

# Frecuencia de los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 con leucemia linfoblástica aguda de células B

## Frequency of BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, and TEL-AML1 fusion genes in B-cell acute lymphoblastic leukemia

Francisco Sánchez-Pinto<sup>1a</sup> ✉ , Gioconda Manassero<sup>2b</sup> , Mónica Carola Correa Guerrero<sup>1c</sup> ,  
Guillermo Frank Romero Guerra<sup>1d</sup> , Julissa Fuentes Vera<sup>1d</sup>

### Filiación y grado académico

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja (INSNSB), Lima, Perú.

<sup>2</sup> Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

<sup>a</sup> Maestro en Genética Humana.

<sup>b</sup> Doctor en Medicina.

<sup>c</sup> Maestro en Bioquímica y Biología molecular.

<sup>d</sup> Biólogo Genetista Biotecnólogo.

### Contribución de autoría

**FSP:** diseño del estudio, desarrollo de la metodología de investigación, análisis de los datos, redacción, revisión y edición final del artículo.

**GMM:** supervisión, planificación y ejecución del artículo.

**MCG:** análisis e interpretación de los datos, revisión crítica del contenido final y aprobación de la versión final.

**GRG:** análisis e interpretación de los datos, revisión crítica del contenido final y aprobación de la versión final.

**JFV:** análisis e interpretación de los datos, revisión crítica del contenido final y aprobación de la versión final.

### Fuentes de financiamiento

La investigación fue realizada con recursos propios.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

**Recibido:** 05-12-2022

**Aceptado:** 06-02-2023

**Publicado en línea:** 23-02-2023

### Citar como

Sánchez-Pinto F, Manassero G, Correa Guerrero MC, Romero Guerra GF, Fuentes Vera J. Frecuencia de los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 en la leucemia linfoblástica aguda de células B. Rev Peru Cienc Salud. 2023;5(1):7-15. doi: <https://doi.org/10.37711/rpcs.2023.5.1.402>

### Correspondencia

Francisco José Melchor Sánchez Pinto  
Dirección: Calle Mariano Carranza 648 –  
Dpto. 408 – Cercado de Lima. Lima, Perú.  
Código postal: 51  
Teléfono: 992397527  
Email: fsanchezp@insnsb.gob.pe

## RESUMEN

**Objetivo.** Describir la frecuencia de los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 en pacientes con leucemia linfoblástica aguda de células B en el Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja, Lima (Perú). **Métodos.** Se estudiaron 375 muestras de pacientes pediátricos diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda de células B, recibidas en el Servicio de Genética, la cuales se detectaron los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 en médula ósea o sangre periférica, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR). **Resultados.** Del total de muestras, 58 fueron positivas para los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4 y TEL-AML1, las cuales tuvieron siguientes frecuencias: 2,13 %, 4,53 %, 0,53 % y 8,27 %, respectivamente. **Conclusiones.** El gen de fusión TEL-AML1 es el más frecuente en nuestra población pediátrica, el cual está asociado con un pronóstico favorable.

**Palabras clave:** leucemia linfoblástica; pediatría; biología molecular; citogenética; inmunofenotipificación (Fuente: DeCS - BIREME).

## ABSTRACT

**Objective.** To describe the frequency of BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, and TEL-AML1 fusion genes in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia at the *Instituto Nacional de Salud del Niño* of San Borja, Lima (Peru). **Methods.** We studied 375 samples from pediatric patients diagnosed with B-cell acute lymphoblastic leukemia, received at the Genetics Service, in which BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, and TEL-AML1 fusion genes were detected in bone marrow or peripheral blood, using reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results.** Of the total samples, 58 were positive for BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, and TEL-AML1 fusion genes, which had the following frequencies: 2.13%, 4.53%, 0.53%, and 8.27%, respectively. **Conclusions.** The TEL-AML1 fusion gene is the most frequent in our pediatric population, which is associated with a favorable prognosis.

**Keywords:** lymphoblastic leukemia; pediatrics; molecular biology; cytogenetics; immunophenotyping (Source: MeSH - NLM).

## INTRODUCCIÓN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el tipo de cáncer más frecuente en pacientes pediátricos, la cual ha obtenido mejoras en la supervivencia con una alta tasa de curación a través de los ensayos clínicos <sup>(1)</sup>. El proceso en el que se desarrolla la LLA radica en la proliferación descontrolada anormal de los glóbulos blancos o leucocitos en la fuente madre que es la médula ósea (MO); luego, en la sangre periférica (SP) se va esparciendo a través de otros tejidos <sup>(2)</sup>. Las características clínicas más comunes de esta enfermedad son las hemorragias, petequias y equimosis, fiebre, aparición de moretones y dolor óseo <sup>(3)</sup>, lo que conlleva a una rápida atención de emergencia, como un oportuno tratamiento según el tipo de leucemia que presente el paciente pediátrico.

La LLA de célula B es el tipo más común en la LLA en niños. Numerosos avances en la patogénesis han proporcionado una mejor comprensión de los genes implicados en la biología de la enfermedad con respecto a las implicaciones de diagnóstico y pronóstico. Las alteraciones genéticas más frecuentes de esta patología son los siguientes genes de fusión: BCR/ABL1 (variantes p210 y p190), E2A/PBX1(TCF3/PBX1), MLL/AF4 (KMT2A-AFF1) y TEL/AML1 (ETV6-RUNX1), que corresponden a las siguientes translocaciones citogenéticas: t(9;22)(q34;q11), t(1;19)(q23;p13), t(4;11)(q21;q23) y t(12;21)(p13;q22), respectivamente <sup>(4,5)</sup>.

Las variables pronósticas bien establecidas incluyen factores del paciente como la edad, recuento inicial de leucocitos ( $\frac{10^3}{\text{mm}^3}$ ), las características genéticas e inmunofenotípicas del blasto leucémico y la respuesta individual a la terapia <sup>(6)</sup>.

En el contexto del desarrollo de la biología molecular a nivel nacional, la frecuencia de los genes de fusión en la población pediátrica con LLA de células B es de suma importancia. Es así que la caracterización molecular de los transcritos de fusión y su asociación con los estudios complementarios de la citogenética y la inmunofenotipificación nos permitirán identificar el manejo adecuado en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de las LLA en el Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja (INSNSB).

## MÉTODOS

### Tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo en el Instituto Nacional de Salud del

Niño de San Borja, desde el 1 de enero del 2016 al 31 de diciembre del 2020.

### Población y muestra

Se recolectó una población muestral de 375 casos de pacientes menores de 18 años que cumplieran los criterios de una LLA de células B; los cuales ingresaron al área de genética molecular del Servicio de Genética del INSNSB para un estudio de diagnóstico para el panel molecular de los genes de fusión BCR/ABL1 (p210 y p190), E2A/PBX1, MLL/AF4 y TEL/AML1.

### Instrumentos de recolección de datos

Se identificó a los pacientes con diagnóstico de LLA de células B, a través de la revisión de resultados de genética molecular, citogenética, citometría de flujo y recuento leucocitario, observando que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión. Se determinó al paciente por un código numérico para mantener la confidencialidad de la información. Se realizó la búsqueda de datos demográficos y laboratoriales (moleculares, citogenéticos, citometría de flujo, recuento leucocitario y tipo de muestra) en el sistema informático del INSNSB, Sis Galen Plus. Los datos se colocaron en una ficha de recolección de datos como instrumento, el cual fue validado mediante un acta de factibilidad y viabilidad de la Subunidad de Investigación e Innovación Tecnológica (SUIIT) del INSNSB.

### Procedimientos de la recolección de información

Se realizó una descripción de las variables demográficas y laboratoriales, empleándose porcentajes y frecuencias absolutas para las variables cualitativas (sexo, tipo de muestra, gen de fusión, estadio madurativo y citogenética) y medidas de tendencia central como la media y desviación estándar o mediana, para las variables cuantitativas (edad y recuento leucocitario), según se ajusten o no a una distribución normal.

### Análisis de datos

Se utilizó la estadística descriptiva a partir de las medidas de tendencia central mediante el software de análisis estadístico SPSS 26.

### Aspectos éticos

El presente trabajo de investigación no requirió de un enrolamiento activo de ningún paciente, por lo que para la recolección de datos se solicitó la aprobación del Comité de Ética del INSNSB. La información obtenida se guardó en la captura

electrónica de datos de investigación (REDCap) para el almacenamiento de la información digital bajo códigos específicos creada para este estudio.

### Extracción y cuantificación de ARN

Para extraer el ácido ribonucleico (ARN) se utilizó sangre total, la cual fue sometida a una solución monofásica de fenol y tiocianato de guanidina (método fenol/cloroformo); luego, el ARN fue resuspendido en agua de grado molecular <sup>(7)</sup>. Para la cuantificación del ARN se utilizó el kit de ensayo Qubit RNA BR (amplio rango) de Life Technologies (Q33230) en un fluorómetro Qubit (v2. Invitrogen by Life Technologies).

A continuación, el ARN fue sometido a la elaboración de su ADN complementario (cDNA), el cual es necesario para su amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La síntesis de cDNA y la PCR en conjunto es llamada RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa).

### Síntesis del cDNA

Para la elaboración del cDNA, la cuantificación de ARN final en la estandarización en nuestro laboratorio fue 600 ng/μl para cada muestra. Para este proceso se utilizó la ProtoScript® II Reverse Transcriptase de New England Biolabs, en dos pasos. Se trabajó con 20 μL para cada muestra en un tubo de PCR (0,2 mL). Para el primer paso, se utilizó 600 ng de RNA de templado (3 μL en la mezcla final), 2 μL *random primer* Mix y 3 μL de agua de grado molecular. Luego, el tubo de PCR con toda la mezcla se introdujo en el termociclador a 65 °C durante 5 minutos. En el segundo paso se agregó 10 μL de Buffer 5X y 2 μL de la transcriptasa reversa; y finalmente fue colocado en el termociclador, donde se incubó la mezcla de 20 μL a 25 °C durante 5 minutos y luego a 42 °C durante una hora; posteriormente, para la inactivación de la enzima, la temperatura y minutos fue a 65 °C durante 20 minutos respectivamente. Por último, el cDNA producido se utilizó para la PCR o se guardó a -20°C, para su próximo uso.

### PCR

Como control interno o *housekeeping* de amplificación de la PCR en leucemias se utilizó el gen *ABL1*.

*Primers ABL1* (Control Interno):  
5' ATCTGCCTGAAGCTGGTGGGCT 3'  
5' TGTGATTATAGCCTAAGACCCGGAG 3'

Para las amplificaciones específicas, los *primers* o cebadores de los genes de fusión utilizados para nuestro estudio de la PCR fueron los siguientes <sup>(4)</sup>:

*Primers* BCR-ABL1 (p210):  
5'-GAAGTGTTCAGAAGCTTCTCC-3' (*Forward*)  
5'-GTTTGGGCTTCACACCATTCC3' (*Reverse*)

*Primers* BCR-ABL1 (p190):  
5'-GACTGCAGCTCCAATGAGAAC-3' (*Forward*),  
5'-GTTTGGGCTTCACACCATTCC-3' (*Reverse*)

*Primers* E2A-PBX1:  
5'-CACCAGCCTCATGCACAAC-3' (*Forward*)  
5'-TCGCAGGAGATTCATCACG-3' (*Reverse*)

*Primers* MLL-AF4:  
5'-CCGCCTCAGCCACCTAC-3' (*Forward*)  
5'-TGTCAGTGAAGGTCG-3' (*Reverse*)

*Primers* TEL-AML1:  
5'-TGCACCCTCTGATCCTGAAC-3' (*Forward*)  
5'-AACGCCTCGCTCATCTTGC-3' (*Reverse*)

Para las reacciones de la PCR en un tubo de PCR de 0,2 mL, con un volumen final de 25 μL, se utilizó 3 μL de cDNA y las concentraciones finales de 400 ηM (*primer forward* y *reverse*), 2,5 mM de dNTP, Buffer a 1X, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> y 1 U de Taq polimerasa. El tubo de PCR se colocó en el termociclador con la siguiente programación: una desnaturalización inicial de 4 min a 95 °C seguida de 35 ciclos de: 94 °C por 30 seg, 65 °C por 1 min y 72 °C por 1 min, más 1 min de extensión final a 16 °C.

### Electroforesis

Los productos de PCR fueron sometidos a una electroforesis, para el cual fue utilizado un gel de agarosa al 2 %. A las muestras se les añadió una tinción *Safe-Green* (abm), la cual contiene el colorante de carga 6X. Para la visualización de los amplicones se utilizó un transiluminador. El marcador de peso molecular (PM) se utilizó con un tamaño de 100 pb a 1 kb. Asimismo, se realizó una comparación con la citogenética mediante el bandeado GTG (giemsa-tripsina-giemsa).

Las fotografías digitalizadas de los geles se archivaron debidamente siendo codificadas en carpetas de un computador. Los datos de los estudios citogenéticos, citometría de flujo y del conteo de leucocitos fueron obtenidos de la misma institución.

## RESULTADOS

De las 375 muestras ingresadas al área de genética molecular, para los rearrreglos moleculares correspondientes a los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1: en 58 muestras se detectó la positividad para uno de los genes de fusión del panel LLA de células B del periodo 2016 - 2020, mientras que en 317 el resultado fue negativo para los cuatro rearrreglos moleculares.

De las 58 muestras positivas se analizaron las características generales, como la edad, sexo y el tipo de muestra. Asimismo, se añadió la característica clínica del conteo leucocitario y el inmunofenotipo de cada muestra. Para los genes BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 se observó una edad promedio de 13,9, 10,6, 5 y 8 años, respectivamente. El mayor número de individuos fue del sexo masculino con 40 pacientes con respecto al femenino con 18 pacientes. El tipo de muestra de todos los positivos estuvo representada igualmente por médula ósea (MO) y de sangre periférica (SP), con 29 casos cada una. El recuento de leucocitos promedio para los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 fue  $108,2 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ ,  $55,3 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ ,  $155,6 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$  y  $19,1 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ , respectivamente, con un promedio total de  $84,6 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ . El recuento de leucocitos promedio para los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 fue  $108,2 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ ,  $55,3 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ ,  $155,6 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$  y  $19,1 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ , respectivamente, con un promedio total de

$84,6 \times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$ . La distribución de los inmunofenotipos analizados por citometría de flujo fue la siguiente: 26 común, 19 Pre-B, 3 de Pro-B y 10 de estadio maduro (ver Tabla 1).

Con respecto a las 375 muestras procesadas, en el gen de fusión BCR-ABL1, este se detectó en 8/375 (2,13 %) niños; asimismo, en 6 de estos 8 pacientes se observó la t(9;22)(q34;q11) en citogenética. Con respecto al gen de fusión E2A-PBX1, este se encontró en 17/375 (4,53 %) niños; de los positivos de estos pacientes, se observó en 9 de ellos la t(1;19)(q23;p13) en el cariotipo. El gen de fusión MLL-AF4 se detectó en 2/375 (0,53 %) niños; de igual manera, se observó la t(4;11)(q21;q23) en el cariotipo. Para el gen de fusión TEL-AML1, este se detectó en 31/375 (8,27 %) niños, no detectándose la t(12;21)(p13;q22) en la citogenética (ver Tabla 2).

Para el BCR/ABL1 se consideró como imagen en la electroforesis a la variante p190, la cual fue más prevalente en nuestro estudio y se asocia principalmente a las LLA en pacientes pediátricos<sup>(8)</sup> (ver Figura 1A); es así que para este gen de fusión se puede observar su tamaño de amplificación de 521 pb con su control interno (ABL1) de un tamaño de 277 pb, y los controles negativos. La citogenética (ver Figura 1B y 1C) pudo correlacionar esta positividad mediante la translocación t(9;22)(q34;q11.2), la cual se encontró en un cariotipo complejo en dos de las tres líneas celulares (ver Figura 1B y 1C). La tercera línea celular, la cual fue normal (46,XY), no se consideró en la figura para la visualización.

**Tabla 1.** Características generales e inmunofenotipos de los pacientes positivos con LLA, clasificados según los genes de fusión en BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1

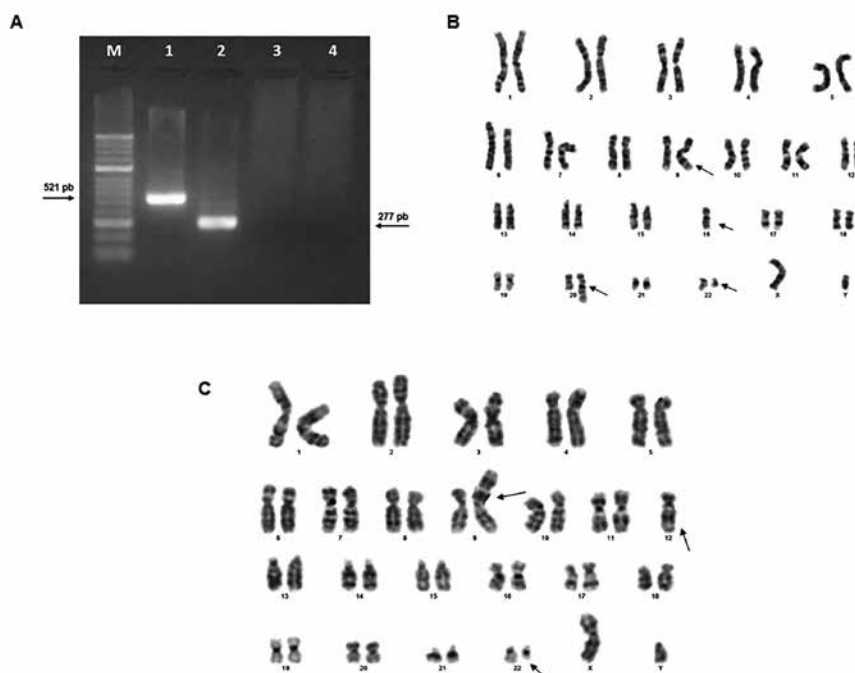
Parámetros	BCR-ABL1	E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)	MLL-AF4 KMT2A-AFF1	TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)	Total
n	8	17	2	31	58
Edad promedio (años)	13,9	10,6	5	8	9,4
Sexo (F/M)	2/6	6/11	0/2	10/21	18/40
Muestra (MO/SP)	3/5	7/10	2/0	17/14	29/29
Promedio conteo de leucocitos $\times \frac{10^3}{\text{mm}^3}$	108,2	55,3	155,6	19,1	84,6
Inmuno fenotipo					
Común	5	1	0	20	26
Pre - B	0	15	0	4	19
Pro - B	1	0	2	0	3
Maduro	2	1	0	7	10

**Tabla 2.** Distribución de los genes de fusión positivos BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, y TEL-AML1 de pacientes del INSNSB (2016-2020), asociados con las translocaciones cromosómicas detectadas por citogenética convencional

Prueba de laboratorio	Genes de fusión (BM) y citogenética (CT)	N	%
Biología molecular (BM)	BCR-ABL1	8	2,13
	E2A-PBX1(TCF3-PBX1)	17	4,53
	MLL-AF4 (KMT2A-AFF1)	2	0,53
	TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)	31	8,27
	Negativo	317	84,54
Citogenética (CT)	Total	375	100
	t(9;22)(q34;q11)	6	1,67
	t(1;19)(q23;p13)	9	2,51
	t(4;11)(q21;q23)	2	0,56
	t(12;21)(p13;q22)	0	0
	Otras alteraciones (numéricas y/o estructurales)	275	76,6
	No crecimiento celular	67	18,66
Total	359	100	

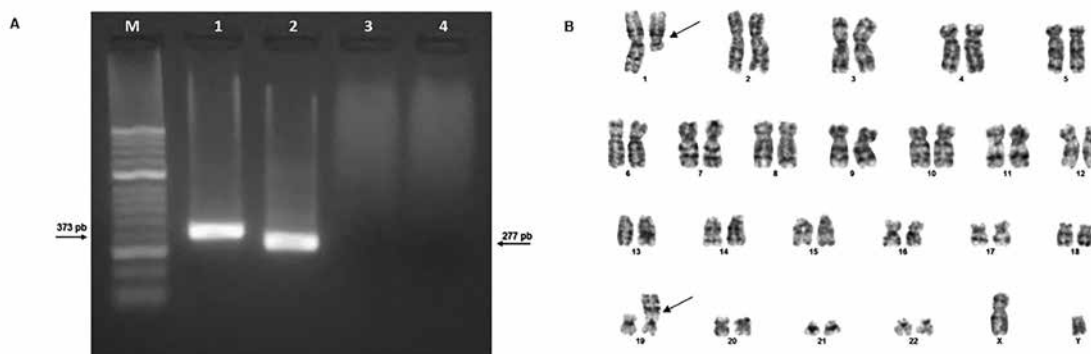
En el caso de E2A-PBX1(TCF3-PBX1) se puede observar un tamaño de 373 pb con su control interno (ABL1) de un tamaño de 277 pb; y los controles negativos (ver Figura 2A). La citogenética (ver Figura 2B), se asoció con la t(1;19)(q23;p13), la cual se encontró en la primera de las dos líneas celulares reportadas en el diagnóstico. La segunda línea celular, la cual fue normal (46,XY), no se consideró en la figura para la visualización.

Para el gen de fusión MLL-AF4 (KMT2A-AFF1), se observó un tamaño de 673 pb con su control interno (ABL1) de un tamaño de 277 pb, y los controles negativos (ver Figura 3A). La citogenética (ver Figura 3B), se asoció con la t(4;11)(q21;q23), la cual se encontró en la primera de las dos líneas celulares reportadas en el diagnóstico. La segunda línea celular, la cual fue normal (46,XX), no se consideró en la figura para la visualización.



**Figura 1. A)** Producto de PCR para el gen de fusión BCR/ABL1 (variante p190); M: marcador de peso molecular (100 pb), carril 1: producto de 521 pb del BCR-ABL1 p190, carril 2: producto de 277 pb del ABL1, carril 3: control negativo del BCR-ABL1 p190 y carril 4: control negativo del ABL1. **B)** Cariograma de la primera línea celular con el cariotipo 45,XY,t(9;22)(q34;q11.2),-16,add(20)(q11.2). **C)** Cariograma de la segunda línea celular con el cariotipo 45,XY,der(9)t(9;12)(p22;q13)t(9;22)(q34;q11.2). Todos los cromosomas alterados están marcados con flechas





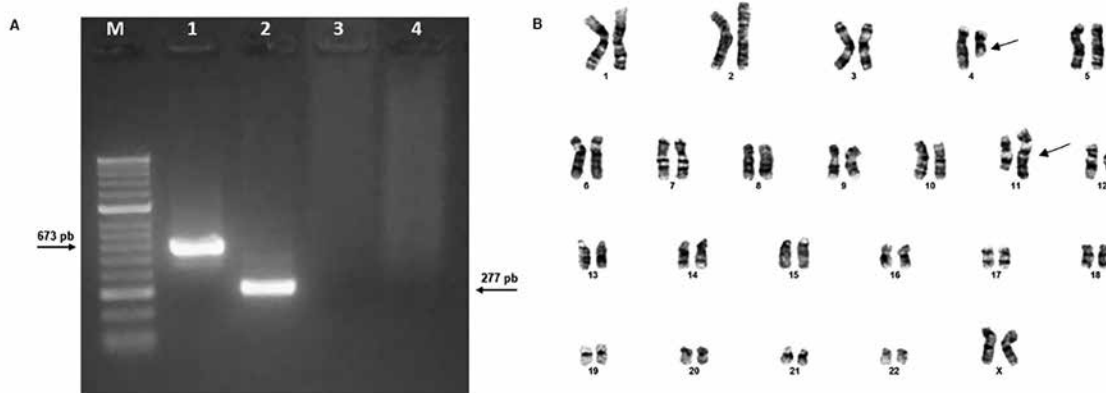
**Figura 2. A)** Producto de PCR para el gen de fusión E2A-PBX1(TCF3-PBX1); M: marcador de peso molecular (100 pb), carril 1: producto de 373 pb del E2A-PBX1, carril 2: producto de 277 pb del ABL1, carril 3: control negativo del E2A-PBX1 y carril 4: control negativo del ABL1. **B)** Cariograma de la primera línea celular con el cariotipo 46,XY,t(1;19)(q23;p13.3). Todos los cromosomas alterados están marcados con flechas

Para el TEL-AML1 (ETV6-RUNX1), se puede observar un tamaño de 298 pb con su control interno (ABL1) de un tamaño de 277 pb, y los controles negativos (ver Figura 4A). La citogenética (ver Figura 4B), no correlacionó visualmente con la t(12;21)(p13;q22), debido a que la translocación se da puntos de ruptura donde el patrón de bandas es similar, pero se encontró otras alteraciones en la primera línea celular como la t(1;16)(q32;q24), t(4;21)(p10;q10) y t(8;12)(p10;p10) para este caso positivo.

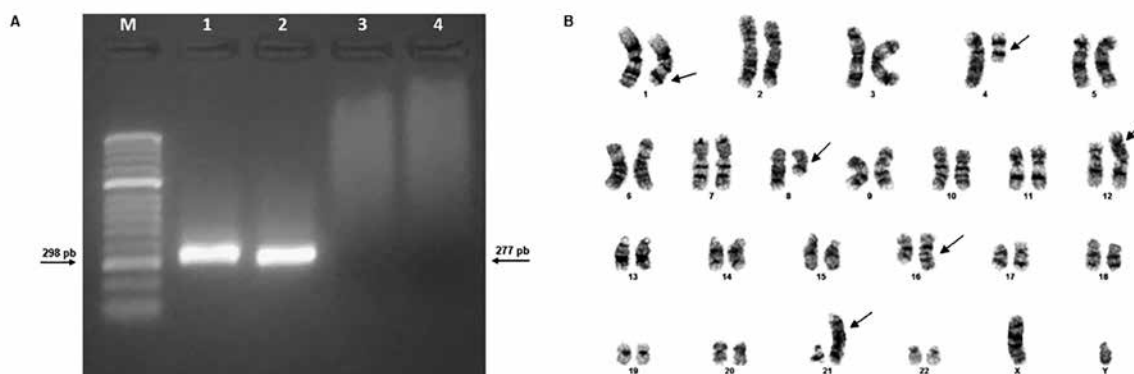
La segunda línea celular, la cual fue normal (46,XY), no se consideró en la figura para la visualización.

### DISCUSIÓN

Los resultados proporcionados en este trabajo muestran un gran avance sobre la caracterización molecular en una institución pública. Ahora bien, al ser el INSNSB un lugar de referencia para el diagnóstico molecular en la LLA en todo el país, es necesario tener



**Figura 3. A)** Producto de PCR para el gen de fusión MLL-AF4 (KMT2A-AFF1); M: marcador de peso molecular (100 pb), carril 1: producto de 673 pb del MLL-AF4, carril 2: producto de 277 pb del ABL1, carril 3: control negativo del MLL-AF4 y carril 4: control negativo del ABL1. **B)** Cariograma de la primera línea celular con el cariotipo 46,XX,t(4;11)(q21;q23). Todos los cromosomas alterados están marcados con flechas



**Figura 4. A)** Producto de PCR para el gen de fusión TEL-AML1 (ETV6-RUNX1); M: marcador de peso molecular (100 pb), carril 1: producto de 298 pb del TEL-AML1, carril 2: producto de 277 pb del ABL1, carril 3: control negativo del TEL-AML1 y carril 4: control negativo del ABL1. **B)** Cariograma de la primera línea celular que representa al cariotipo 46,XY,t(1;16)(q32;q24),t(4;21)(p10;q10),t(8;12)(p10;p10). Todos los cromosomas alterados están marcados con flechas

todas las herramientas para facilitar el diagnóstico y tratamiento exitoso en todos los pacientes pediátricos que llegan de todas las regiones del país.

La frecuencia de los genes de fusión para nuestros pacientes fueron BCR-ABL1 (2,13 %), E2A-PBX1 (4,53 %), MLL-AF4 (0,53 %) y TEL-AML1 (8,27 %). En Latinoamérica se han reportado valores similares; por ejemplo, en México, en el año 2016 se encontró el TEL-AML1 con una frecuencia al 7,21 % seguido del E2A-PBX1 con 5,15 %, no encontrándose en su estudio los genes de fusión MLLAF4 y BCR-ABL1<sup>(9)</sup>. Asimismo, en el año 2006 se reportó en Chile un sólo estudio para los genes TEL-AML1 y BCR-ABL1, obteniéndose frecuencias de 23 % y 4 %, respectivamente<sup>(10)</sup>. En Argentina, en el año 2005 se obtuvieron los siguientes resultados utilizando 129 pacientes pediátricos: BCR-ABL1 (1,6 %), E2A-PBX1 (3,9 %), MLL-AF4 (8,5 %) y TEL-AML1 (11,6 %)<sup>(11)</sup>.

Para el caso del gen de fusión BCR-ABL1, en dos muestras de sangre periférica que fueron positivas para este gen, no coincidieron con su translocación cromosómica t(9;22)(q34;q11); aunque uno de los factores pudo haber sido el tipo de muestra, la prueba molecular es más sensible para la detección de este transcrito de fusión<sup>(12)</sup>. Otro detalle muy importante son los diferentes variantes de ruptura en el reordenamiento del BCR-ABL1, los cuales pueden ser fácilmente analizables mediante las técnicas moleculares<sup>(13,14)</sup>.

En el caso del gen de fusión E2A-PBX1 se observó que en ocho muestras del total de positivos para este gen, no fue detectable la translocación t(1;19)(q23;p13) en el cariotipo. Los casos de "falsos negativos" de la citogenética podrían deberse principalmente a la técnica del ensayo, ya que la tecnología molecular es más sensible para la detección en el diagnóstico de la LLA<sup>(15)</sup>. Asimismo, hay varias causas laborales para el no éxito de la identificación de la anomalía genética; por ejemplo, el bajo índice mitótico de las metafases, el cual se podría confundir sólo analizando las normales (si es mosaico). Otra causa importante, ya mencionada para el gen de fusión BCR-ABL1, sería el tipo de muestra (médula ósea o sangre periférica), ya que en una leucemia la médula ósea es la fuente de la generación de todas las células sanguíneas, y es donde se forman la gran cantidad de glóbulos blancos anormales<sup>(16)</sup>; por lo que la mayor cantidad de blastos anormales se encontraría en esta fuente dado que la sensibilidad en las pruebas de médula ósea sería superior en algunos casos que la muestra de sangre periférica<sup>(17)</sup>.

Se ha reportado la existencia de casos en los que el cariotipo detecta la translocación t(1;19)(q23;p13) y no es detectable con la herramienta molecular; la explicación podría deberse a que en las LLA positivas para la t(1;19) tienen un transcrito de fusión E2A-PBX1 que generalmente consiste en los exones 1-16 de E2A y los exones 3-9 de PBX1; sin embargo, no

se excluye la presencia de fusiones alternativas, ya que se ha reportado transcripción quimérica que consta de los exones 1-17 del E2A y los exones 5-9 de PBX1<sup>(18)</sup>, los cuales no son detectables en la RT-PCR usando los *primers* estándar utilizados en nuestro laboratorio<sup>(4)</sup>. Asimismo, se han observado casos de t(1;19)/der(19)t(1;19) dentro del contexto de cariotipo con hiperdiploidía, solo algunos de los cuales expresan el gen de fusión E2A-PBX y son asociados con un mal pronóstico<sup>(18)</sup>.

Respecto al gen de fusión MLL-AF4, su positividad fue la menor prevalente; los reordenamientos MLL están asociados mayoritariamente en infantes, con una leucemia más agresiva, la cual se caracteriza por un inicio rápido, hiperleucocitosis y un mal pronóstico<sup>(20)</sup>. Este reordenamiento en nuestro estudio estuvo asociado a un inmunofenotipo Pro-B, el cual se relaciona con los reportes en las t(4;11)(q21;q23), y conlleva a un pronóstico deficiente<sup>(21)</sup>. Asimismo, el tratamiento de estos pacientes pediátricos positivos es más intenso y probablemente son candidatos a trasplante<sup>(22)</sup>.

En el caso del gen de fusión TEL-AML1, el cual se asocia con un pronóstico favorable<sup>(23)</sup>, este fue el más prevalente (8,27 %) en nuestra población, correlacionándose con estudios de LLA en otras regiones de Latinoamérica; por ejemplo, en Argentina con 11,6 %, Chile con 23,2 % y México con 25 %<sup>(9-11)</sup>. Asimismo, el TEL-AML1 sólo se pudo identificar mediante la RT-PCR, ya que este gen de fusión no es detectable visualmente por el estudio citogenético, al ser una alteración criptica, es decir, que se da en puntos de ruptura de los cromosomas 12 y 21 donde el patrón de bandas es igual, por lo que no se puede diferenciar la alteración<sup>(24,25)</sup>. En algunos casos de TEL-AML1 positivos para la prueba molecular, en el cariotipo se observó otras alteraciones estructurales o numéricas, las cuales tienen un soporte significativo en el tratamiento del paciente.

Por consiguiente, el apoyo de la citometría de flujo mediante los marcadores inmunofenotípicos proporcionó evidencia que el inmunofenotipo común es la más frecuente con 26 del total de casos positivos; tratándose de la variedad más frecuente reportada en pacientes pediátricos<sup>(26)</sup>. Incluir este examen complementario es, por lo tanto, muy importante como primera línea en la clasificación de la leucemia en la estrategia del tratamiento a elegir<sup>(27)</sup>.

El presente estudio permitió detectar los transcriptos positivos de los genes de fusión en pacientes pediátricos con LLA en la población peruana, utilizando herramientas de apoyo al diagnóstico como la citogenética y el inmunofenotipo, las cuales en conjunto proporcionan al momento del debut un tratamiento personalizado oportuno.

## CONCLUSIONES

El gen de fusión TEL-AML1, considerado de buen pronóstico, fue el más frecuente en la población pediátrica con LLA de células B del INSNSB.

La RT-PCR tuvo una sensibilidad mayor a la citogenética para la detección de los genes de fusión BCR-ABL1, E2A-PBX1, MLL-AF4 y TEL-AML.

## Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja (INSNSB), a través del Servicio de Genética, cuya jefatura está a cargo de la Dra. Gioconda Manassero Morales; y también por la Unidad de Desarrollo de Investigación, Tecnologías y Docencia. Quisiéramos agradecer además a todos nuestros compañeros del Servicio de Genética del área de citogenética y genética molecular, ya que estos datos fueron obtenidos por el trabajo invaluable de todos los que participaron desde estas instancias del INSNSB.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cooper SL, Brown PA. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am*. [Internet]. 2015 [Consultado 2022 Nov 21]; 62(1): 61-73. doi: 10.1016/j.pcl.2014.09.006
- Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. [Internet]. 2017 [Consultado 2022 Jul 11]; 7(6): e577-e577. doi: 10.1038/bcj.2017.53
- Onciu M. Acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. [Internet]. 2009 [Consultado 2022 Nov 21]; 23(4): 655-74. doi: 10.1016/j.hoc.2009.04.009
- 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*. [Internet]. 1999 [Consultado 2022 Nov 22]; 13(12): 1901-28. doi: 10.1038/sj.leu.2401592
- Agarwal M, Seth R, Chatterjee T. Recent Advances in Molecular Diagnosis and Prognosis of Childhood B Cell Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL). *Indian J Hematol Blood Transfus*. [Internet] 2021 [Consultado 2022 Nov 22]; 37(1): 10-20. doi:10.1007/s12288-020-01295-8
- ee JW, Cho B. Prognostic factors and treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Korean J Pediatr*.



- [Internet]. 2017 [Consultado 2022 Nov 23]; 60(5): 129-37. doi:10.3345/kjp.2017.60.5.129
7. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. [Internet]. 1987 [Consultado 2022 Jul 8]; 162(1): 156-9. doi:10.1006/abio.1987.9999
  8. Adnan-Awad S, Kim D, Hohtari H, Javarappa KK, Brandstetter T, Mayer I, et al. Characterization of p190-Bcr-Abl chronic myeloid leukemia reveals specific signaling pathways and therapeutic targets. *Leukemia*. [Internet]. 2021 [Consultado 2022 Apr 2]; 35(7): 1964-75. doi: 10.1038/s41375-020-01082-4
  9. Guerra-Castillo FX, Ramos-Cervantes MT, Rosel-Pech C, Jiménez-Hernández E, Bekker-Méndez VC. [PCR detection of relevant translocations in pediatric acute lymphoblastic leukemia]. *Rev Medica Inst Mex Seguro Soc*. [Internet]. 2016 [Consultado 2022 Nov 23]; 54(Suppl 3): S302-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27855054/>
  10. Artigas A CG, Cabrera C ME, Melo A A, Páez F E, Arriagada M M, Astete A C, et al. Frecuencia de los genes de fusión TEL/AML1 y BCR/ABL en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. *Revista médica de Chile*. [Internet]. 2006 [Consultado 2022 Jul 8]; 134(11): 1367-76. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872006001100003&lng=en&nrm=iso&tlang=en](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872006001100003&lng=en&nrm=iso&tlang=en)
  11. Alonso CN, Gallego MS, Alfaro EM, Rossi JG, Felice MS. Caracterización molecular en leucemia linfoblástica aguda pediátrica en una institución hospitalaria. *Hematol B Aires*. [Internet]. 2006 [Consultado 2022 Jul 8]; 8-12. Disponible en: <https://www.sah.org.ar/revistasah/numeros/vol10.n1.8.12.pdf>
  12. Berman JN, Greer W, Juskevicius R, Fernandez CV, Bernstein M, Couban S. Significant Discrepancy In Peripheral Blood Compared to Bone Marrow BCR-ABL Transcript Levels In Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia (CML). *Blood*. [Internet] 2010 [Consultado 2022 Nov 23]; 116(21): 4471. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood.V116.21.4471.4471>
  13. Luatti S, Baldazzi C, Marzocchi G, Ameli G, Bochicchio MT, Soverini S, et al. Cryptic BCR-ABL fusion gene as variant rearrangement in chronic myeloid leukemia: molecular cytogenetic characterization and influence on TKIs therapy. *Oncotarget*. [Internet]. 2017 [Consultado 2022 Nov 23]; 8(18): 29906-13. doi:10.18632/oncotarget.15369
  14. Amin H, Ahmed S. Characteristics of BCR-ABL gene variants in patients of chronic myeloid leukemia. *Open Med*. [Internet]. 2021 [Consultado 2022 Jun 12]; 16(1): 904-12. doi:10.1515/med-2021-0309
  15. King RL, Naghashpour M, Watt CD, Morrisette JJD, Bagg A. A comparative analysis of molecular genetic and conventional cytogenetic detection of diagnostically important translocations in more than 400 cases of acute leukemia, highlighting the frequency of false-negative conventional cytogenetics. *Am J Clin Pathol*. [Internet]. 2011 [Consultado 2022 Nov 24]; 135(6): 921-8. doi: 10.1309/AJCPJCW6BYOCNIHD
  16. Addisia GD, Tegegne AS, Belay DB, Muluneh MW, Kassaw MA. Risk Factors of White Blood Cell Progression Among Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia at Felege Hiwot Referral Hospital, Bahir Dar, Ethiopia. *Cancer Inform*. [Internet]. 2022 [Consultado 2022 Oct 4]; 21: 11769351211069902. doi: 10.1177/11769351211069902
  17. Percival ME, Lai C, Estey E, Hourigan CS. Bone marrow evaluation for diagnosis and monitoring of acute myeloid leukemia. *Blood Rev*. [Internet]. 2017 [Consultado 2022 Nov 15]; 31(4): 185-92. doi: 10.1016/j.blre.2017.01.003
  18. Paulsson K, Jonson T, Ora I, Olofsson T, Panagopoulos I, Johansson B. Characterisation of genomic translocation breakpoints and identification of an alternative TCF3/PBX1 fusion transcript in t(1;19)(q23;p13)-positive acute lymphoblastic leukaemias. *Br J Haematol*. [Internet]. 2007 [Consultado 2022 Oct 21]; 138(2): 196-201. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06644.x
  19. Tirado CA, Shabsovich D, Yeh L, Pullarkat ST, Yang L, Kallen M, et al. A (1;19) translocation involving TCF3-PBX1 fusion within the context of a hyperdiploid karyotype in adult B-ALL: a case report and review of the literature. *Biomark Res*. [Internet]. 2015 [Consultado 2022 Oct 22]; 3: 4. doi: 10.1186/s40364-015-0029-0
  20. Daniel-Cravioto A, Gonzalez-Bonilla CR, Mejia-Arangure JM, Daniel-Cravioto A, Gonzalez-Bonilla CR, Mejia-Arangure JM, et al. Genetic rearrangement MLL/AF4 is most frequent in children with acute lymphoblastic leukemias in Mexico City. *Leuk Lymphoma*. [Internet]. 2009 [Consultado 2022 Nov 21]; 50(8): 1352-60. doi:10.1080/10428190903015636
  21. Chiaretti S, Vitale A, Cazzaniga G, Orlando SM, Silvestri D, Fazi P, et al. Clinico-biological features of 5202 patients with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the Italian AIEOP and GIMEMA protocols and stratified in age cohorts. *Haematologica*. [Internet]. 2013 [Consultado 2022 Nov 16]; 98(11): 1702-10. doi: 10.3324/haematol.2012.080432
  22. Cimino G, Cenfra N, Elia L, Sica S, Luppi M, Meloni G, et al. The therapeutic response and clinical outcome of adults with ALL1(MLL)/AF4 fusion positive acute lymphoblastic leukemia according to the GIMEMA experience. *Haematologica*. [Internet]. 2010 [Consultado 2022 Nov 17]; 95(5): 837-40. doi: 10.3324/haematol.2009.009035
  23. Chung HY, Kim KH, Jun KR, Jang S, Park CJ, Chi HS, et al. [Prognostic significance of TEL/AML1 rearrangement and its additional genetic changes in Korean childhood precursor B-acute lymphoblastic leukemia]. *Korean J Lab Med*. [Internet]. 2010 [Consultado 2022 Nov 19]; 30(1): 1-8. doi:0.3343/kjlm.2010.30.1.1
  24. Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, Rubnitz JE, Raimondi SC, Hancock ML, et al. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia*. [Internet]. 1995 [Consultado 2022 Nov 18]; 9(12): 1985-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8609706/>
  25. Tsang KS, Li CK, Chik KW, Shing MM, Tsoi WC, Ng MH, et al. TEL/AML1 rearrangement and the prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia in Hong Kong. *Am J Hematol*. [Internet]. 2001 [Consultado 2022 Nov 20]; 68(2): 91-8. doi: 10.1002/ajh.1159
  26. Marsán Suárez V, Sánchez Segura M, Socarrás Ferrer BB, Martínez Machado M, Cos Padrón Y, del Valle Pérez L, et al. Leucemia linfocida aguda común: Estudio del inmunofenotipo y las características clínicas y morfológicas. *Rev Cuba Hematol Inmunol Hemoter*. [Internet]. 2004 [Consultado 2022 Nov 20]; 20(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200006)
  27. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and Subclassification of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. [Internet]. 2014 [Consultado 2022 Nov 27]; 6(1): e2014073. doi: 10.4084/MJHID.2014.073