

## Caso Clínico

# Presencia de la microdelección 1p32 y del gen de fusión *SIL-TAL* en un paciente afecto con leucemia linfoblástica aguda

Doctores: Zambrano Héctor (1), García Xavier (2), Almeida Franklin (1), Burgos Ramiro (3).

1. Laboratorio Clínico y de Genética Humana, Hospital "Dr. Juan Tanca Marengo" ION-SOLCA
2. Departamento de Patología, Citometometría de flujo, Hospital "Dr. Juan Tanca Marengo" ION-SOLCA
3. Instituto de Biomedicina, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil

### ABSTRACTO

La alteración sil/tal ha sido descrita en diferentes neoplasias de células t. En la leucemia linfoblástica aguda está presente en un porcentaje de 70% de los casos de células t, para las que esta alteración molecular es específica. En el presente estudio presentamos un reporte de caso de la primer paciente en el que se ha descrito esta fusión génica en el ION- SOLCA y de las implicaciones clínicas, diagnósticas y pronósticas para los portadores de esta traslocación.

**Palabras clave:** Leucemia linfoblástica, célula T

### ABSTRACT

Sil/Tal molecular translocation has been reported previously in several T-cell neoplasia. Sil/Tal is a characteristic rearrangement for T cell Acute lymphoblastic Leukemia (ALL). It is present in 70% of ALL. In this paper we are presenting a case-report in which such a alteration have been described in ION-SOLCA. Clinics, diagnostics and prognostics implications for the patients carrying with Sil /tal are also revised.

**Key words:** Leukemia, lymphoblastic, T cell

### INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas se caracterizan por presentar alteraciones estructurales en sus cromosomas (1). La descripción molecular de dichos trastornos cromosómicos ha permitido identificar a genes involucrados en los procesos de crecimiento, replicación, diferenciación celular y apoptosis. La modificación en estos genes, producto de la inestabilidad cromosómica, sería el punto de partida de los procesos neoplásicos (2).

Una de las alteraciones moleculares presente en la Leucemia Linfoblástica Aguda de células T (LLA-T), es la microdelección 1p32; esta pérdida de material genético origina la fusión de los genes *TAL* y *SIL*, con la concomitante alteración en la función del gen *TAL*. (1)

El gen *TAL* (T-cell acute leukemia), también conocido como *SCL* o *TCL* 5, está localizado en la región 3, banda 2 del brazo corto del cromosoma 1 (1p32) (3 Carlolli); sobrepasa las 16 Kpb (Kilo pares de bases) de longitud y se encuentra constituido por 6 exones. Este gen es un regulador positivo de diferenciación de la serie eritroide y, se expresa tanto en tejido hematopoyético como en los tejidos endotelial y cerebral, desde etapas tempranas del desarrollo. (4,5)

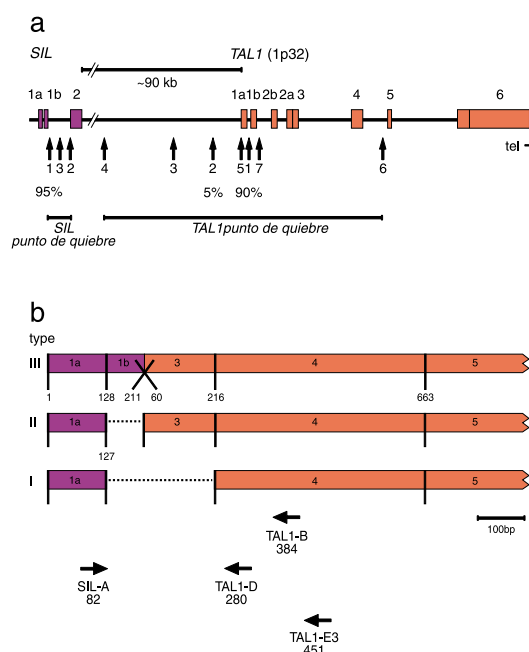
#### Correspondencias y Separatas:

Dr. Hector Zambrano J.  
Servicio de Laboratorio Clínico y Genética Humana  
ION Solca Guayaquil  
Av. Pedro Menéndez Gilbert (junto a la Atarazana)  
Guayaquil - Ecuador

©Los derechos de autor de los artículos de la revista Oncología pertenecen a la Sociedad de Lucha contra el Cáncer

El gen *SIL* (SCL interrupting locus) está localizado en el cromosoma 1p32, tiene una longitud de 70 Kbp y esta formado por 18 exones (6) (Fig 1). La función del gen *SIL* no está del todo clara, aunque se ha postulado que la proteína producto del gen tendría un papel fundamental en la formación de la columna vertebral y en el desarrollo embrionario. (3)

Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts  
JMM van Dongen et al



**Figura 1:** (a) Representación esquemática de la estructura exon/intron de los genes *SIL* y *TAL1*, involucrados en la microdelección 1p32. Se enumeran los exones y se indica las posiciones de los distintos puntos de ruptura. En la gran mayoría de los casos el punto de ruptura 1 de *SIL* está en combinación con los puntos de ruptura 1 o 2 de *TAL1*. (b) Se muestran los tres tipos principales del transcripto de fusión *SIL/TAL1* se forman por cortes y empalmes alternados del exon 1b de *SIL* y del exon 3 de *TAL1*. (tomado de Jim van del Dongen et al Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*, 13:1901-1928, 1999)

La fusión de los genes *SIL* / *TAL* está presente del 15% al 30% de LLA-T de pacientes con un cariotipo aparentemente normal (7). La fusión génica origina dos eventos: 1) que el promotor del gen *SIL* controle la expresión del gen *TAL* y, 2) un cambio en el marco de pauta de lectura que motiva la expresión de la región no codificante del primer exón del gen *TAL*; este último evento causa la actividad alterada de la proteína recombinante, lo que se piensa está implicado en la ganancia de la capacidad de mutación de la LLA-T (4).

Presentamos a continuación la primera descripción de esta alteración submicroscópica detectada en un paciente, del ION-SOLCA, con diagnóstico de LLA.

## REPORTE DEL CASO

Paciente de sexo masculino, de 31 años de edad. Acude al Instituto con diagnóstico de LLC en crisis blástica. En otro centro recibió QT – CHOP, 4 ciclos, con evolución desfavorable. Al momento del ingreso al ION presenta cuadro febril y esplenomegalia grado, además de nódulos subcutáneos dolorosos y hematocrito de: 86 g/L de hemoglobina,  $12,5 \times 10^9$  g/L de plaquetas y  $27 \times 10^9$  g/L de glóbulos blancos; no se reportaron blastos. La médula ósea presentó un 95% de infiltración por blastos. El inmunofenotipo determinó positividad para los marcadores CD34, CD10 y HLA DR; por lo que se determinó que es de tipo pre B. Se envió médula ósea con EDTA para estudio molecular.

Luego del tratamiento de inducción (vincristina, daunorrubicina, L-asparaginasa, IT-triple: metotrexate, citarabina, hidrocortisona y otro ciclo de dexametasona y diclofosfamida) el paciente no alcanzó la remisión hematológica y, el mielograma reportaba 70% de blastos. Después de 5 meses de tratamiento se determinó que el paciente es refractario a la terapia; al examen físico el paciente presenta palidez generalizada, esplenomegalia grado III, hepatomegalia a expensas de lóbulo izquierdo y, un conteo de blastos en sangre periférica del 90%. Se decide continuar con quimioterapia ambulatoria. El paciente no ha acudido a citas subsecuentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

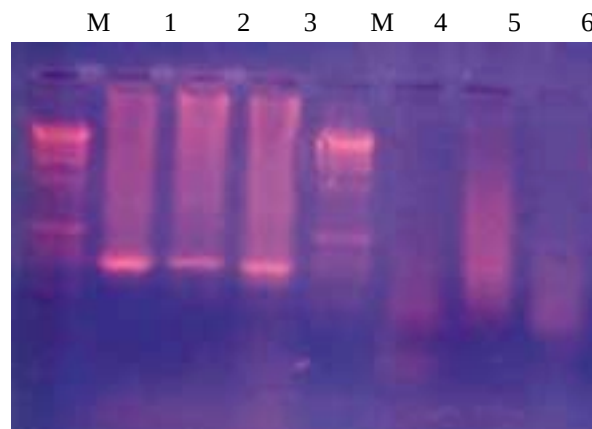
A partir de la muestra de médula ósea se extrajo ARN total y se procedió a realizar el estudio molecular. Mediante la técnica de transcripción inversa se obtuvo ácido desoxiribonucleico complementario (ADNc). Con dicho material se procedió a realizar una reacción de cadena de la polimerasa anidada (PCR nested),

utilizando en ella los cebadores (oligonucleótidos) descritos en el estudio de consenso europeo “BIOMED-1 Report of Concerted Action” para la detección de enfermedad mínima residual. Los parámetros a los que se sometió la muestra en la PCR fueron: 1 ciclo de desnaturalización inicial a 95°C por treinta segundos, seguido por 25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 65°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto. La PCR se efectuó en el termociclador Perkin Elmer 2400, del laboratorio de Citogenética y Genética Molecular del ION-SOLCA. Las alteraciones analizadas fueron: t(1;19), t(9;22), t(12;21) y la del(1p32).

El producto de PCR fue sometido a un proceso de electroforesis en gel de agarosa al 3% (5v/cm) por 30 minutos. Luego se tiñó el gel con bromuro de etido y fue fotografiado con una cámara digital Sony DSC-S75, con un sistema de lentes Carl-Zeiss CCD.

## RESULTADOS

El resultado del análisis molecular fue positivo para la del(1p32). El peso molecular del gen de fusión *SIL* / *TAL* fue de 351 pares de bases, compatible con la variante tipo I de la fusión génica (Fig. 2).



**Figura 2:** M: marcador de peso molecular de 1 Kb, 1 = control positivo de la del(1p32), 2 = muestra analizada para la del(1p32), 3 = muestra analizada para el control interno L1Cam, 4, 5, 6 = controles negativos de cada muestra

## DISCUSIÓN

La LLA es curable de un 70 a 80% de los casos pediátricos, mientras que en los pacientes mayores de 15 años dista mucho de alcanzar esta cifra (9). Una de las razones propuestas para explicar estos datos se fundamenta en las diferencias encontradas en las alteraciones moleculares entre los niños y los adultos (10, 11)

En países como el nuestro, en vías de desarrollo, los porcentajes de pacientes que alcanzan los estimados de remisión completa y sobrevida libre de enfermedad son muy inferiores a los reportados por la estadística internacional; las causas son varias: La falta de recursos económicos, el alto índice de abandono del tratamiento y el poco acceso a exámenes que permitan realizar una caracterización molecular adecuada, lo que conlleva a la imposibilidad de clasificar a los pacientes de acuerdo a los criterios que los mismos protocolos terapéuticos proponen (9).

Todos estos exámenes que resultan en un alto costo para el paciente y, que generan la visión de un gasto innecesario para las instituciones, en realidad permiten dar una terapéutica más específica a cada paciente, con lo que se reducen costos y se suprime la aplicación de tratamientos agresivos innecesarios; de esta forma se logran minimizar los efectos colaterales, reducir la tasa de abandono, efectuar una monitorización adecuada y, mejorar el manejo de recursos en las instituciones. (12, 13)

La detección de la del(1p32), que implica la fusión de los genes *SIL / TAL*, es específica para las Leucemias de células T y, su hallazgo no sólo es usado como ayuda en la clasificación del tipo de patología, sino que además otorga un marcador que permite valorar la evolución y respuesta de la línea tumoral al tratamiento.(6) En el caso descrito la presencia del marcador molecular cambia el diagnóstico de LLA pre-B que fue dado fuera del Instituto. Aunque se debe anotar que con los actuales protocolos de quimioterapia no existe mayor diferencia en la sobrevida libre de enfermedad, recaídas y sobrevida global entre los diversos subtipos hematológicos, sí es importante definir los subtipos para realizar una monitorización del tratamiento, pues la desaparición del clon leucémico estaría enunciada por la eliminación de la alteración a escala molecular. Otro aspecto importante por el cual son necesarios estos análisis es la homologación de los protocolos de diagnóstico de nuestro Instituto con los de otros centros de referencia, ante la perspectiva de eventuales colaboraciones.

Esta alteración también ha sido descrita en otros tipos de neoplasias linfoides con afectación de células T (leucemia mieloide aguda, linfoma, síndrome mielodisplásico). Se han reportado al menos 4 subtipos de la fusión génica *SIL / TAL*, siendo los más comunes el tipo 1 y 2, que se presentan un 95% y 3% de los casos, respectivamente (14). No existe actualmente evidencia clínica que permita usar alguna de las variantes génicas como marcador de mayor o menor grado de malignidad.

En conclusión, el caso de LLA-T aquí descrito con la presencia de la del(1p32) y la caracterización de la fusión génica *SIL / TAL* es el primero que se hace en el Instituto Oncológico Nacional, utilizando técnicas que se han probado eficaces en el estudio y caracterización molecular en centros de referencia de otros países y, que también son útiles para la búsqueda de la enfermedad mínima residual. También evidencia que se debe fortalecer la atención integral del paciente para que los avances de la ciencia y la técnica médica permitan mejorar la calidad de vida del paciente y, no sean estériles.

#### AGRADECIMIENTO

Se agradece al Dr. J. J. Cassiman del Centro de Genética Humana de Leuven, Bélgica y, al Dr. Eduardo Gómez Landires, director del Instituto de Biomedicina de la Universidad Católica de Guayaquil, por facilitarnos los reactivos con los que se efectuó el proceso de análisis de las alteraciones moleculares aquí descritas.

#### Bibliografía:

1. Francois S, Delabesse E, Baranger L, Dautel M, Foussard C, Boasson M, Blanchet O, Bernard O, Macintyre EA, Ifrah N. Deregulated expression of the TAL1 gene by t(1;5)(p32;31) in patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 1998 Sep;23(1):36-43.
2. Amare P, Gladstone B, Varghese C, et al. Clinical significance of cytogenetic findings at diagnostic and in remission in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia: experience from India. *Cancer Genet Cytogenet* 110(1) : 22-53, 1999
3. Carlotti E, Pettenella F, Amaru R, Slater S, Lister TA, Barbui T, Basso G, Cazzaniga G, Rambaldi A, Biondi A. Molecular characterization of a new recombination of the *SIL/TAL-1* locus in a child with T-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2002 Sep;118(4):1011-8.
4. Van der Burg M, Smit B, Brinkhof B, Barendregt BH, Verschuren MC, Dib M, Beverloo HB, van Dongen JJ, Langerak AW. A single split-signal FISH probe set allows detection of TAL1 translocations as well as *SIL-TAL1* fusion genes in a single test. *Leukemia*. 2002 Apr;16(4):755-61
5. Curry JD, Smith MT. Measurement of *SIL-TAL1* fusion gene transcripts associated with human T-cell lymphocytic leukemia by real-time reverse transcriptase - PCR. *Leuk Res*. 2003 Jul;27(7):575-82.
6. Huang W, Kuang SQ, Huang QH, Dong S, Zhang T, Gu LJ, Ching LM, Chen SJ, Chang LC, Chen Z. RT/PCR detection of *SIL-TAL-1* fusion mRNA in Chinese T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL). *Cancer Genet Cytogenet*. 1995 May;81(1):76-82.
7. Iolascon A, Faienza MF, Coppola B, Moretti A, Basso G, Amaru R, Vigano G, Biondi A. Frequent clonal loss of heterozygosity (LOH) in the chromosomal region 1p32 occurs in childhood T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) carrying rearrangements of the TAL1 gene. *Leukemia*. 1997 Mar;11(3):359-63.
8. JJM van Dongen, EA Macintyre, JA Gabert, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*, 13:1901-1928, 1999
9. Jimenez S, Paulson G, Espín C, et al: Tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda: resultados del protocolo SOLCA 95 en el servicio de pediatría del Instituto Oncológico Nacional de Guayaquil, desde noviembre de 1995 a noviembre de 2000. *Oncología* 11:181-186, 2001
10. Cabrera M, Campbell M, Quintana J, et al: Significado clínico y frecuencia de la alteración genético-molecular 11q23/MLL en lactantes con leucemia aguda en Chile. *Rev Med Chile* 129:634-642, 2001



11. Pui C-H, Evans WE: Acute lymphoblastic leukaemia. N Eng J Med 339: 609-614, 1998
12. Zambrano H, Burgos R, Ruiz J. Estudios citogenéticos en médula ósea en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica Aguda en el ION-Solca desde septiembre de 200 a diciembre 2001. Medicina 8 18-31 2002
13. Cedeño M, Freire H, Ruiz J: Cromosoma Philadelphia: valor diagnóstico en los pacientes con LLA y LMC del ION SOLCA. Oncología 11:219-236, 2001
14. Bloomfield CD, Archer KJ, Mrozek K, Lillington DM, Kaneko Y, Head DR, Dal Cin P, Raimondi SC. 11q23 balanced chromosome aberrations in treatment-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia: report from an international workshop. Genes Chromosomes Cancer. 2002 Apr;33(4):362-78.

## Del Editor

### INSTRUCCIONES PARA CARTAS AL EDITOR

Las cartas al editor son consideradas para su publicación si tratan temas dentro de los lineamientos generales de "ONCOLOGÍA" o si comentan artículos de los números previos.

Las cartas deben escribirse a doble espacio sin exceder las 300 palabras. Se puede listar hasta cinco referencias bibliográficas y 1 figura o tabla. Por favor, incluya los datos completos del autor con su filiación, dirección, teléfono, fax, e-mail.

Nuestra dirección es:  
Editor, Revista "ONCOLOGÍA"  
Av. Pedro J. Menéndez Gilbert  
Apt. Postal No. 5255 / ó 3623  
Guayaquil - Ecuador

Fax: (593-4) 2293366 - 2287151  
e-mail: editor@solca.med.ec  
jasanchez@msn.com

El cáncer es curable si se lo diagnostica a tiempo...  
ayúdenos a descubrirlo.



**SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CÁNCER - ECUADOR**  
GUAYAQUIL - QUITO - CUENCA - PORTOVIEJO - MACHALA - LOJA - RIOBAMBA

