


Central nervous system potential molecular biomarkers in acute lymphoblastic leukemia

Potenciales biomarcadores moleculares de infiltración a sistema nervioso central en leucemia linfoblástica aguda

 David Alberto Comoto-Santacruz,^{1*} Lidia Flor Estela Huerta-Núñez.¹

¹Secretaría de la Defensa Nacional, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Ciudad de México, México.

Autor de Correspondencia: *Escuela Militar de Graduados de Sanidad. Cerrada de Palomas S/N, Colonia Lomas de Sotelo, C.P. 11200, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México. Correo electrónico: bluefox1986@hotmail.com

Citación: Comoto-Santacruz D.A., Huerta-Núñez L. F. E. *Potenciales biomarcadores moleculares de infiltración a sistema nervioso central en leucemia linfoblástica aguda. Rev. Sanid. Milit.* 2023;77(1):pp.1-7

Abstract:

Acute lymphoblastic leukemia is the most common type of leukemia in children between 2 and 3 years of age. Internationally, hispanic population is reported as the most prevalent. In Mexico there is few recent information, however, it is known that it is one of the most frequent cancers in children. Infiltration of lymphoblastic cells into the central nervous system is an ominous prognostic complication that can occur in patients with acute lymphoblastic leukemia. Currently, diagnosis is established by cerebrospinal fluid cytology, however, this technique is affected by the number of punctions done while obtaining the fluid. In several research studies, 6 genes have been identified to be overexpressed in cerebrospinal fluid when infiltration occurs. In this review we analyzed these new molecular biomarkers and their potential as tools for timely diagnosis.

Keywords: Acute lymphoblastic leukemia, diagnosis, biomarker, cerebrospinal fluid, genes



Resumen

La leucemia linfoblástica aguda es el tipo de leucemia más frecuente en niños entre los 2 y 3 años. A nivel internacional la población hispana es reportada como la más prevalente. En México se carece de información reciente, sin embargo, se conoce que es uno de los cánceres más frecuentes en niños. La infiltración de células linfoblásticas a sistema nervioso central es una complicación de pronóstico ominoso que puede presentarse en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda, actualmente el diagnóstico se establece mediante citología de líquido cefalorraquídeo, sin embargo, es una prueba operador dependiente y que es afectada por el número de punciones realizadas en la toma de líquido cefalorraquídeo, con potencial contaminación con sangre. En distintos estudios se han caracterizado 6 genes que presentan una sobreexpresión en líquido cefalorraquídeo cuando se presenta dicha infiltración, en esta revisión analizamos estos nuevos marcadores y su potencial como herramientas de diagnóstico oportuno.

Palabras clave: Leucemia linfoblástica aguda, diagnóstico, biomarcador, líquido cefalorraquídeo, genes

ANTECEDENTES

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) representa la proliferación y expansión clonal de células de estirpe linfoide inmaduras (linfoblastos), los cuales invaden la médula ósea y otros tejidos extramedulares, produciendo un grupo de enfermedades malignas, cuya clínica y biología son heterogéneas. Las diferencias inmunológicas y moleculares que expresan los linfoblastos, ya sean de estirpe T o B, reflejan el hecho de que la transformación maligna y la expansión clonal mencionadas puedan ocurrir en los diferentes estadios de la diferenciación linfoide.⁽¹⁾

Epidemiología

En Estados Unidos la incidencia de LLA reportada es de 2.7 casos por cada 100 mil habitantes hispanos del sexo masculino y de 2.2 del sexo femenino, el 55.4% de los casos nuevos se encuentran reportados en el grupo etario menor a 20 años, la mortalidad por cada 100 mil habitantes de esta misma etnia es de 0.8 y 0.6 para el sexo masculino y femenino respectivamente; en el 2018 se estimó un total de 5960 nuevos casos y 1470 muertes secundarias a este tipo de cáncer.⁽²⁾ No existen datos concretos o recientes sobre la prevalencia de LLA en México, sin embargo, presenta una mayor frecuencia en la infancia temprana y tiene una mayor incidencia entre las edades de 2 a 3 años con un aproximado de 80 casos por millón de habitantes por año, así mismo, esta tasa disminuye radicalmente al aumentar la edad observándose 20 casos por millón entre niños de 8 a 10 años de edad.⁽³⁾ En un estudio entre el año 2007 al 2014 en el departamento de hematología del Hospital General de México, en conjunto con el área de hematología del Hospital Bicentenario del ISSSTE se observó que el tipo de leucemia más frecuente fue la LLA con 759 casos (n=1432), siendo congruente con la estadística comentada anteriormente.⁽⁴⁾ Este mismo problema se comenta en la guía de práctica clínica mexicana más reciente sobre leucemia aguda en pediatría, solo se cuenta con datos estadísticos provenientes de instituciones de la Ciudad de México y se desconoce sobre la epidemiología en los estados del interior de la república.⁽⁵⁾

Bases moleculares de la enfermedad.

Precisar una causa única es sumamente difícil, únicamente 5% de los casos están asociados con síndromes genéticos como síndrome de Down, síndrome de Bloom, ataxia-telangiectasia, síndrome de rotura de Nijmegen o a causas como exposición a radiación ionizante o fármacos quimioterapéuticos,⁽⁶⁾ también existe evidencia acerca del alto peso al nacer como factor de riesgo para el desarrollo de LLA en niños.⁽⁷⁾

Las alteraciones genéticas específicas incluyen aneuploidías, rearrreglos cromosómicos que desregulan la expresión génica o resultan en proteínas quiméricas; deleciones y ganancias de ADN (ácido desoxirribonucleico) o mutaciones en la secuencia del ADN.⁽⁸⁾ Estas alteraciones no permanecen estáticas a lo largo del curso de la enfermedad. Se sabe que en promedio el genoma de pacientes pediátricos con LLA poseen de 10 a 20 mutaciones que codifican para alguna proteína anómala al momento del diagnóstico y al momento de presentar recaída poseen hasta el doble de mutaciones.⁽⁹⁾

Hay por lo menos dos tipos de translocaciones funcionales. La primera reubica oncogenes en regiones reguladoras de genes transcritos de forma activa causando alteraciones en la expresión de una proteína intacta, por ejemplo la translocación que pone a C-MYC bajo control de los promotores de la cadena ligera (IGK) y pesada (IGL) de inmunoglobulina en linfoma y leucemia de Burkitt. El segundo tipo de translocación yuxtapone dos genes que, como resultado, codifican para una proteína quimérica que posee funciones distintas a las de las proteínas originales. Un ejemplo de esto es la fusión ETV6-RUNX1, donde se encuentran fusionados dos factores de transcripción hematopoyéticos; esta mutación se observa en ¼ de los pacientes pediátricos con LLA.⁽¹⁰⁾

Otra fusión importante incluye a TCF3-PBX1, que resulta en la formación del cromosoma Filadelfia. Este cromosoma codifica para el producto BCR-ABL1, una tirosincinasa. Se han descrito

más de 70 translocaciones que tienen como blanco el gen MLL, lo cual origina proteínas quiméricas que median una autorrenovación aberrante de progenitores hematopoyéticos. Las translocaciones de MLL son particularmente comunes en LLA desarrollada antes del año de edad.⁽¹¹⁾

Existen múltiples ejemplos de este tipo de mutaciones que son el aspecto común en LLA (tabla 1), sin embargo, pueden no ser el único tipo de alteraciones genéticas que desencadenen la enfermedad. La LLA es una enfermedad multigénica y compleja cuya clasificación molecular es impráctica, aunque las pruebas moleculares actuales pueden resultar en un auxiliar para orientar el tratamiento o pronosticar la supervivencia del paciente en determinado tiempo.⁽¹⁾

Tabla 1. Alteraciones genéticas más frecuentes en pacientes con LLA

<i>Gen</i>	<i>Tipo de alteración</i>	
c-MYC	Traslocación	Bhojwani D, Yang JJ, Pui CH, ⁽¹²⁾ Hunger & Mullighan, ⁽¹¹⁾ Jiménez-Morales. ⁽¹³⁾
ETV6-RUNX1	Fusión de genes	
TCF3-PBX1	Fusión de genes	
BCR-ABL1	Fusión de genes	
MLL	Traslocación	
p16	Delección	

DISCUSIÓN

Aspectos moleculares en la infiltración de células linfoblásticas a sistema nervioso central y su detección

Existe poca información respecto a los mecanismos moleculares implícitos en la migración de células linfoblásticas al Sistema Nervioso Central (SNC), su implantación y proliferación en seres humanos. Sin embargo, se ha encontrado en modelos animales que algunos genes se encuentran desregulados e inducen los eventos observados en humanos. Por citar un ejemplo, al inhibir la sobreexpresión de *VEGF* y *SCD* en ratones, el número de linfoblastos que infiltran SNC disminuyen radicalmente.^(14,15)

Estos genes independientemente de proporcionar claridad respecto a como ocurre la infiltración, pueden proporcionar información diagnóstica sobre la presencia de células linfoblásticas en sistema nervioso central, se han reportado 6 genes que pudieran cumplir con esta función.^(14,16,17)

Se realizó una comparación de citometría de flujo versus citología diagnóstica para detectar invasión a SNC, en una cohorte (n=214) se identificaron 17 casos positivos por citometría que previamente habían sido reportados como negativos en la citología diagnóstica, el principal factor confusor en esas muestras fue la contaminación de la muestra de LCR con sangre al momento de realizar la punción lumbar, situación común en hospitales donde se encuentra en formación personal médico.⁽¹⁸⁾ El principal objetivo de realizar investigación sobre nuevos biomarcadores es incrementar la sensibilidad y especificidad del estándar de oro utilizado o reemplazarlo. La medicina de precisión, anteriormente denominada medicina personalizada, es aquella en la que se toman en cuenta características específicas de un paciente para individualizar la prevención, diagnóstico y tratamiento. Para lograr este objetivo, los

biomarcadores son clasificados en 4 tipos: de diagnóstico, para determinar la enfermedad específica del paciente; de pronóstico, para saber el curso más probable de la enfermedad; predictivos, que indican la respuesta del paciente a un fármaco específico; de predisposición, que indican el riesgo de desarrollar una enfermedad en particular.⁽¹⁹⁾

El camino que un biomarcador recorre para ser empleado en seres humanos es largo: primero se realiza el descubrimiento de su alteración en un estado de enfermedad en particular y solo en dicha enfermedad o con mayor asociación a la misma, de manera que otros factores no induzcan su aparición y que pueda confundir el diagnóstico. Posteriormente se realiza la validación analítica donde debe tomarse en cuenta los medios e infraestructura disponibles para su implementación. Después se determina la utilidad clínica real del biomarcador, es decir, se determina si realmente resulta más conveniente su implementación que continuar con las pruebas ya validadas y utilizadas. Finalmente se llega a la fase final de uso clínico, donde su uso en la vida real debe ser congruente con lo demostrado en las fases experimentales anteriores.⁽²⁰⁾

Seis genes como potenciales biomarcadores de infiltración a sistema nervioso central

Jiménez-Morales *et al.*, describen una perspectiva genómica de la leucemia linfoblástica aguda, aunque las alteraciones implicadas con invasión a SNC son omitidas, dejan muy en claro que las tecnologías de análisis masivo son las ideales para el abordaje molecular de la enfermedad y sugieren se continúe el estudio de los genes FLT3, DEFA1 y el microRNA (miRNA) hsa-miRNA-511 como marcadores de recaída o respuesta al tratamiento.⁽¹³⁾ Existe evidencia que una expresión aumentada de interleucina 15 (IL-15) en blastos leucémicos está asociada con un mayor riesgo de invasión a SNC, Frishman-Levy *et al.*, realizaron un trabajo en modelo animal donde observaron que la expresión de esta interleucina está asociada a la activación de las células natural killer (NK), parece un efecto paradójico que la expresión de IL-15 esté relacionada con un mal pronóstico y a la vez con la estimulación de la respuesta inmunológica, sin embargo las células NK son excluidas del SNC por lo que no pueden ser activadas.⁽¹⁶⁾

El factor A de crecimiento vascular endotelial (VEGF-A) también ha sido identificado como uno de los factores importantes en la migración de células leucémicas a SNC, Münch *et al.*, reconocen la importancia de identificar factores y mecanismos de invasión por blastos, en un modelo animal hallaron que células leucémicas trasplantadas en ratones y que invadieron SNC presentaron una expresión génica significativamente aumentada de VEGF y aunque otros aspectos celulares como viabilidad, crecimiento, proliferación y supervivencia no estuvieron asociados a VEGF, la migración transendotelial a través de la microcirculación de sistema nervioso central estuvo regulada por este gen.⁽¹⁴⁾

Van der Velden *et al.*, identificaron 3 genes con una expresión diferencial importante: SCD, SPP1 y LPAR5 en células de líquido cefalorraquídeo y médula ósea, inclusive observaron que los cambios se presentaban en médula ósea de los pacientes antes que presentaran invasión a SNC, los mecanismos mediante los cuales se lleva a cabo este último aspecto no han sido dilucidados, sin embargo, la expresión de estos genes aporta información potencialmente diagnóstica.⁽¹⁷⁾

Recientemente el gen NG2 fue asociado a un bajo riesgo de supervivencia sin recaída, a un alto número de blastos circulantes y un mayor riesgo de invasión a SNC por Prieto *et al.*, la expresión de

NG2 aumentada fue observada en blastos que infiltraron sitios hematopoyéticos extramedulares y SNC, reprodujeron lo observado en pacientes en un modelo animal e inclusive demuestran que el bloqueo de NG2 resulta en una pérdida de la capacidad de implantarse de las células neoplásicas.^(17,21) De Mattos-Arruda *et al.*, quienes demuestran que el ADN tumoral libre (*ct-DNA*) en SNC es más abundante que en plasma o suero y su análisis mediante secuenciación masiva proporcionó una caracterización más completa de las alteraciones genómicas de tumores cerebrales. Resaltaron también que los niveles de *ct-DNA* de líquido cefalorraquídeo varían con el tiempo y son proporcionales a los cambios en el tumor primario. Con esta información podrían dilucidarse nuevas formas de monitorear este tipo de enfermedades (Tabla 2).⁽²²⁾

Tabla 2. Genes asociados a infiltración de sistema nervioso central en LLA

Genes	Función conocida	Relevancia en infiltración de linfoblastos a SNC	Autor / año
IL15	Activación y Proliferación de linfocitos T y NK, incrementar el efecto antitumoral de células T CD8+.	Asociación de sobreexpresión proteica de IL15 en LCR en infiltración de células linfoblásticas a SNC.	Frishman-Levy L, Shemesh A, Bar-Sinai A, <i>et al.</i> 2015. ⁽¹⁶⁾
SCD	Codifica para una enzima responsable de la síntesis de ácidos grasos.	Sobreexpresión génica y proteica de en células linfoblásticas de LCR y médula ósea en infiltración a SNC y recaída.	Van der Velden VH, de Launaij D, de Vries JF, <i>et al.</i> 2016. ⁽¹⁷⁾
VEGF	Codifica para la proteína con el mismo nombre, responsable de estimular la angiogénesis, migración y mitosis de células endoteliales, quimiotaxis de macrófagos y granulocitos.	Células linfoblásticas que han infiltrado SNC se caracterizan por sobreexpresar VEGF.	Münch V, Trentin L, Herzig J, <i>et al.</i> 2017. ⁽¹⁴⁾
SPP1	Codifica para una proteína responsable de la adherencia de osteoblastos a la matriz ósea.	Sobreexpresión génica y proteica de en células linfoblásticas de LCR y médula ósea en infiltración a SNC y recaída.	Van der Velden VH, de Launaij D, de Vries JF, <i>et al.</i> 2016. ⁽¹⁷⁾
LPAR5	Codifica para una proteína que funciona como receptor del ácido lisofosfatídico, el cual promueve procesos celulares como la mitosis.	Sobreexpresión génica y proteica de en células linfoblásticas de LCR y médula ósea en infiltración a SNC y recaída.	Van der Velden VH, de Launaij D, de Vries JF, <i>et al.</i> 2016. ⁽¹⁷⁾
NG2	Codifica para una proteína que promueve la adherencia de células tumorales a tejido endotelial.	Asociación de sobreexpresión proteica con infiltración a SNC.	Prieto C, López-Millán B, Roca-Ho H, <i>et al.</i> 2018. ⁽²¹⁾

Todos los genes mencionados se expresan en las células sanas del organismo, sin embargo, en algunas patologías esta expresión se desregula, es detectable en líquido cefalorraquídeo y puede brindar información sobre las mismas. Con la información antes comentada resulta relevante fijar nuestra atención a nuevas formas de diagnóstico con un beneficio potencial y que puede ser realizado en nuestro país.⁽²³⁾ La limitación principal para identificar biomarcadores en población mexicana es el déficit de información genómica específica dado el recurso económico y tiempo que requiere para su descubrimiento,

sin embargo, debe continuarse con los medios disponibles para intentar complementar la información y estar en posibilidad de recorrer el camino que requiere el descubrimiento de dichos biomarcadores.

FINANCIACIÓN

No se recibió patrocinio de ningún tipo para llevar a cabo este artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. **Hencluíz J.** *Leucemia linfoblástica aguda.*
2. **SEER.** *Acute Lymphocytic Leukemia - Cancer Stat Facts.* SEER. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aly1.html> [Accessed 28th February 2023].
3. **Instituto Nacional de Salud Pública.** *Protocolo de atención para leucemia linfoblástica. Guía clínica y esquema de tratamiento.* Instituto Nacional de Salud Pública; 2012.
4. **Santoyo-Sánchez A, Ramos-Peñafiel CO, Saavedra-González A, González-Almanza L, Martínez-Tovar A, Olarte-Carrillo I, et al.** [The age and sex frequencies of patients with leukemia seen in two reference centers in the metropolitan area of Mexico City]. *Gaceta Medica De Mexico.* 2017;153(1): 44–48.
5. **CENETEC.** *Diagnóstico oportuno de la leucemia aguda en pediatría en primer y segundo nivel de atención. Guía de práctica clínica.* México: Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en salud; 2017.
6. **Pui CH.** Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Schwab M (ed.) *Encyclopedia of Cancer.* Berlin, Heidelberg: Springer; 2011. p. 23–26. https://doi.org/10.1007/978-3-642-16483-5_57. [Accessed 28th February 2023].
7. **Hjalgrim LL, Westergaard T, Rostgaard K, Schmiegelow K, Melbye M, Hjalgrim H, et al.** Birth weight as a risk factor for childhood leukemia: a meta-analysis of 18 epidemiologic studies. *American Journal of Epidemiology.* 2003;158(8): 724–735. <https://doi.org/10.1093/aje/kwg210>.
8. **Harrison CJ.** Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology.* 2009;144(2): 147–156. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07417.x>.
9. **Ma X, Edmonson M, Yergeau D, Muzny DM, Hampton OA, Rusch M, et al.** Rise and fall of subclones from diagnosis to relapse in pediatric B-acute lymphoblastic leukaemia. *Nature Communications.* 2015;6(1): 6604. <https://doi.org/10.1038/ncomms7604>.
10. **Russell LJ, De Castro DG, Griffiths M, Telford N, Bernard O, Panzer-Grümayer R, et al.** A novel translocation, t(14;19)(q32;p13), involving IGH@ and the cytokine receptor for erythropoietin. *Leukemia.* 2009;23(3): 614–617. <https://doi.org/10.1038/leu.2008.250>.
11. **Hunger SP, Mullighan CG.** Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *The New England Journal of Medicine.* 2015;373(16): 1541–1552. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-03-769315>.
12. **Bhojwani D, Yang JJ, Pui CH.** Biology of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Clinics of North America.* 2015;62(1): 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2014.09.004>.
13. **Jiménez-Morales S, Hidalgo-Miranda A, Ramírez-Bello J.** [Acute lymphoblastic leukemia: a genomic perspective]. *Boletín Medico Del Hospital Infantil De Mexico.* 2017;74(1): 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.bmhmx.2016.07.007>.

14. **Münch V, Trentin L, Herzig J, Demir S, Seyfried F, Kraus JM, et al.** Central nervous system involvement in acute lymphoblastic leukemia is mediated by vascular endothelial growth factor. *Blood*. 2017;130(5): 643–654. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-03-769315>.
15. **Deak D, Gorcea-Andronic N, Sas V, Teodorescu P, Constantinescu C, Iluta S, et al.** A narrative review of central nervous system involvement in acute leukemias. *Annals of Translational Medicine*. 2021;9(1): 68. <https://doi.org/10.21037/atm-20-3140>.
16. **Frishman-Levy L, Shemesh A, Bar-Sinai A, Ma C, Ni Z, Frenkel S, et al.** Central nervous system acute lymphoblastic leukemia: role of natural killer cells. *Blood*. 2015;125(22): 3420–3431. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-08-595108>.
17. **van der Velden VHJ, de Launaij D, de Vries JF, de Haas V, Sonneveld E, Voerman JSA, et al.** New cellular markers at diagnosis are associated with isolated central nervous system relapse in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2016;172(5): 769–781. <https://doi.org/10.1111/bjh.13887>.
18. **Ranta S, Nilsson F, Harila-Saari A, Saft L, Tani E, Söderhäll S, et al.** Detection of central nervous system involvement in childhood acute lymphoblastic leukemia by cytomorphology and flow cytometry of the cerebrospinal fluid. *Pediatric Blood & Cancer*. 2015;62(6): 951–956. <https://doi.org/10.1002/pbc.25363>.
19. **Collins FS, Varmus H.** A new initiative on precision medicine. *The New England Journal of Medicine*. 2015;372(9): 793–795. <https://doi.org/10.1056/nejmp1500523>.
20. **Quezada H, Guzmán-Ortiz AL, Díaz-Sánchez H, Valle-Rios R, Aguirre-Hernández J.** Omics-based biomarkers: current status and potential use in the clinic. *Boletín Médico Del Hospital Infantil De Mexico*. 2017;74(3): 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.bmhmx.2017.03.003>.
21. **Prieto C, López-Millán B, Roca-Ho H, Stam RW, Romero-Moya D, Rodríguez-Baena FJ, et al.** Correction: NG2 antigen is involved in leukemia invasiveness and central nervous system infiltration in MLL-rearranged infant B-ALL. *Leukemia*. 2018;32(10): 2306–2306. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.294>.
22. **De Mattos-Arruda L, Mayor R, Ng CKY, Weigelt B, Martínez-Ricarte F, Torrejon D, et al.** Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma. *Nature Communications*. 2015;6: 8839. <https://doi.org/10.1038/ncomms9839>.
23. **Majeti R, Becker MW, Tian Q, Lee TLM, Yan X, Liu R, et al.** Dysregulated gene expression networks in human acute myelogenous leukemia stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(9): 3396–3401. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900089106>.