

## Casos atípicos e14a3 (b3a3) en el gen de fusión BCR-ABL de la leucemia mieloide crónica en Cuba

Rare cases of e14a3 (b3a3) BCR-ABL fusion in chronic myeloid leukemia in Cuba

Vera Ruiz Moleón<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3728-3158>

Carmen Alina Díaz Alonso<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6544-0662>

Ana María Amor Vigil<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9182-2664>

Lesbia Fernández Martínez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8359-3061>

Heidys Garrote Santana<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8449-1278>

<sup>1</sup>Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba

\*Autor de la correspondencia: [rchematologia@infomed.sld.cu](mailto:rchematologia@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** La leucemia mieloide crónica es un desorden clonal maligno de células madres hematopoyéticas pluripotentes que se caracteriza por la presencia del cromosoma Filadelfia, consecuencia de la traslocación cromosómica recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22. El resultado de esta alteración cromosómica es un gen de fusión que contiene las uniones b2a2 (e13a2) o b3a2 (e14a2). En la mayor parte de los casos, las células de la leucemia mieloide crónica expresan uno de los dos transcritos (b2a2 o b3a2); sin embargo, el 5 % de los pacientes tienen ambos tipos de ARNm como resultado de empalmes alternativos. Se han encontrado otros transcritos como e19a2, e2a2, e1a3, e6a2, e13a3(b2a3), y e14a3(b3a3), que ocurren con menos frecuencia.

**Objetivo:** Describir el comportamiento de dos pacientes con leucemia mieloide crónica que presentan un transcrito BCR/ABL atípico.

**Casos clínicos:** En el estudio molecular por reacción en cadena de la polimerasa cualitativo realizado a los dos pacientes, se observó un punto de ruptura del gen de fusión BCR/ABL poco frecuente, el cual se correspondía al transcrito e14a3 (b3a3). Estos pacientes iniciaron tratamiento con mesilato de imatinib a dosis de 400 mg diarios. Al primer paciente a los dos

meses de tratamiento se le detectó crisis blástica, por lo que se le cambió el tratamiento a nilotinib 400 mg diarios que mantiene hasta la actualidad. La segunda paciente mantuvo igual tratamiento, aunque en ocasiones ha sido necesario incorporar tratamiento citorreductor con hidroxiaurea por presentar leucocitosis.

**Conclusiones:** Los pacientes con BCR/ABL a3 presentan un curso más benigno de la enfermedad. Aunque en los pacientes estudiados no se observó una respuesta satisfactoria al tratamiento pues presentaron diversas complicaciones.

**Palabras clave:** leucemia mieloide crónica; gen de fusión BCR/ABL; transcriptos e14a3 y b3a3; puntos de ruptura.

## ABSTRACT

**Introduction:** Chronic myeloid leukemia is a malignant clonal disorder of pluripotent hematopoietic stem cells and characterized by the presence of the Philadelphia chromosome, which is the product of a reciprocal translocation between the long arms of chromosomes 9 and 22. The result of this chromosomal alteration is a fusion gene that contains the e13a2 (b2a2) and e14a2 (b3a2) junctions. In most cases, chronic myeloid leukemia cells express one of the two transcripts (b2a2 or b3a2); however, 5% of patients have both types of mRNA, as a result of alternative junctions. Other transcripts have been identified, such as e19a2, e2a2, e1a3, e6a2, e13a3 (b2a3), and e14a3 (b3a3), which occur less frequently.

**Objective:** To describe the behavior of two patients with chronic myeloid leukemia who have an atypical BCR-ABL transcript.

**Clinical cases:** In a qualitative molecular study of polymerase chain reaction carried out with two patients, a BCR-ABL fusion gene breakpoint was observed, which corresponded to the e14a3 (b3a3) transcript. These patients started treatment with imatinib mesylate at a dose of 400mg/d. At two months, the first patient had a diagnose of blast crisis, so the treatment was changed to nilotinib at a dose of 400mg/d, which the patient maintained to date. The second patient maintained the same treatment, although it was sometimes necessary to incorporate cytoreductive treatment with hydroxyurea due to leukocytosis.

**Conclusions:** Patients with BCR-ABL a3 present a more benign evolution of the disease. However, a satisfactory response to treatment was not observed in the patients studied, as long as they presented various complications.

**Keywords:** chronic myeloid leukemia; BCR-ABL fusion gene; transcripts e14a3 and b3a3; breakpoints.

Recibido: 31/01/2019

Aceptado: 30/07/2019

## Introducción

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un desorden clonal maligno de células madres hematopoyéticas pluripotentes que da lugar a un incremento de las líneas celulares mieloides, eritroides y megacariocíticas en sangre periférica e hiperplasia mieloide en sangre medular.<sup>(1)</sup> La LMC se caracteriza por la presencia del cromosoma Filadelfia (Ph, abreviatura del inglés Philadelphia), consecuencia de una traslocación cromosómica recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22.<sup>(2)</sup>

La traslocación añade un segmento 3' del gen ABL (cromosoma 9q34.1) a la región 5' del gen BCR en el cromosoma 22q11.2, y crea un gen híbrido BCR/ABL que se traduce en un ARNm BCR/ABL. El punto de ruptura en el gen ABL ocurre generalmente en el exón 2, de tal manera que los exones 2 al 11 (a2-a11) son transferidos a la región M-bcr del gen BCR, entre los exones 12 y 16 de este (conocidos como b1-b5). En el gen BCR, los puntos de ruptura se localizan entre los exones e13/b2 y e14/b3 o entre los exones e14/b3 y e15/b4. El resultado es un gen de fusión que contiene las uniones b2a2 (e13a2) o b3a2 (e14a2) que se transcribe en un ARNm de 8.5 kb y se traduce en una proteína híbrida de 210 kDa (p210BCR-ABL).<sup>(3)</sup>

Los puntos de ruptura en m-bcr involucran el primer intrón del BCR y unen el exón 1 (e1) con el a2 resultante en un pequeño transcripto fusionado, e1a2, el cual codifica para una proteína p190.<sup>(4)</sup> Todas las proteínas BCR/ABL de fusión presentan una actividad tirosina quinasa activada. La proteína p190 tiene una actividad más alta que la p210, lo que implica un mayor potencial para inducir un cambio maligno.<sup>(5)</sup>

En la mayor parte de los casos, las células de la LMC expresan uno de los dos transcritos (b2a2 o b3a2); sin embargo, el 5 % de los pacientes tienen ambos tipos de ARNm como resultado de empalmes alternativos.<sup>(6,7)</sup> Se han encontrado otros transcritos como e19a2, e2a2, e1a3, e6a2, e13a3(b2a3) y e14a3(b3a3), que ocurren con menos frecuencia.<sup>(8,9,10,11,12,13)</sup> Casos ocasionales con b2a3, b3a3, e1a3,e6a2 o e2a2 han sido reportados en pacientes con LMC y leucemia linfoblástica aguda (LLA).<sup>(14)</sup>

Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa reverso transcripción (del inglés RT-PCR), estandarizadas por el estudio conjunto europeo *Report of BIOMED-1 Concerted*

Action,<sup>(15)</sup> permiten el análisis cualitativo de diferentes alteraciones 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.<sup>(3)</sup>

El objetivo de este trabajo es describir el comportamiento de dos pacientes con diagnóstico de LMC en los cuales el estudio molecular del gen de fusión BCR/ABL fue positivo para el transcrito correspondiente a b3a3, de menor peso molecular con una baja frecuencia de aparición.

## Casos Clínicos

### Caso 1

Paciente masculino, de 51 años de edad, con diagnóstico de LMC en fase crónica, con anemia, leucocitos:  $90 \times 10^9/L$ , plaquetas:  $400 \times 10^9/L$ ; médula hiper celular con hiperplasia trilínea de predominio granulopoyético y presencia de 8 % de blastos mieloides. La biopsia de médula ósea (BMO) resultó hiper celular con hiperplasia de las tres series hematopoyéticas fundamentalmente granulopoyética. No se comprobó fibrosis medular por técnicas argénticas. En el estudio de biología molecular por técnica de PCR cualitativa se identificó un punto ruptura poco frecuente correspondiente al transcrito b3a3.

Inició tratamiento con mesilato de imatinib en dosis de 400 mg/día. A los dos meses de tratamiento comenzó con dolor en el hombro izquierdo, que luego se extendió al miembro superior izquierdo. Se le diagnosticó un tumor en la porción distal del húmero que infiltraba músculo y produjo fractura patológica. Se realizó una biopsia por excéresis y una fijación con osteosíntesis interna. Se concluyó que presentaba un sarcoma mieloides (crisis blástica extramedular).

En la BMO se informó infiltración mayor del 20 % de blastos (crisis blástica mieloides medular) e inició tratamiento de inducción de leucemia mieloides aguda (LMA) con esquema 3+7 (combinación de una antraciclina con arabinósido de citosina) asociado a imatinib en dosis de 800 mg/día, con lo que se logró remisión completa. Al culminar la inducción no pudo avanzar el tratamiento de consolidación para LMA por presentar cinco episodios de sepsis de la herida quirúrgica, celulitis, hematomas abscedados y trayecto fistuloso desde el codo hasta la herida quirúrgica por colonización por *Staphilococo*; motivo por el cual se le retiraron las láminas de osteosíntesis con colocación de órtesis externa. Según la evolución

del paciente se cambió a Nilotinib en una dosis 400 mg/día, el cual mantiene hasta la actualidad. Se realizó un BMO que se informó sin infiltración por blastos e hipocelular postquimioterapia.

## Caso 2

Paciente femenina, de 23 años de edad, con diagnóstico de LMC en fase crónica, con anemia, leucocitosis:  $64 \times 10^9/L$ , trombocitosis moderada, esplenomegalia de 6 cm. Inició tratamiento citorreductor con hidroxiurea. En el estudio de biología molecular por técnica de PCR cualitativa fue positivo para el transcripto del gen de fusión BCR-ABL, en el punto de ruptura b3a3. Comenzó con tratamiento con mesilato de imatinib en dosis de 400 mg/día. En la actualidad mantiene igual tratamiento, aunque en ocasiones ha sido necesario incorporar tratamiento citorreductor con hidroxiurea por presentar leucocitosis.

## Discusión

Los transcriptos b3a2 y b2a2 de fusión del gen BCR/ABL son los que se detectan con mayor frecuencia con RT-PCR en pacientes con LMC. El estudio conjunto europeo *Report of BIOMED-1 Concerted Action* estandarizó la identificación de dos nuevos transcriptos atípicos de bajo PM b2a3 y b3a3 detectados en menos del 1 %.<sup>(15,16)</sup> En los casos estudiados se observó un producto de amplificación que presentaba un PM similar al transcripto b3a3; al realizarse la PCR de comprobación (*shifted*) también se encontró una banda de menor peso molecular, que se corresponde con lo informado.

En la literatura se describen pacientes que presentan complicaciones como crisis blástica mieloide, lo cual se observó en el primer caso durante la evolución de su enfermedad.<sup>(17,18)</sup>

Los transcriptos BCR/ABL a2 son parte del dominio ABL SH3, el cual induce la leucomogénesis por regulación negativa del dominio SH1, y activa la expresión de STAT5.<sup>(19)</sup> El BCR/ABL a3 no presenta este dominio SH3, por lo cual se ha informado que los pacientes con este transcripto tienen buena respuesta al tratamiento con imatinib,<sup>(18,20)</sup> ya que el ABL a3 no cambia la secuencia que codifica el dominio de unión ATP/TKI. No obstante, en ocasiones la respuesta al fármaco puede verse afectada debido a modificaciones en la estructura terciaria en comparación con una fusión a2 típica.<sup>(21)</sup>

Los pacientes con BCR/ABL a3 presentan un curso más benigno de la enfermedad. Aunque en los pacientes estudiados no se observó una respuesta satisfactoria al tratamiento, el caso

1 se presentó una crisis blástica mieloide. En el caso 2, a pesar que se mantiene en tratamiento con nilotinib, fue necesaria la incorporación de tratamiento citorreductor por presentar en varios momentos de leucocitosis en la evolución de la enfermedad.

### Agradecimientos

A los doctores Rosa Oliday Ríos Jiménez, Agnerys López Sacerio y Ángel Almirall Chávez, especialistas que se encargaron de la atención médica de los pacientes estudiados.

### Referencias bibliográficas

1. Heisterkamp N, Stephenson JR, Groffen J, Hansen PF, de Klein A, Bartram CR, et al. Localization of the c-ABL oncogene adjacent to a translocation breakpoint in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*. 1983 Nov;306(5940):239-42.
2. Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973 Jun;243(5405):290-3.
3. Quintas-Cardama A, Cortes A. Molecular biology of bcr-abl1-positive chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009 Feb 19;113(8):1619-30. doi: 10.1182/blood-2008-03-144790.
4. Popovici C, Cailleres S, David M, Lafage Pochitaloff M, Sainty D, Mozziconacci MJ. E6a2BCR-ABL fusion with BCR exon 5-deleted transcript in a Philadelphia positive CML responsive to Imatinib. *Leuk Lymphoma*. 2005 Sep;46(9):1375-7.
5. Dushyant V, Hagop M.K, Jones D, Luthra R, Gautam Borthakur, Verstovsek S, et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with P190BCR-ABL: analysis of characteristics, outcomes, and prognostic significance. *Blood*. 2009 Sep;114(11):2232-5. doi: 10.1182/blood-2009-02-204693
6. Heisterkamp N, Stam K, Groffen J, de Klein A, Grosveld G. Structural organization of the BCR gene and its role in the Ph' translocation. *Nature*. 1985 Jun 27-Jul 3;315(6022):758-61.
7. Laurent E, Talpaz M, Kantarjian H, Kurzrock R. The BCR gene and Philadelphia chromosome-positive leukemogenesis. *Cancer Res*. 2001 Mar;61(6):2343-55.
8. Rotoli B, Pane F, Salvatore F, Saglio G. The e19a2 bcr/abl breakpoint in acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2000 Aug;110(2):493-6.

9. Okamoto K, Karasawa M, Sakai H, Ogura H, Morita K, Naruse T. A novel acute lymphoid leukaemia type BCR/ABL transcript in chronic myelogenous leukaemia. *Br J Haematol.* 1997;96:611-3.
10. López-Andrade B, Sartori F, Gutiérrez A, García L, Cunill V, Durán MA. Acute lymphoblastic leukemia with e1a3 BCR/ABL fusion protein. A report of two cases. *Exp Hematol Oncol.* 2016;5:21. doi: 10.1186/s40164-016-0049-y
11. Zagaria A, Anelli L, Coccaro N, Tota G, Casieri P, Cellamare A, et al. BCR-ABL1 e6a2 transcript in chronic myeloid leukemia: biological features and molecular monitoring by droplet digital PCR. *Virchows Arch.* 2015 Sep; 467(3):357-63. doi: 10.1007/s00428-015-1802-z
12. Duan MH, Li H, Cai H. A rare e13a3 (b2a3) BCR-ABL1 fusion transcript with normal karyotype in chronic myeloid leukemia: The challenges in diagnosis and monitoring minimal residual disease (MRD). *Leuk Res.* 2017 Aug;59:8-11. doi: 10.1016/j.leukres.2017.05.009
13. Vaniawala S, Acharya A, Parekh H, Mukhopadhyaya P. Rare e14a3 (b3a3) BCR-ABL Fusion in Chronic Myeloid Leukemia in India: The Threats and Challenges in Monitoring Minimal Residual Disease (MRD). *Anal Cell Pathol (Amst).* 2013;36(3-4):85-92.
14. Aya CA, Domingo J, Muskus CE, Ramírez G, Cuervo J, Sierra M, et al. Frecuencia de los transcriptos p190BCR-ABL y p210BCR-ABL en una población colombiana con leucemia mieloide crónica (LMC) usando RT-PCR cualitativa. *Iatreia.* 2014 oct-dic;27(4):398-409.
15. 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. *Leukemia.* 1999;13(12):1901-28.
16. Torres F, Ivanova-Drageva A, Pereira M, Veiga J, Rodrigues AS, Sousa AB, et al. An e6a2 BCR-ABL fusion transcript in a CML patient having an iliac chloroma at initial presentation. *Leuk Lymphoma.* 2007 May;48(5):1034-7.
17. Yao J, Douer D, Wang L, Arcila ME, Khedoudja N, Chiu A. A case of acute myeloid leukemia with e6a2 BCR-ABL fusion transcript acquired after progressing from chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Res Reps.* 2017;7:17-19. doi: 10.1016/j.lrr.2017.01.003
18. Chisti MM, Sanders DS. Chronic Myeloid Leukemia with b3a3 (e14a3) Fusion: A Rare BCR/ABL Rearrangement Presenting with Thrombocytosis – Does MTHFR Polymorphism Matter. *Case Rep Oncol.* 2018;11:485-92.



19. Jihye H, June-Won C, Saeam S, Seung-Tae L, Jong Rak C. Chronic Myeloid Leukemia With Rare Variant b2a3 (e13a3) BCR-ABL1 Fusion. *Ann Lab Med.* 2016;36(3):287-9.
20. Hu LH, Pu LF, Yang DD, Zhang C, Wang HP, Ding YY, et al. How to detect the rare BCR-ABL (e14a3) transcript: A case report and literature review. *Onco Lett.* 2017 Nov;14(5):5619-23.
21. Martinez-Serra J, del Campo R, Gutierrez A, Antich JL, Ginard M, Durán MA, et al. Chronic myeloid leukemia with an e1a3 BCR-ABL fusion protein: transformation to lymphoid blast crisis. *Biomark Res.* 2014 Aug;2:14. doi: 10.1186/2050-7771-2-14

### **Conflicto de intereses**

Los autores no declaran conflicto de intereses.

### **Contribuciones de los autores**

- Vera Ruiz Moleón: Realizó la recopilación de toda la bibliografía utilizada, seleccionó los artículos relevantes para la revisión. Hizo aportaciones importantes a la concepción del artículo, la redacción del borrador, la revisión crítica del contenido científico y la aprobación final de la versión que va a publicarse.
- Carmen Alina Díaz Alonso: Realizó la recopilación de la bibliografía relacionada con reporte de casos con patrones atípicos en las LMC y participó en la revisión crítica del contenido científico y la aprobación final de la versión que va a publicarse.
- Ana María Amor Vigil: Contribuyó con su experiencia en el reporte de casos con patrones atípicos en las oncohematologías y participó en la revisión crítica del contenido científico y la aprobación final de la versión que va a publicarse.
- Lesbia Fernández Martínez: Hizo aportaciones importantes a la concepción del artículo, la revisión crítica del contenido científico y la aprobación final de la versión que va a publicarse.
- Heidys Garrote Santana: Hizo aportaciones importantes a la concepción del artículo, la revisión crítica del contenido científico y la aprobación final de la versión que va a publicarse.