

## Caso atípico de leucemia mieloide aguda con coexistencia de NPM1-A e inversión del cromosoma 16

A rare case of acute myeloid leukemia with coexistence of NPM1-A mutation and chromosome 16 inversion

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>

Sheila González García<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1650-0272>

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

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

### RESUMEN

**Introducción:** La leucemia mieloide aguda (LMA) es un grupo heterogéneo de desórdenes clonales con una gran variabilidad en términos de patogénesis, características morfológicas, genéticas e inmunofenotípicas. Las mutaciones en el gen NPM1 representan una de las más comunes en las LMA y está asociada con una respuesta clínica favorable. Por citogenética, la inversión del cromosoma 16 define el subgrupo de las LMA de factor de unión al grupo con un pronóstico favorable.

**Objetivo:** Describir un caso con diagnóstico de LMA en los cuales el estudio molecular del gen NPM1 y de la inv(16) fueron positivos.

**Caso clínico:** A nivel molecular, la hibridación *in situ* fluorescente fue positivo a la inv(16) y por biología molecular fue positivo tanto a la inv(16) como al gen NPM1-A, elementos de baja frecuencia de aparición. Se le administró a la paciente un esquema de poliquimioterapia no intensiva para mejorarla clínicamente. Después de una mejoría clínica inicial, la paciente comenzó con complicaciones y falleció.

**Conclusiones:** La coexistencia de estas dos mutaciones es muy poco frecuente en pacientes con LMA, y a pesar de ser de buen pronóstico la paciente falleció a los pocos días de tratamiento.

**Palabras clave:** leucemia mieloide aguda; gen NPM1; inv(16); mutaciones genéticas cooperantes.

## ABSTRACT

**Introduction:** Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous group of clonal disorders with great variability in terms of pathogenesis, morphological, genetic and immunophenotypic characteristics. NPM1 mutations represent one of the most common in AML and are associated with favorable clinical response. By cytogenetics, chromosome 16 inversion defines, with a favorable prognosis, the core-binding factor for the subgroup of AMLs

**Objective:** To describe a AML case in which the molecular study of the NPM1 gene and the chromosome 16 inversion were positive.

**Clinical case:** At the molecular level, fluorescent *in situ* hybridization was positive for chromosome 16 inversion and, by molecular biology, it was positive for both chromosome 16 inversion and for the NPM1-A gene, elements with a low frequency of appearance. The patient was administered a non-intensive combination as part of a chemotherapy regimen to improve her clinical status. After initial clinical improvement, the patient began with complications and died.

**Conclusions:** The coexistence of these two mutations is very rare in patients with AML. Despite presenting a good prognosis, the patient died after a few days of treatment.

**Keywords:** acute myeloid leukemia; NPM1 gene; chromosome 16 inversion; cooperating gene mutations.

Recibido: 31/01/2020

Aceptado: 23/03/2020

## Introducción

La leucemia mieloide aguda (LMA) es un grupo heterogéneo de desórdenes clonales con una gran variabilidad en términos de patogénesis, características morfológicas, genéticas e

inmunofenotípicas de la población de blastos leucémicos, curso clínico y respuesta a la terapia.<sup>(1,2)</sup> Aunque esta heterogeneidad también se extiende a las mutaciones subyacentes, el efecto final es similar, en la que cada genotipo del paciente confiere proliferación desregulada, diferenciación dañada y una ventaja de supervivencia de las células leucémicas.<sup>(3)</sup>

Más de un evento mutagénico es probablemente necesario para dar origen a la enfermedad, que abarca los mecanismos de proliferación celular (los de clase I, tales como BCR-ABL, FLT3, RAS, c-Kit, PTPN11, NF1, TEL-PDGR $\beta$ ) y el bloqueo de diferenciación (mutaciones de la clase II, como CBF $\beta$ -MYH11, RUNX1/RUNX1T1, TEL-AML1, PML-RARA, MLL, NUP98-HOXA9, PU.1, C/CEP $\alpha$ , AML1, AML-AMP19, CEBPA, NPM1).<sup>(4,5)</sup> Las mutaciones de la clase I comprenden aquellas que activan la ruta de señalización para promover la proliferación y la supervivencia de los progenitores hematopoyéticos. En contraste, las mutaciones de la clase II afectan los factores de transcripción que dañan la diferenciación hematopoyética.<sup>(6)</sup>

Mientras que las mutaciones de la clase I son eventos típicamente posteriores, las mutaciones de la clase II ocurren tempranamente en la leucemogénesis, son estables durante el curso de la enfermedad, y por consiguiente se cree que son mutaciones iniciadoras. Además, las mutaciones de la clase II usualmente no coexisten y la presencia de cada una es frecuentemente asociada con características clínico-patológicas.<sup>(7)</sup>

La nucleofosmina (NPM1, conocida también como B23 o numatrina) es una proteína nucleocitoplasmática multifuncional en constante intercambio entre el núcleo y el citoplasma.<sup>(8)</sup> Se han descrito varias funciones para esta proteína, incluida el enlace a ácidos nucleicos,<sup>(9)</sup> regulación de la duplicación del centrosoma,<sup>(10)</sup> y la función ribosomal.<sup>(11)</sup> Adicionalmente, el NPM1 se enlaza a varias proteínas, incluida la p53 en sí, como también a proteínas que interactúan y regulan la p53. A través de estas interacciones, el NPM1 se cree que es el principal regulador inducido por estrés de la función de la p53 en respuesta a la hipoxia, radiaciones UV, y drogas citotóxicas.<sup>(12)</sup>

Las mutaciones en el gen NPM1 representan una de las más comunes en las LMA (46 %-62 %)<sup>(13)</sup> y está asociada con una respuesta clínica favorable.<sup>(14)</sup> Estas mutaciones son heterogéneas, se han identificado más de 50 variantes diferentes de las mismas. La variante más común es la inserción de cuatro nucleótidos en la posición 288-290 del exón 12. Las mutaciones tipo A con inserción de TCTG en la posición 288 es la aberración más frecuente (75 %-80 % de los casos).<sup>(15)</sup>

Por análisis citogenético, la inversión del cromosoma 16 (inv16) es detectado en aproximadamente el 8 % de adultos diagnosticados con LMA.<sup>(16)</sup> La inv(16) y la traslocación balanceada t(8;21)(q22;q22) definen el subgrupo de las LMA de factor de unión al grupo con un pronóstico favorable.<sup>(17)</sup>

A nivel molecular, la inv(16)(p13;q22) fusiona el gen CBFB localizado en 16q22 al gen MYH11 localizado en 16p13, resulta como producto una proteína quimérica.<sup>(18)</sup> La proteína de fusión CBFB-MYH11 bloquea el proceso de diferenciación de las células leucémicas mieloides a través del secuestro de CBFA2 en el citoplasma.<sup>(19)</sup> El complejo CBFA2/CBFB-MYH11 también actúa como represor transcripcional a través del reclutamiento de corepresores y actividades de histona desacetilasa modificadoras de cromatina.<sup>(20)</sup> Sin embargo, la expresión de la proteína quimérica CBFB-MYH11 sola no es suficiente para la leucemogénesis, y pueden ser necesarias mutaciones adicionales para conducir al desarrollo de LMA.<sup>(21)</sup>

Se reporta un caso con diagnóstico de LMA en los cuales el estudio molecular del gen NPM1 y de la inv(16) fueron positivos, de muy baja frecuencia de aparición.

### Caso clínico

Paciente femenino, de 26 años de edad, con antecedentes de gastritis crónica. Un mes antes del diagnóstico presentó un cuadro febril acompañado de decaimiento e íctero que se interpretó como una hepatitis aguda. Hubo empeoramiento del cuadro clínico y en el hospital se realizó un hemograma en el que se encontró: hemoglobina 85 g/L; conteo de plaquetas  $10 \times 10^9/L$ ; ocnteo de leucocitos  $15,3 \times 10^9/L$ ; células blásticas 080; segmentados 002; linfocitos 006; monocitos 002.

Al examen físico se encontró una marcada palidez cutáneo-mucosa y hepatomegalia de 4 cm y esplenomegalia de 5 cm, ambas muy dolorosas a la palpación superficial.

El coagulograma mostró trombocitemia grave: Glicemia 5,5 mmol/L; AST (TGO) 17,04 UI; ALT (TGP) 19,6 UI; GGT 136 UI; creatinina 39  $\mu\text{mol/L}$ ; proteínas totales 59 g/L; albúmina 39 g/L; globulinas 20 g/L.

En el medulograma se observó leucocitosis moderada con presencia de células blásticas de aspecto mieloide, algunas de estas células con presencia de bastones de Auer y granulaciones gruesas tipo Chédiak-Higashi. La médula fue hiper celular con depresión de los tres sistemas por infiltración de un 80 % de blastos de aspecto monocitoide con las alteraciones descritas en el extendido de sangre periférica. Se encontraron células de

maduración intermedia del granulopoyético. Se le diagnosticó leucemia mieloide aguda posible variedad mielomonocítica. Por inmunofenotipo se encontraron tres poblaciones de células. La primera población (representó el 20 % del total) fueron CD45+, CD13+, DR+, CDE15+, CD41+, CD33+ y CD34+. EL CD14, CD117, CD235a y CD38 fueron negativos. La segunda población (20 % del total) fueron CD45+, CD13+, CD41+, Cd33+, CD34+ y CD38+. El CD14, DR, CD15, CD235a fueron negativos. La tercera población (14 % del total) correspondió a linfocitos maduros y monocitos. Se concluyó LMA posible M2.

A nivel molecular, la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) fue positivo a la inv(16) y por biología molecular fue positivo tanto a la inv(16) como al NPM1-A.

Por el mal estado general de la paciente se decidió inicialmente administrar un esquema de poliquimioterapia no intensiva (COAP) para mejorarla clínicamente y posteriormente administrar la terapia de poliquimioterapia intensiva. Después de una mejoría clínica inicial, la paciente comenzó con intensificación del íctero y disminución de la diuresis que llegó a oligoanuria.

Falleció a los 24 días de iniciado el tratamiento en un cuadro de aplasia medular, con sangramiento digestivo alto e insuficiencia hepato renal.

## Discusión

El criterio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del 2016 para las LMA es al menos un 20 % de mieloblastos en la médula (o sangre) con linaje mieloide establecido por citometría de flujo multiparamétrica. Las excepciones al criterio  $\geq 20\%$  son casos de CBF LMA (anomalías citogenéticas t[8;21], inv[16], or t[16;16]), LMA con NPM1 mutado o leucemia promielocítica aguda; en cada uno el diagnóstico de LMA es independiente del % de blastos). El impacto pronóstico de muchos marcadores depende del contexto con el efecto de una anomalía dada que depende de la presencia o ausencia de otra. Algunos ejemplos de esas interacciones gen-gen son que una mutación en NPM1 transmite un pronóstico “favorable” solo en ausencia de un FLT3-ITD (o un FLT3-ITD con una relación alélica baja).<sup>(22)</sup>

Anomalías genéticas determinadas definen entidades específicas de la enfermedad, lo cual es esencial para el diagnóstico. Mientras que otras alteraciones son conocidas por tener un papel en la determinación del pronóstico, predicen la respuesta al tratamiento y supervivencia general.<sup>(23)</sup> Las mutaciones en el gen NPM1 son las más frecuentes que

ocurren en las LMA. Estas mutaciones identifican a pacientes que responden mejor a la quimioterapia, incluso en pacientes de edad avanzada.<sup>(24,25)</sup>

A su vez, en el análisis citogenético, la inv(16) es detectada en aproximadamente el 8 % de los adultos diagnosticados con LMA. Esta anomalía y la traslocación balanceada (8;21)(q22;q22) definen el subgrupo de LMA con factor de unión al núcleo (CBF por sus siglas en inglés *core-binding factor*) con un pronóstico favorable.<sup>(26)</sup>

En la paciente estudiada no se observó una respuesta satisfactoria al tratamiento, a pesar de que las mutaciones que presentaba eran de buen pronóstico.

Por otro lado, genes que codifican para RAS trifosfatasa de guanosina, como, NRAS (homólogo de oncogén viral de sarcoma de rata de neuroblastoma) y KRAS (homólogo de oncogén viral del sarcoma de rata de Kirsten) así como 2 miembros de la familia de tirosín quinasa tipo III, conocidos como KIT (v-kitHardy-Zuckerman 4 homólogo oncogén viral del sarcoma felino) y FLT3 (tirosina quinasa tipo FMS), se han descrito como frecuentes mutaciones secundarias en las LMA con inv(16).<sup>(27)</sup>

Ambas alteraciones genéticas están descritas como marcadores de buen pronóstico, sin embargo, la paciente falleció a los pocos días de iniciado el tratamiento. El fallecimiento estuvo relacionado con un sangrado digestivo alto e insuficiencia hepato renal en el curso de la aplasia postratamiento. No se puede descartar la presencia de otras alteraciones moleculares no estudiadas predictoras de mal pronóstico.

La coexistencia de NPM1 e inv(16) ha sido reportada en pocos casos en la literatura revisada, por lo que el estudio molecular de las leucemias permite una mejor caracterización genética y estratificación pronóstica de los pacientes.

### Agradecimientos

Al Dr. Carlos Hernández Padrón por su experiencia clínica en el caso de este reporte.

### Referencias bibliográficas

1. Burnett AK, Grimwade D. Acute Myeloid Leukaemia. In: Hoffbrand AV, Higgs DR, Keeling DM, Mehta AB, eds. Postgraduate Haematology. 7th ed. Oxford: Wiley; 2015. doi:10.1002/9781118853771.ch20
2. Döhner K, Döhner H. Molecular characterization of acute myeloid leukemia. Haematologic. 2008;93:976-82.

3. 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;31:40-8.
4. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;374(23):2209-21.
5. Dohner 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;129(4):424-47.
6. Döhner H. Implication of the molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007. *Blood.* 2017;129(4):424-47.
7. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. Acute Myeloid Leukemia-Genetic Alterations and Their Clinical Prognosis. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017;11(4):328-39.
8. Falini B, Martelli MP, Bolli N, Sportoletti P, Liso A, Tiacci E, et al. Acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin (NPM1): Is it a distinct entity? *Blood.* 2011;117(4):1109-20.
9. Schnittger S, Bacher U, Kern W, Alpermann T, Haferlach C, Haferlach T. Prognostic impact of FLT3-ITD load in NPM1 mutated acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2011;25(8):1297-1304.
10. Mullighan CG, Kennedy A, Zhou X, Radtke I, Phillips LA, Shurtleff SA, et al. Pediatric acute myeloid leukemia with NPM1 mutations is characterized by a gene expression profile with dysregulated HOX gene expression distinct from MLL-rearranged leukemias. *Leukemia.* 2007;21:2000-0-9.
11. Dohner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rucker FG, Corbacioglu A, et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: Interaction with other gene mutations. *Blood.* 2005;106:3740-6.
12. Qi J, Singh S, Hua WK, Cai Q, Chao SW, Li L, et al. HDAC8 inhibition specifically targets Inv(16) acute myeloid leukemic stem cells by restoring p53 acetylation. *Cell Stem Cell.* 2015;17:597-610.
13. Liu Y, He P, Liu F, Shi L, Zhu H, Zhao J, et al. Prognostic significance of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol.* 2014;2(2):275-81.

14. Freeman SD, Hills RK, Virgo P, Khan N, Couzens S, Dillon R, et al. Measurable residual disease at induction redefines partial response in acute myeloid leukemia and stratifies outcomes in patients at standard risk without NPM1 mutations. *J Clin Oncol*. 2018;36:1486-97.
15. Byrd JC, Mroczek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002;100(13):4325-36.
16. Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel. Behalf European Leukemia Net. *Blood*. 2010;115(3):453-74.
17. Liu P, Tarle SA, Hajra A, Claxton DF, Marlton P, Freedman M, et al. Fusion between transcription factor CBF beta/PEBP2 beta and a myosin heavy chain in acute myeloid leukemia. *Science*. 1993;261(5124):1041-4.
18. Metzeler KH, Bloomfield CD. Clinical relevance of RUNX1 and CBFβ alterations in acute myeloid leukemia and other hematological disorders. *Adv Exp Med Biol*. 2017;962:175-99.
19. 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;127:2451-9.
20. Shigesada, K., van de Sluis, B, Liu, P. Mechanism of leukemogenesis by the inv(16) chimeric gene CBFβ/PEBP2B-MHY11. *Oncogene*. 2004;23:4297-07.
21. Estey E.H. Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management. *Hematology*. 2018;93(10):1267-91.
22. Falini B, Mecucci C, Saglio G, Lo Coco F, Diverio D, Brown P et al. NPM1 mutations and cytoplasmic nucleophosmin are mutually exclusive of recurrent genetic abnormalities: a comparative analysis of 2562 patients with acute myeloid leukemia. *Haematologic*. 2008 Mar;93(3):439-42.
23. Tsai CH, Hou HA, Tang JL, Liu CY, Lin CC, Chou WC et al. Genetic alterations and their clinical implications in older patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016;30(7):1485-92.
24. Ostronoff F, Othus M, Lazenby M, Estey E, Appelbaum FR, Evans A et al. Prognostic significance of NPM1 mutations in the absence of FLT3-internal tandem duplication in



older patients with acute myeloid leukemia: a SWOG and UK National Cancer Research Institute/Medical Research Council report. *J Clin Oncol.* 2015;33(10):1157-64.

25. Boissel N, Leroy H, Brethon B, Philippe N, de Botton S, Auvrignon A et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia.* 2006;20(6):965-70.

26. Cairoli R, Beghini A, Ripamonti CB, Grillo G, Nadali G, Di Bona E, et al. Prevalence and prognostic impact of KIT mutations in acute myeloid leukemia with Inv(16): a retrospective study. *Blood.* 2007;110(11):1021-2.

### **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 de su contenido 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 de su contenido 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 de su contenido 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 de su contenido intelectual 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 de su contenido y la aprobación final de la versión que va a publicarse.
- Sheila González García: Hizo aportaciones en el estudio citogenético y en la confección del artículo.