Rev Venez Oncol 2016;28(4):261-271

IMPACTO DEL GEN DE FUSIÓN *ETV6/RUNX1* EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PEDIÁTRICA

ROCÍO SILVA-CRUZ, LUCINA BOBADILLA-MORALES, JORGE ROMÁN CORONA-RIVERA, ALFREDO CORONA-RIVERA

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA, GENOTOXICIDAD Y BIOMONITOREO INSTITUTO DE GENÉTICA HUMANA "DR. ENRIQUE CORONA RIVERA", DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÓMICA, CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. UNIDAD DE CITOGENÉTICA/SERVICIO DE HEMATOLOGÍA ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA, DIVISIÓN DE PEDIATRÍA, OPD HOSPITAL CIVIL DE GUADALAJARA "DR. JUAN I. MENCHACA". DOCTORADO EN GENÉTICA HUMANA, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÓMICA, CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA, JAL

RESUMEN

La leucemia linfoblástica aguda, es una de las neoplasias hematológicas más comunes en niños. Entre las diversas alteraciones genéticas en ella, resalta el gen de fusión *ETV6/RUNX1* que produce una modificación de la diferenciación linfoide normal y que resulta de la alteración cromosómica estructural más frecuente en esta leucemia pediátrica, la t(12;21)(p13;q22). Aunque *ETV6/RUNX1* es considerado un factor genético de buena respuesta al tratamiento, su influencia en el pronóstico de leucemia linfoblástica aguda es controversial, porque parece contribuir a la ocurrencia de recaída tardía. Revisamos el papel que desempeña este gen de fusión en el inicio y desarrollo de esta leucemia así como los abordajes metodológicos genéticos y moleculares para la identificación de dicha alteración.

PALABRAS CLAVE: Leucemia, linfoblástica, aguda, *ETV6/RUNX1*, factor genético pronóstico

SUMMARY

The acute lymphoblastic leukemia is one of the most common hematological malignancies in childhood. Among the various genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia, the fusion gene *ETV6/RUNX1*, produces a modification of the normal lymphoid differentiation and it results from the most common structural chromosomal abnormality in the pediatric acute lymphoblastic leukemia, the t(12;21)(p13;q22). Although *ETV6/RUNX1* considered a genetic factor of good response to treatment, its influence on the prognosis of the acute lymphoblastic leukemia is controversial because it appears to contribute to the occurrence of late relapse. We review the role of this gene fusion in initiation and development of acute lymphoblastic leukemia as well as genetic and molecular methodological approaches for identifying such alteration.

KEY WORDS: Leukemia, lymphoblastic, acute, ETV6/*RUNX1*, genetic factor, prognosis.

INTRODUCCIÓN

Debido a que la leucemia linfoblástica aguda (LLA) constituye una causa común de cáncer en edad pediátrica, el estudio de los cambios genéticos que permiten alteraciones en el desarrollo linfoide constituye parte indispensable de su abordaje en el diagnóstico, asignación de riesgo,

Recibido: 02/04/2016 Revisado:18/05/2016
Aceptado para publicación:15/07/2016

Correspondencia: Dr. Alfredo Corona Rivera**.** Laboratorio de Citogenética, Genotoxicidad y Biomonitoreo y Clínica de Asesoramiento Genético, Instituto de Genética Humana Dr. Enrique Corona Rivera, Departamento de Biología Molecular y Genómica División de Disciplinas Básicas. Centro Universitario Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara**,** Sierra Mojada, 950, S.L., Edif. P, segundo nivel C.P. 44340, Tel: 10585200, Guadalajara, Jal. E-mail: alcoronar@gmail.com

selección de tratamiento y seguimiento. Entre los cambios genéticos asociados a desarrollo linfoide se encuentra *ETV6/RUNX1*. Dicho gen de fusión es considerado factor genético controversial debido a su papel en el desarrollo de LLA y la recaída tardía [1-4].

LLA EN EDAD PEDIÁTRICA

La LLA, es la forma de cáncer pediátrico más común en países desarrollados, y en promedio representa un cuarto de todas las neoplasias malignas diagnosticadas en menores de 15 años de edad [5,6]. En México, la leucemia se presenta en aproximadamente el 49,8 % de casos de cáncer pediátrico, LLA constituye el tipo de leucemia más frecuente en niños de todas las edades [7].

La presentación clínica de LLA en el caso de los niños es inespecífica, los signos y síntomas son consecuencia de la falla medular y la afectación a órganos blanco [8-10]. El abordaje de LLA al diagnóstico y seguimiento reconoce la necesidad de integrar citomorfología, inmunofenotipo y la búsqueda de alteraciones genéticas, que permiten la implementación de estrategias de tratamiento más eficientes. Esto ha llevado a tasas de cura cercanas al 85 % entre los pacientes pediátricos con LLA [11]. Desafortunadamente cerca del 20 % de los pacientes recaerá, y del total de pacientes en recaída sólo un tercio alcanzará la segunda remisión [12,13].

La severidad de la LLA y el riesgo de recaída se han relacionado con factores socioeconómicos y condiciones intrínsecas al paciente que determinan en buena parte el curso de la enfermedad, entre las cuales se encuentran la edad (menores de 1 año de edad, mayores de 10 años de edad y adolescentes tienen mayor riesgo), conteo leucocitario, la raza y los cambios genéticos presentes al diagnóstico [14]. La información obtenida de estos datos permite clasificar a los pacientes en cuanto a riesgo (riesgo alto o bajo de recaída) para el establecimiento adecuado del tratamiento [5]. Además, la respuesta al tratamiento varía de acuerdo al grupo etario; los adolescentes muestran menor apego y tolerancia al tratamiento y parecen tener mejor respuesta a los esquemas pediátricos que a los regímenes de adultos [14].

La LLA es clasificada idealmente de acuerdo a las condiciones morfológicas celulares, a la integración de resultados genéticos y evaluación clínica del paciente. Si sólo se tiene acceso a evaluación citomorfológica de las células leucémicas, la opción es la clasificación citomorfológica FAB (*French-American-British*) que reconoce tres tipos específicos de LLA, llamados L1, L2 y L3. La mayor parte de los casos de LLA muestran características morfológicas compatibles con los subtipos L1 y L2, asociados a LLA de precursores de células B y una minoría, a precursores de células T (15). La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) o *World Health Organization* (*WHO,* por sus siglas en inglés) (2008) considera la presencia de alteraciones genéticas e inmunofenotípicas en células leucémicas, y la presencia de 20 % de linfoblastos en médula ósea. Además pondera las alteraciones genéticas en el diagnóstico y manejo de LLA [15,16]. De los genes involucrados en LLA (Cuadro 1), el gen de fusión *ETV6/RUNX1* está presente en el 25 % de los casos de LLA infantil [1].

ETV6/RUNX1 EN EL ESPECTRO DE ALTERACIONES GENÉTICAS DESCRITAS EN LLA DE CÉLULAS B

Todo proceso neoplásico eventualmente presenta cambios genéticos asociados a mecanismo que permiten la proliferación y supervivencia de las células malignas [17,18]. La LLA, surge a partir alteraciones genéticas (divididas en cromosómicas y génicas) y epigenéticas específicas asociadas a la activación o represión de genes blanco que intervienen en la diferenciación linfoide, supresión de tumores,

Cuadro 1. Clasificación de leucemia linfoblástica aguda de acuerdo a WHO (2008).

CATEGORÍAS	TIPO	GENES	PRONÓSTICO
Leucemia linfoblástica B/linfoma, con anomalías genéticas recurrentes	LL-B con t(9;22)(q34;q11.2)	[BCR-ABL1]	Pobre
	LL-B con t(v;11q23)	[MLL]	Pobre
	LL-B con t(12;21)(p13;q22)	[ETV6-RUNX1]	Bueno
	LL-B con hiperdiploidía	-	Bueno
	LL-B con hipodiploidía	-	Pobre
	LL-B con t(5;14)(q31;q32)	[IL3-IGH]	Pobre
	LL-B con t(1;19)(q23;p13.3)	[TCF3-PBX1]	Pobre->Bueno
Leucemia linfoblástica B/linfoma, sin anomalía recurrente ("not otherwise specified")	Anomalías genéticas no recurrentes o no detección.	-	-
Leucemia linfoblástica T/linfoma	LL-T	[TCR alfa, beta, delta, gama], otros	Pobre

LL-B: leucemia linfoblástica de células B. LL-T: leucemia linfoblástica de células T.

control del ciclo celular, apoptosis y/o vías de señalización, que como consecuencia modifican las redes de regulación normal de diferenciación hematopoyética [5,6,19-21].

DIFERENTES ALTERACIONES GENÉTICAS EN LA LLA Y MECANISMO DE PRODUCCIÓN DE *ETV6/RUNX1*

Los pacientes pediátricos con LLA de células B presentan aberraciones cromosómicas en 75 % a 80 % de los casos. Los tipos de alteraciones citogenéticas suelen ser diferentes según el grupo etario e incluyen euploidías, aneuploidías (hiperdiploidía, hipodiploidía) y rearreglos estructurales, principalmente translocaciones. Las alteraciones genéticas estructurales más frecuentes en LLA incluyen: translocaciones cromosómicas [t(12;21) origen de *ETV6/RUNX1*, t(1;19) origen de *TCF3/PBX1*, t(9;22) origen de *BCR/ABL1*] y rearreglos de *MLL*. La heterogeneidad de estas alteraciones genéticas determina el curso de la LLA. Cada tipo de modificaciones genéticas es dependiente en forma diferente de otros cambios genéticos para el desarrollo de leucemia, así los rearreglos de *MLL* requieren muy pocas alteraciones genéticas adicionales y por el contrario genes como *BCR/ABL1* y *ETV6/RUNX1* requieren más alteraciones

para leucemogénesis [3,10, 19, 22,23].

En la práctica, el reto habitual es la detección del mayor número posible de alteraciones genéticas para cada caso particular, con la consecuente asignación de riesgo y establecimiento del mejor tratamiento. El 75 % de las alteraciones genéticas que se presentan en LLA pueden ser detectadas mediante cariotipo, FISH y técnicas moleculares. Las génicas pueden ser detectadas en el DNA con estrategias diversas de análisis molecular de integridad o expresión de genes, utilizando métodos tales como reacción en cadena de la polimerasa (PCR), secuenciación, amplificación de sondas de ligando múltiple (MLPA), o secuenciación masiva (NGS); para el estudio de los cromosomas se requiere de estrategias de análisis celular (cariotipo) o moleculares/citológicas [hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH), microarreglos] [3,14].

Como posible resultado de las translocaciones cromosómicas, se encuentran los genes de fusión. La expresión de estos genes de fusión da origen a proteínas quiméricas, las cuales muestran cambios en estructura y función en comparación con proteínas normales [24]. La t(12;21) descrita en 1994, es el rearreglo cromosómico más frecuente en LLA de células B, se estima que se encuentra en el 25 % de los casos de LLA en niños. Este rearreglo cromosómico da como resultado la fusión de dos genes implicados en la hematopoyesis: *ETV6* y *RUNX1* [10,22,25]. *ETV6/RUNX1* es el gen de fusión identificado de forma más frecuente en pacientes con LLA, en edades de entre 1 y 4 años de edad. Esta cifra va en decremento conforme aumenta la edad de los pacientes, llegando a 13 % en pacientes de 18 años de edad [2,24,25]. Los reportes de frecuencia varían entre el 6 % y el 34,9 % de los casos de LLA, dependiendo de la población estudiada [25]. Se ha reportado que la frecuencia de *ETV6/RUNX1* en población de niños con LLA en México (8,7 %), es menor en comparación con poblaciones diferentes a la hispana [26].

La fusión parcial de estos dos genes, involucra puntos de ruptura clásicos. Para *ETV6*, se han descrito punto de ruptura común entre los exones 5 y 6, (en un número limitado de casos se ha reportado punto de ruptura en el exón 4). En el caso de *RUNX1*, el punto de ruptura suele darse en el intrón 1 (se han reportado rupturas en el intrón 2). De acuerdo a lo anterior, en la mayoría de los pacientes con este rearreglo, el gen de fusión resultante consiste en la unión del exón 5 del *ETV6* y el exón 2 de *RUNX1* (Figura 1) [27,28].

La t(12;21) involucra a los cromosomas 12p13 y 21q22. Estas dos regiones cromosómicas contienen a los genes *ETV6* (ubicado en el cromosoma 12) y *RUNX1* (localizado en el cromosoma 21). Este rearreglo génico une la porción 5´ de *ETV6* y casi la totalidad de *RUNX1*. Ambos genes son reguladores importantes en el proceso de hematopoyesis. *RUNX1* es miembro de familia de unión a factores de transcripción, es parte clave en procesos de diferenciación hematopoyética y *ETV6* es un factor de transcripción requerido para la hematopoyesis realizada en médula ósea [25,29].

De *RUNX1*, se sabe que es miembro de la familia de factores de transcripción de unión por heterodímeros, es uno de los factores más importantes relacionados con la diferenciación hematopoyética durante período embrionario. Su participación es importante en la diferenciación de células endoteliales a células madre hematopoyéticas, posteriormente regula la progresión de dichas células y emprende la diferenciación de las células de líneas mieloide y linfoide. Lo anterior, es posible gracias a que interacciona con diversos factores de transcripción, tanto para su activación como su represión [4]. Entre las interacciones que se conocen de *RUNX1* se encuentran la que tiene con p300/CBP (el cual se propone como coactivador de *RUNX1*) [30] y la que guarda con mSin3A y HDACs (para mecanismo de represión) [31,32]. En el caso de *ETV6*, este codifica para un

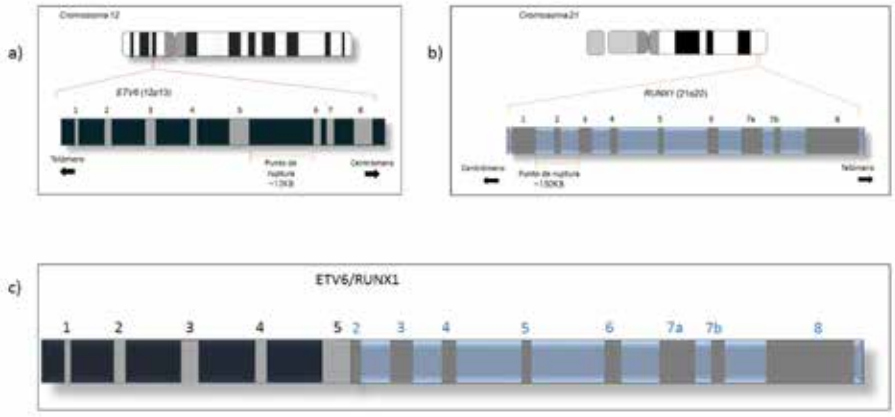

Figura 1. Puntos de ruptura y fusión de *ETV6* y *RUNX1*. a) Localización de *ETV6* en el cromosoma 12, se expone la zona común descrita de punto de ruptura del *ETV6*. b) Localización de *RUNX1* en el cromosoma 21, se expone la zona común descrita de punto de ruptura del *RUNX1*. c) Forma común del gen de fusión *ETV6/RUNX1*. En tono gris se pueden apreciar los exones de ambos genes.

represor transcripcional que posee dos dominios funcionales: un dominio C terminal de unión al ADN, que reconoce regiones promotoras en genes blanco y un dominio N terminal con homodimerización indispensable para represión transcripcional. La regulación que ejerce *ETV6* es parte indispensable en el crecimiento y diferenciación celular. Deleciones o mutaciones de *ETV6* resultan en pérdida de su expresión y por tanto en una inadecuada regulación en la hematopoyesis [33,34].

La función alterada producto de este gen de fusión da como resultado una inhibición activa de los promotores regulados por *RUNX1*; la proteína tiene un componente oncogénico mediado por cambio en la naturaleza y cantidad de factores transcripcionales que son reclutados para la regulación de otros genes blanco implicados en la diferenciación de células multipotenciales hematopoyéticas, la alteración en la regulación hace que *RUNX1* pase de ser modulador transcripcional a represor transcripcional [35,36].

En cuanto a su identificación la t(12;21), es una translocación que difícilmente puede ser identificada a nivel de citogenética convencional [37]. El cariotipo tiene una sensibilidad del 6 %, debido a la morfología que adquieren los cromosomas obtenidos de médula ósea y a la resolución que en sí ofrece el cariotipo; por lo cual, el abordaje de una muestra de paciente con leucemia debe ser evaluada de preferencia con técnica FISH, debido a que esta última muestra una sensibilidad mayor (21 %) comparado con cariotipo para la identificación de este rearreglo [24,38]. Además, mediante FISH es posible incluso identificar otro tipo de rearreglos como ganancias o deleciones de los genes involucrados con o sin la presencia de *ETV6/RUNX1*. Adicionalmente, se han reportado casos en los cuales dicho gen de fusión no ha sido identificado con los de estudios citogenéticos comentados previamente pero sí mediante estudio molecular tipo RT-PCR, lo anterior parece ser consecuencia de la dificultad para identificar una señal tan pequeña con un filtro de doble paso en el estudio FISH [37].

ETV6/RUNX1 E IMPLICACIONES CLÍNICO-BIOLÓGICAS DE LLA DE CÉLULAS B

Este gen de fusión tiene un especial interés en el momento del diagnóstico para el establecimiento de riesgo y también para la selección del tratamiento. El factor pronóstico que se asigna a *ETV6/RUNX1* aún es incierto y ampliamente discutido [39]. Sobre su papel en la evolución de LLA, un estudio con líneas celulares reportó que *ETV6/RUNX1* activa la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR, lo cual parece desempeñar un papel importante en el mantenimiento de la enfermedad. Los resultados mostraron que cuando se suprimió la proteína que resulta de la expresión de *ETV6/RUNX1* en líneas celulares, la proliferación y supervivencia disminuyeron [40]. Aunado a lo anterior, estudios previos han relacionado la presencia de *ETV6/RUNX1* con factores clínicos y biológicos en LLA pediátrica (como edad, inmunofenotipo y conteo leucocitario), y han mostrado diferencias entre los grupos con presencia o ausencia de este gen de fusión; los factores conocidos como de buen pronóstico suelen encontrarse de forma más frecuente en los casos positivos para *ETV6/RUNX1* [41-43].

En los casos de pacientes menores de 1 año de edad, la presencia de *ETV6/RUNX1* no parece ofrecer el pronóstico favorable que se asigna a niños mayores (en estos casos los factores de asignación de riesgo están determinados por la edad y características clínicas) [44]. Por el contrario, la presencia de *ETV6/RUNX1* en niños de 1 a 9 años de edad, es considerada como una de las anormalidades genéticas favorables en cuanto al pronóstico. La presencia de ciertos genes de fusión como *ETV6/RUNX1* y *BCR/ABL1* en LLA, pueden encontrarse por años antes de que se manifieste clínicamente la leucemia [5,14,22].

Las etapas, el manejo y los desenlaces posibles de LLA de células B se indican en la Figura 2. Se observa también que la recaída puede suceder en cualquier momento terapéutico. Estudios previos exponen las diferencias que existen en la remisión y el riesgo de recaída para los pacientes que son portadores de la t(12;21). Para

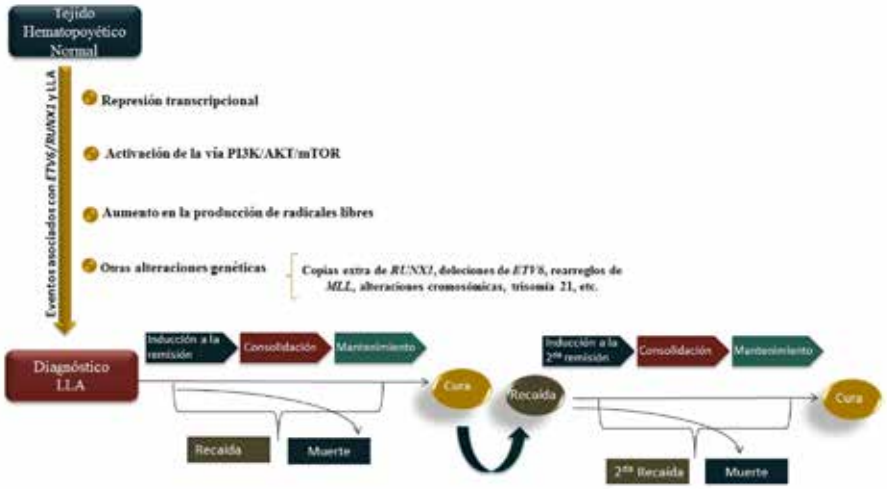

Figura 2. Evolución de pacientes con LLA de células B. Se muestran eventos asociados a *ETV6/RUNX1* que permiten la transformación hematológica para el desarrollo de LLA y se exponen las etapas de tratamiento y seguimiento así como los posibles eventos en el curso de la LLA.

algunos, la intensificación en el tratamiento no depende de la presencia o ausencia de este gen de fusión y para otros se debe tener presente que incluso los casos que son considerados de bajo riesgo necesitan cierto grado de intensificación en el tratamiento con el fin de evitar recaída. En otro punto de interés, se ha expuesto que no hay diferencias significativas en cuanto a la sobrevida y al período libre de eventos en presencia o ausencia de *ETV6/RUNX1* [5,22,39] e incluso se ha reportado que no hay diferencia significativa independientemente del grupo de riesgo que se asigne al paciente en presencia de este gen de fusión [45].

Este rearreglo cromosómico ha sido identificado en recién nacidos y en individuos adultos sanos; esto y lo previamente descrito, hacen que su presencia continúe siendo tema de discusión. Se ha considerado que la identificación de *ETV6/RUNX1* se debe a falsos positivos en los resultados de citogenética molecular [46]. Al respecto de este punto, es conocido que en estudios de gemelos monocigóticos, la presencia de *ETV6/RUNX1* en ambos, apoya el hecho del origen prenatal del rearreglo en una clona preleucémica. Además se conoce que la presencia de otras anomalías génicas secundarias contribuye a leucemogénesis en los casos positivos para *ETV6/RUNX1* [44,47]. De esta forma la posibilidad del desarrollo de LLA está relacionada con la teoría del segundo golpe, hay reportes que indican que la leucemia puede presentarse incluso 10 años después y se requiere la presencia de un evento genético secundario para que se desarrolle la patología [14,29,48].

Por otra parte, se ha observado que el número de mutaciones requeridas para LLA depende en cierta parte de los genes afectados e involucrados en la patología. Los casos con presencia de los genes de fusión *ETV6/RUNX1* y *BCR/ABL1*, requieren entre 6 y 8 lesiones por caso para inducir transformación leucémica [5,14]. Adicionalmente, se ha propuesto que la presencia de *ETV6/RUNX1* predispone a un aumento en la producción de radicales libres y como consecuencia rompimientos de doble hebra en el ADN, estos rompimientos son prerrequisito para mutagénesis, que a su vez es causa de otras alteraciones genéticas [29]. Existen reportes que muestran que alrededor del 80 % de los casos positivos para *ETV6/RUNX1*, en la primera evaluación de LLA, se encuentran otras alteraciones génicas en alguno de los genes involucrados en la translocación. En el caso de *RUNX1*, el 23 % de los casos con la translocación presentan copias extra de este gen [49,50], se han reportado también deleciones de *ETV6*, alteraciones cromosómicas (numéricas y estructurales), anomalías de *MLL* [51], trisomía 21 [52] y en otros casos con iAMP21 se observan de 6 a 10 copias de *RUNX1* incluso sin la presencia de *ETV6/RUNX1* [53].

En cuanto a la posibilidad de recaída, aún es tema complicado el riesgo que se ha asignado a la presencia de *ETV6/RUNX1*. Se ha reportado que aproximadamente el 20 % de los pacientes que son positivos para *ETV6/RUNX1* recaen, aunque actualmente con la intensificación en los protocolos de tratamiento la frecuencia de recaída en LLA de pacientes positivos para *ETV6/RUNX1* ha mostrado decremento. Por otro lado, en los casos positivos para *ETV6/RUNX1*, no se han encontrado diferencias significativas por género referentes a la presencia de recaída a 5 años ni al tipo de recaída por localización, sin embargo, se ha reportado que en el caso de los varones, el riesgo de recaída aislada a testículo después de 36 meses es mayor en los casos que son positivos para *ETV6/RUNX1* [54]. *ETV6/RUNX1* se ha identificado como la alteración genética en clona preleucémica minoritaria al diagnóstico que emerge en la recaída, la cual suele ser tardía; aproximadamente el 80 % de los casos de recaída tardía con *ETV6/RUNX1* logran ser tratados con éxito [11]. En cuanto a los cambios al diagnóstico y la recaída, se han

asociado variaciones en el número de copias, las cuales suelen ser más en la recaída comparadas con el diagnóstico, aunque en el 78,6 % se relacionó un ancestro común. Las variaciones en el número de copias se ha relacionado con genes que permiten el desarrollo de leucemia y la resistencia a tratamiento, tales como *NR3C1* y *BMF* [55]. Además, en modelos experimentales con *ETV6/RUNX1* se han reportado defectos en los receptores de glucocorticoides, mostrando poca respuesta y con subsecuente recaída. En el entorno clínico es sabido que la resistencia a glucocorticoides durante la recaída suele depender de una resistencia a drogas [56].

Todo lo anterior posiciona a *ETV6/RUNX1* como una de las anomalías genéticas más trascendentales en el diagnóstico y manejo de LLA en niños, y es por ello que constituye uno de los ejes principales de investigación en diversas partes del mundo.

CONCLUSIONES

La LLA es el tipo de leucemia más frecuente en población pediátrica de México, como cualquier tipo de cáncer es el resultado de la interacción de diferentes condiciones tanto intrínsecas como extrínsecas al paciente, los factores genéticos son determinantes en el curso de la misma pues establecen evolución, riesgo y respuesta al tratamiento. Con una frecuencia de presentación aproximada al 25 % en los casos de LLA en niños, *ETV6/RUNX1* constituye una de las alteraciones genéticas importantes por su implicación clínica. Es el resultado de la fusión de dos genes implicados en diferenciación hematopoyética y control transcripcional. Su presencia al diagnóstico es considerada como buen factor pronóstico para la respuesta al tratamiento en niños de 1 a 9 años de edad. Es conocido que para el desarrollo de leucemogénesis es necesaria la presencia de otras lesiones adicionales al genoma (las cuales pueden ser resultado de las condiciones de mutagénesis que se han relacionado con *ETV6/RUNX1*) y que *ETV6/RUNX1* puede encontrarse varios años antes del diagnóstico, incluso de forma prenatal. Sin embargo, es sumamente controversial para el pronóstico de recaída tardía. *ETV6/RUNX1* ha sido identificado como clona minoritaria al diagnóstico con emergencia en la recaída. En los casos de recaída con *ETV6/RUNX1*, el 80 % logra la segunda remisión. De ahí que en la práctica diaria el pronóstico que se asigna a *ETV6/RUNX1* es incierto y ampliamente discutido. Lo anterior parece estar relacionado con factores clínicos y biológicos de LLA pediátrica, a las diferencias entre los grupos con presencia o ausencia de este gen de fusión y los factores favorables que suelen encontrarse en los casos positivos para *ETV6/RUNX1*.

ETV6/RUNX1 es difícilmente identificado en citogenética convencional, requiere la utilización de FISH y de técnicas moleculares para su estudio. Gracias a la aplicación de dichas técnicas se han identificado ganancias o deleciones de los genes implicados, anomalías en *MLL*, trisomía o amplificaciones del cromosoma 21; debido a esto es que el abordaje ideal para un paciente con diagnóstico y seguimiento de LLA pediátrica debe realizarse tanto por citogenética como por biología molecular, con el fin de garantizar la identificación del mayor número de alteraciones genéticas posibles y relacionarlas adecuadamente con la presentación clínica de cada caso particular.

REFERENCIAS

1. Pui CH, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: An update. J Clin Oncol. 2011;29(5):551-565.
2. Alonso CN, Gallego MS, Rossi JG, Medina A, Rubio PL, Bernasconi AR, et al. RT-PCR diagnosis of recurrent rearrangements in pediatric acute lymphoblastic leukemia in Argentina. Leuk Res. 2012;36(6):704-708.

3. Mullighan CG. The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2012;2012:389-396.

4. Rossetti S, Sacchi N. RUNX1: A microRNA Hub in normal and malignant hematopoiesis. Int J Mol Sci. 2013;14(1):1566-1588.

5. Pui CH. Recent research advances in childhood acute lymphoblastic leukemia. J Formos Med Assoc. 2010;109(11):777-787.

6. Sherborne AL, Hemminki K, Kumar R, Bartram CR, Stanulla M, Schrappe M. Rationale for an international consortium to study inherited genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. Haematologica. 2011;96(7):1049-1054.

7. Rivera-Luna R, Shalkow-Klincovstein J, Velasco-Hidalgo L, Cárdenas-Cardós R, Zapata-Tarrés M, Olaya-Vargas A, et al. Descriptive epidemiology in Mexican children with cancer under an open national public health insurance program. BMC Cancer. 2014;14:790.

8. Henze G, von Stackelberg A. Relapsed acute lymphoblastic leukemia. En: Ching-Hon Pui, editor. Childhood Leukemias. Memphis Tennessee: Cambridge University Press; 2006.p.473-486.

9. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia. En: Ching-Hon Pui, editor. Childhood Leukemias. Memphis Tennessee: Cambridge University Press; 2006.p.439-472.

10. Woo JS, Alberti MO, Tirado CA. Childhood B-acute lymphoblastic leukemia: A genetic update. Exp Hematol Oncol. 2014;3:16.

11. Bhojwani D, Pui CH. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. Lancet Oncol. 2013;14(6):e205-217.

12. Bhatia S, Landier W, Shangguan M, Hageman L, Schaible AN, Carter AR, et al., Non adherence to oral mercaptopurine and risk of relapse in hispanic and non-hispanic white children with acute lymphoblastic leukemia: A report from the children's oncology group. J Clin Oncol. 2012;30(17):2094-2101.

13. Essig S, von der Weid NX, Strippoli MP, Rebholz CE, Michel G, Rueegg CS, et al. Health-related quality of life in long-term survivors of relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. PLoS One. 2012;7(5):e38015.

14. Inaba H, Greaves M, Mullighan G. Acute lymphoblastic leukaemia. Lancet. 2013;381(9881):1943-1955.

15. Onciu M, Pui CH. Diagnosis and classification. En: Ching-Hon Pui, editor. Childhood Leukemias. Memphis Tennessee: Cambridge University Press; 2006.p.21-47.

16. Borowitz MJ, Chan J KC. Precursor lymphoid neoplasms. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris LN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. editores. WHO classification of hematologic and lymphoid tissue. 4ª edición. Lyon, France: WHO. Internacional Agency for Research of Cancer (IARC); 2008.p.167-178.

17. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000;100(1):57-70.

18. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. Cell. 2011;144(5):646-674.

19. Mullighan CG, Downing JR. Global genomic characterization of acute lymphoblastic leukemia. Semin Hematol. 2009;46(1):3-15.

20. Mullighan CG. New strategies in acute lymphoblastic leukemia: Translating advances in genomics into clinical practice. Clin Cancer Res. 2011;17(3):396-400.

21. Somasundaram R, Prasad MA, Ungerbäck J, Sigvardsson M. Transcription factor networks in B-cell differentiation link development to acute lymphoid leukemia. Blood. 2015;126(2):144-152.

22. Mullighan CG. Genomic analysis of acute leukemia. Int J Lab Hematol. 2009;31(4):384-397.

23. Shaikh MS, Ali SS, Khurshid M, Fadoo Z. Chromosomal abnormalities in Pakistani children with acute lymphoblastic leukemia. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(9):3907-3909.

24. Carranza C, Granados L, Morales O, Jo W, Villagran S, Tinti D, et al. Frequency of the ETV6-RUNX1, BCR-ABL1, TCF3-PBX1, and MLL-AFF1 fusion genes in Guatemalan pediatric acute lymphoblastic leukemia patients and their ethnic associations. Cancer Genet. 2013;206(6):227-232.

25. Rahnemoon AR, Zaker F, Izadyar M, Ansari S, Poopak B, Tadavosyan Y. Prevalence of ETV6/RUNX1 fusion gene in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia in Iran. Iran J Pediatr. 2013;23(6):681-686.

26. Pérez-Vera P, Salas C, Montero-Ruiz O, Frías S, Dehesa G, Jarquín B, et al, Analysis of gene rearrangements using a fluorescence in situ hybridization method in Mexican patients with acute lymphoblastic leukemia: Experience at a single institution. Cancer Genet Cytogenet. 2008;184(2):94-98.

27. 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;13(12):1901-1928.

28. von Goessel H, Jacobs U, Semper S, Krumbholz M, Langer T, Keller T, et al. Cluster analysis of genomic *ETV6–RUNX1* (*TEL–AML1*) fusion sites in childhood acute lymphoblastic leukemia. Leuk Res. 2009;33(8):1082-1088.

29. Kantner HP, Warsch W, Delogu A, Bauer E, Esterbauer H, Casanova E, et al. ETV6/RUNX1 induces reactive oxygen species and drives the accumulation of DNA damage in B cells. Neoplasia. 2013;15(11):1292-1300.

30. Kitabayashi I, Yokoyama A, Shimizu K, Ohki M. Interaction and functional cooperation of the leukemia-associated factors AML1 and p300 in myeloid cell differentiation. EMBO J. 1998;17(11):2994-3004.

31. Fenrick R, Amann JM, Lutterbach B, Wang L, Westendorf JJ, Downing JR, el al. Both TEL and AML-1 contribute repression domains to the t(12;21) fusion protein. Mol Cell Biol. 1999;19(10):6566-6574.

32. Lutterbach B, Westendorf JJ, Linggi B, Isaac S, Seto E, Hiebert SW. A mechanism of repression by acute myeloid leukemia-1, the target of multiple chromosomal translocations in acute leukemia. J Biol Chem. 2000;275(1):651-656.

33. Guidez F, Petrie K, Ford AM, Lu H, Bennett CA, MacGregor A, et al. Recruitment of the nuclear receptor corepressor N-CoR by the TEL moiety of the childhood leukemia-associated TEL-AML1 oncoprotein. Blood. 2000;96(7):2557-2561.

34. Barjesteh van Waalwijk van Doorn-Khosrovani S, Spensberger D, de Knegt Y, Tang M, Löwenberg B, Delwel R. Somatic heterozygous mutations in ETV6 (TEL) and frequent absence of ETV6 protein in acute myeloid leukemia. Oncogene. 2005;24(25):4129-4137.

35. Fischer M, Schwieger M, Horn S, Niebuhr B, Ford A, Roscher S, et al. Defining the oncogenic function of the TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) fusion protein in a mouse model. Oncogene. 2005;24(51):7579-7591.

36. Fuka G, Kauer M, Kofler R, Haas OA, Panzer-Grümayer R. The leukemia-specific fusion gene ETV6/RUNX1 perturbs distinct key biological functions primarily by gene repression. PLoS One. 2011;6(10):e26348.

37. Hahm C, Han SH, Mun YC, Seong CM, Chung WS, Huh J. *ETV6/RUNX1* rearrangement identified by RT-PCR without evidence on FISH. Acta Haematol. 2014;132(1):122-124.

38. Kim BR, Choi JL, Kim JE, Woo KS, Kim KH, Kim JM, et al. Diagnostic utility of multi probe fluorescence in situ hybridization assay for detecting cytogenetic aberrations in acute leukemia. Ann Lab Med. 2014;34(3):198-202.

39. Zen PR, Capra ME, Silla LM, Loss JF, Fernandes MS, Jacques SM, et al. ETV6/RUNX1 fusion lacking prognostic effect in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. Cancer Genet Cytogenet. 2009;188(2):112-117.

40. Fuka G, Kantner HP, Grausenburger R, Inthal A, Bauer E, Krapf G, et al. Silencing of ETV6/RUNX1 abrogates PI3K/AKT/mTOR signaling and impairs reconstitution of leukemia in xenografts. Leukemia. 2012;26(5):927-933.

41. Borkhardt A, Cazzaniga G, Viehmann S, Valsecchi MG, Ludwig WD, Burci L, et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. Blood. 1997; 90(2):571-577.

42. Loh ML, Rubnitz JE. TEL/AML1-positive pediatric leukemia: Prognostic significance and therapeutic approaches. Curr Opin Hematol. 2002;9(4):345-352.

43. Attarbaschi A, Mann G, König M, Dworzak MN, Trebo MM, Mühlegger N, et al. Incidence and relevance of secondary chromosome abnormalities in childhood TEL/AML1+ acute lymphoblastic leukemia: An interphase FISH analysis. Leukemia. 2004;18(10):1611-1616.

44. Emerenciano M, Bungaro S, Cazzaniga G, Dorea MD, Coser VM, Magalhães IQ, et al. *ETV6–RUNX1* fusion gene and additional genetic changes in infant leukemia: A genome-wide analysis. Cancer Genet Cytogenet. 2009;193(2):86-92.

45. Forestier E, Heyman M, Andersen MK, Autio K, Blennow E, Borgström G, et al. Outcome of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: Frequent late relapses but good overall survival. Br J Haematol. 2008;140(6):665-672.

46. Kusk MS, Lausten-Thomsen U, Andersen MK, Olsen M, Hjalgrim H, Schmiegelow K. False positivity of ETV6/RUNX1 detected by FISH in healthy newborns and adults. Pediatr Blood Cancer. 2014;61(9):1704-1706.

47. Pais AP, Amare Kadam PS, Raje GC, Banavali S, Parikh P, Kurkure P, et al. RUNX1 aberrations in ETV6/RUNX1-positive and ETV6/RUNX1

negative patients: its hemato-pathological and prognostic significance in a large cohort (619 cases) of ALL. Pediatr Hematol Oncol. 2008;25(6):582-597.

48. Amare Kadam PS, Raje GC, Pais AP, Banavali S. Coexistence of *ETV6/RUNX1* and *MLL* aberrations in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia discloses a small subclass of BCP-ALL. Cancer Genet Cytogenet. 2008;182(1):27-32.

49. Stams WA, Beverloo HB, den Boer ML, de Menezes RX, Stigter RL, van Drunen E, et al. Incidence of additional genetic changes in the TEL and AML1 genes in DCOG and COALL-treated t(12;21)-positive pediatric ALL, and their relation with drug sensitivity and clinical outcome. Leukemia. 2006;20(3):410-416.

50. Bokemeyer A, Eckert C, Meyr F, Koerner G, von Stackelberg A, Ullmann R, et al. Copy number genome alterations are associated with treatment response and outcome in relapsed childhood ETV6/RUNX1-positive acute lymphoblastic leukemia. Haematologica. 2014;99(4):706-714.

51. Alvarez Y, Coll MD, Ortega JJ, Bastida P, Dastugue N, Robert A, et al. Genetic abnormalities associated with the t(12;21) and their impact in the outcome of 56 patients with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. Cancer Genet Cytogenet. 2005;162(1):21-29.

52. Ma SK, Wan TS, Cheuk AT, Fung LF, Chan GC, Chan SY, et al. Characterization of additional genetic events in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL/AML1 gene fusion: A molecular cytogenetics study. Leukemia. 2001;15(9):1442-1447.

53. Garcia DR, Arancibia AM, Ribeiro RC, Land MG, Silva ML. Intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21) detected by ETV6/RUNX1 FISH screening in childhood acute lymphoblastic leukemia: A case report. Rev Bras Hematol Hemoter. 2013; 35(5):369-371.

54. Gandemer V, Chevret S, Petit A, Vermylen C, Leblanc T, Michel G, et al. Excellent prognosis of late relapses of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: Lessons from the FRALLE 93 protocol. Haematologica. 2012;97(11):1743-1750.

55. Kuster L, Grausenburger R, Fuka G, Kaindl U, Krapf G, Inthal A, et al. ETV6/RUNX1-positive relapses evolve from an ancestral clone and frequently acquire deletions of genes implicated in glucocorticoid signaling. Blood. 2011;117(9):2658-2667.

56. Grausenburger R, Bastelberger S, Eckert C, Kauer M, Stanulla M, Frech C, et al. Genetic alterations in glucocorticoid signaling pathway components are associated with adverse prognosis in children with relapsedETV6/RUNX1-positive acute lymphoblastic leukemia. Leuk Lymphoma. 2015;9:1-11.