, Amor AM, Díaz CA, Suárez Y, Arencibia A. Runx1-Runx1t1: comportamiento en pacientes con leucemia mieloide aguda en nuestro medio. *Rev Cubana de Hematol Inmunol Hemoter*. 2015;31(4):417-25.
21. Bidet A, Laharanne E, Achard S, Migeon M, Moreau C, Lippert E, et al. Analysis of RUNX1 rearrangements: insights into leukaemogenesis mechanisms. *Br J Haematol*. 2016 Nov;175(4):738-40.
22. Conway E, Prideaux E, Chevassut T. The Epigenetic Landscape of Acute Myeloid Leukemia. *Adv Hematol*. 2014 Mar;23:1-15.

23. Antony-Debré I, Manchev VT, Balayn N, Bluteau D, Tomowiak C, Legrand C, et al. Level of RUNX1 activity is critical for leukemic predisposition but not for thrombocytopenia. *Blood*. 2015 Feb;125(6):930-40.
24. Rodríguez-Perales S, Torres-Ruiz R, Suela J, Acquadro F, Martín MC, Yebra E, et al. Truncated RUNX1 protein generated by a novel t(1;21)(p32;q22) chromosomal translocation impairs the proliferation and differentiation of human hematopoietic progenitors. *Oncogene*. 2016 Jan;35(1):125-34.
25. Garrote H, Amor AM, Díaz CA, Suárez Y, Gómez M. Gen de fusión AML1-ETO: particularidades en la leucemia mieloide aguda. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2014;30(2):98-107.
26. Fernández L. Consideraciones sobre la fase preanalítica en los estudios moleculares de las hemopatías malignas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2017 Jun [citado 2018 Ene 19];33(2):1-4. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892017000200013&lng=es
27. Díaz C, Garrote H, Amor AM, Suárez Y, González R. Cuantificación de ácido ribonucleico para la realización de la técnica de RT-PCR. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2013 Sep;29(3):298-303.
28. Díaz C, Garrote H, Amor AM, Suárez Y, Fernández L, Ruiz V. Nuevos métodos de extracción de ácidos ribonucleicos (ARN): herramientas básicas en la biología molecular. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [revista en Internet]. 2015 [citado 2017 Ago 8];31(4):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/349>
29. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. Molecular cloning. In: *Laboratory Manual*. 1st Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory; 1982.
30. Nakao M, Iwai T, Kaneko H, Horiike S, Kashima K, Sonoda Y, et al. Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1996 Dec;10(12):1911-8.
31. Ottone T, Ammatuna E, Lavorgna S, Noguera NI, Buccisano F, Vendittiet A, et al. An allele-specific RT-PCR assay to detect type A mutation of the nucleophosmin-1 gene in acute myeloid leukemia. *J Mol Diagnostics*. 2008 May;10(3):212-6.
32. Ruiz V, Garrote H, Díaz CA, Fernández L, Amor AM. Electroforesis capilar: nueva técnica en el Instituto de Hematología e Inmunología para el análisis de marcadores oncohematológicos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [revista en Internet]. 2017 [citado 2018 Ene 19];33(3):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/538>
33. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191-4.

34. Krauth MT, Eder C, Alpermann T, Bacher U, Nadarajah N, Kern W, et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: frequency and impact on clinical outcome. *Leukemia*. 2014 Jul;28(7):1449-58.
35. Shiba N, Yoshida K, Shiraishi Y, Okuno Y, Yamato G, Hara Y, et al. Whole-exome sequencing reveals the spectrum of gene mutations and the clonal evolution patterns in paediatric acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2016 Nov;175(3):476-89.
36. Sanz MA, Carreras E. *Manual Práctico de Hematología Clínica*. 5ta ed. Molins de Rei: Antares; 2015.
37. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 2010 Jul;116(3):354-65.
38. Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H, Kato T, Yamamoto E, Suzuki K, et al. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. *Leukemia*. 2014 Aug;28(8):1586-95.
39. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2488-98.
40. Genovese G, Jaiswal S, Ebert BL, McCarroll SA. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk. *N Engl J Med*. 2015 Mar;372(11):1071-2.
41. Scherer F, Kurtz DM, Diehn M, Alizadeh AA. High-throughput sequencing for noninvasive disease detection in hematologic malignancies. *Blood*. 2017 Jul;130(4):440-52.
42. Gaidzik VI, Teleanu V, Papaemmanuil E, Weber D, Paschka P, Hahn J. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia are associated with distinct clinic-pathologic and genetic features. *Leukemia*. 2016;30:2160-8.
43. Wiemels JL, Xiao Z, Buffler PA, Maia AT, Ma X, Dicks BM, et al. In utero origin of t(8;21) AML1-ETO translocations in childhood acute myeloid leukemia. *Blood*. 2002 May;99(10):3801-5.
44. Lafiura KM, Bielawski DM, Posecion NC Jr, Ostrea EM Jr, Matherly LH, Taub JW, et al. Association between prenatal pesticide exposures and the generation of leukemia-associated T(8;21). *Pediatr Blood Cancer*. 2007 Oct49(5):624-8.
45. Minucci S. DNA binding modes of leukemia oncoproteins. *Blood*. 2016 Jan;127(2):177-8.
46. Li Y, Wang H, Wang X, Jin W, Tan Y, Fang H, et al. Genome-wide studies identify a novel interplay between AML1 and AML1/ETO in t(8;21) acute myeloid leukemia. *Blood*. 2016 Jan;127(2):233-42.

47. Qin YZ, Wang Y, Xu LP, Zhang XH, Chen H, Han W, et al. The dynamics of RUNX1-RUNX1T1 transcript levels after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation predict relapse in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol.* 2017 Feb;10(1):44.
48. Medinger M, Passweg JR. Acute myeloid leukaemia genomics. *Br J Haematol.* 2017 Nov;179(4):530-42.
49. Falini B, Sportoletti P, Brunetti L, Martelli MP. Perspectives for therapeutic targeting of gene mutations in acute myeloid leukaemia with normal cytogenetics. *Br J Haematol.* 2015 Aug;170(3):305-22.
50. Qin YZ, Zhu HH, Jiang Q, Jiang H, Zhang LP, Xu LP, et al. Prevalence and prognostic significance of c-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia: a comprehensive large-scale study from a single Chinese center. *Leuk Res.* 2014 Dec;38(12):1435-40.
51. Sood R, Kamikubo Y, Liu P. Role of RUNX1 in hematological malignancies. *Blood.* 2017 April;129(15):2070-81.
52. Wang M, Yang C, Zhang L, Schaar DG. Molecular mutations and their co-occurrences in cytogenetically normal Acute Myeloid Leukemia. *Stem Cells International.* 2017; 2017:1-11.
53. Amor-Vigil AM, Díaz-Alonso CA, Hernández-Cabezas A, Marsán-Suárez V, Garrote-Santana H, Espinosa-Martínez E. Gen de fusión AML-1/ETO y mutación NPM-1A en leucemia mieloide crónica en crisis blástica mieloide. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet].* 2015 Mar [citado 2017 Ago 8];31(1):71-78. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892015000100009&lng=es
54. Balatzenko G, Spassov B, Stoyanov N, Ganeva P, Dikov T, Konstantinov S, et al. NPM1 Gene Type A Mutation in Bulgarian Adults with Acute Myeloid Leukemia: A Single-Institution Study. *Turk J Hematol.* 2014 Mar;31(1):40-8.
55. Papaemmanuil E, Döhner H, Campbell PJ. Genomic Classification in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2016 Sep;375(9):900-1.
56. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and Management of AML in Adults: 2017 ELN Recommendations from an International Expert Panel. *Blood.* 2017 Jan;129(4):42447.
57. Prabahan AA, Tacey M, Fleming S, Strong D, Wei A, Tate C, et al. Prognostic Markers in Core-Binding Factor Acute Myeloid Leukaemia. *Blood.* 2015;126:25-99.
58. Liersch R, Müller-Tidow C, Berdel WE, Krug U. Prognostic factors for acute myeloid leukaemia in adults - biological significance and clinical use. *Br J Haematol.* 2014 Apr;165(1):17-38.

59. Shin HJ, Chung J, Kim HJ, Sohn SK, MinYH, Won JH et al. Bone marrow cellularity is a single most important independent prognostic factor in AML patients with t(8;21). Blood. 2010;116(21):1707.

60. Gritsaev SV, Martynkevich IS, Ziuzgin IS, Kariagina EV, Martynenko LS, Petrova EV, et al. Heterogeneity of acute myeloid leukemia with the translocation t(8;21)(q22;q22). TerArkh. 2014; 86(7):45-52.

Recibido: 18 de abril de 2018.

Aprobado: 28 de agosto de 2018.

Dra. Heidys Garrote Santana. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba.

Correo electrónico: rhematologia@infomed.sld.cu