

## Mutaciones en el gen del receptor del factor estimulante de colonias tipo 3 (CSF3R) como criterio diagnóstico de Leucemia Neutrofílica Crónica

**>>>** La Leucemia Neutrofílica Crónica (LNC) es una neoplasia mieloproliferativa poco frecuente caracterizada por una proliferación sostenida de neutrófilos predominantemente maduros, de difícil diagnóstico. Mutaciones en el gen CSF3R son altamente frecuentes en este tipo de leucemias y su detección es importante ya que representa un criterio potencialmente útil para el diagnóstico.

### **>>>** AUTORES

Castañón, Agustina<sup>1</sup>; Maldonado, Cecilia<sup>1</sup>; Kinen, Analía<sup>1</sup>; Pérez, María Silvia PhD<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Medicina Genómica, MANLAB.  
agustina.castanon@manlab.com.ar  
cecilia.maldonado@manlab.com.ar

**>>>** La Leucemia Neutrofílica Crónica (LNC) es una neoplasia mieloproliferativa BCR-ABL negativa poco frecuente caracterizada por una proliferación sostenida de neutrófilos predominantemente maduros. Se presenta mayoritariamente en pacientes mayores de 50 años, con una edad mediana de 66 años, y una distribución por sexo levemente preponderante en varones respecto de mujeres (alrededor de un 57%)(1).

La LNC se presenta con una leucocitosis

con neutrofilia predominante, siendo mayor la presencia de formas granulocíticas maduras (>80%) que en la Leucemia Mieloide Crónica, y mínima o nula la presencia de blastos en sangre periférica. Otro rasgo particular de la LNC es la ausencia de monocitosis, basofilia y eosinofilia (2); valores elevados de lactato deshidrogenasa (LDH), vitamina B12 sérica, de fosfatasa alcalina leucocitaria y ácido úrico. Además, la médula ósea de pacientes con LNC presenta hiperplasia granulocítica con una relación mieloide/eritroide elevada producto de la expansión de la granulopoyesis neutrofílica (1).

El diagnóstico diferencial de esta entidad ha presentado gran dificultad debido a la ausencia de marcadores de clonalidad, por sus características clínicas y de laboratorio que se solapan con otros síndromes mieloproliferativos, mielo-

displásicos y además, para diferenciarla de otros procesos reactivos. En 2013, J. Maxson y colaboradores, identificaron mutaciones en el gen CSF3R, que codifica el receptor del factor estimulante de colonias tipo 3 en más del 80% de los pacientes con LNC

El gen CSF3R se encuentra en el cromosoma 1p34.3 y está conformado por 17 exones. Éste codifica el receptor del factor estimulante de colonias granulocítico, que consiste en una proteína transmembrana de 813 aminoácidos sin actividad tirosinaquinasa intrínseca. Cuando se une su ligando (G-CSF) al receptor se produce un cambio conformacional que lleva a la dimerización del mismo, que activa varias vías de señalización downstream que incluyen JAK/STAT, PI3K/AKT y MAPK/ERK y desencadena la proliferación y diferenciación de neutrófilos<sup>(3)</sup>.

Las mutaciones identificadas en gen CSF3R pueden ser de dos tipos: mutaciones pun-

tuales en el dominio transmembrana que se encuentran en la LNC y afectan al dominio proximal del receptor y llevan a la estabilización del dímero del receptor en ausencia de ligando, obteniendo un receptor constitutivamente activo. La mutación del dominio transmembrana proximal más prevalente es la T618I, ya que se observa en más del 80% de los pacientes con LNC.

Otras mutaciones descritas introducen un codón stop generando una proteína trunca que impacta en la maduración y proliferación celular. Si la mutación afecta la región extracelular del receptor, se ve afectada la unión de su ligando G-CSF, impidiendo la dimerización del receptor, y en consecuencia, la activación de las vías de señalización. Este tipo de mutaciones están más comúnmente asociadas a Neutropenia Congénita Severa (NCS), y a pacientes con neutropenia idiopática crónica. Por otro lado, aquellas mutaciones que afectan al dominio carboxiterminal del receptor desencadenan una mayor proliferación y menor dife-



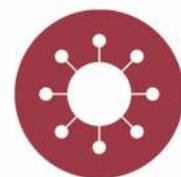
#### DATOS TÉCNICOS

- Transcripción inversa y PCR en tiempo real en un sólo paso (aprox. 90 min).
- Reactivos: Todos incluidos y listos para usar.
- LOD: 0.670 cp/μL.
- Canal de detección: FAM (Verde)
- Formato: 30 y 120 reacciones.
- Código: NP05-30, NP05-120

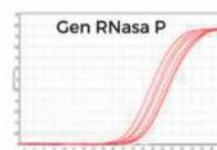
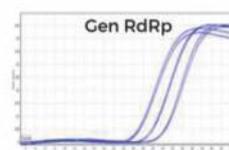
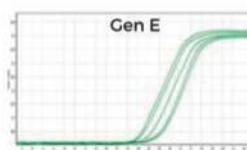
(54-11) 4857.5005 @ VENTAS@BIOCIENTIFICA.COM.AR  
WWW.BIOCIENTIFICA.COM.AR ¡SEGUINOS EN LAS REDES!

## COVID-19

# SCHEP SARS-CoV-2 RT-PCR DUO



- ✓ Prueba de PCR para la detección específica de SARS-CoV-2.
- ✓ Detección rápida y simple mediante transcripción inversa y PCR en tiempo real en un solo paso con cebadores y sondas específicos.
- ✓ Master Mix de cada gen lista para usar.
- ✓ Alta sensibilidad debido a la detección simultánea de dos secuencias diana de SARS-CoV-2.
- ✓ Aprobado por ANMAT.



**Biocientífica**  
Calidad en Reactivos. Excelencia en Biotecnología.

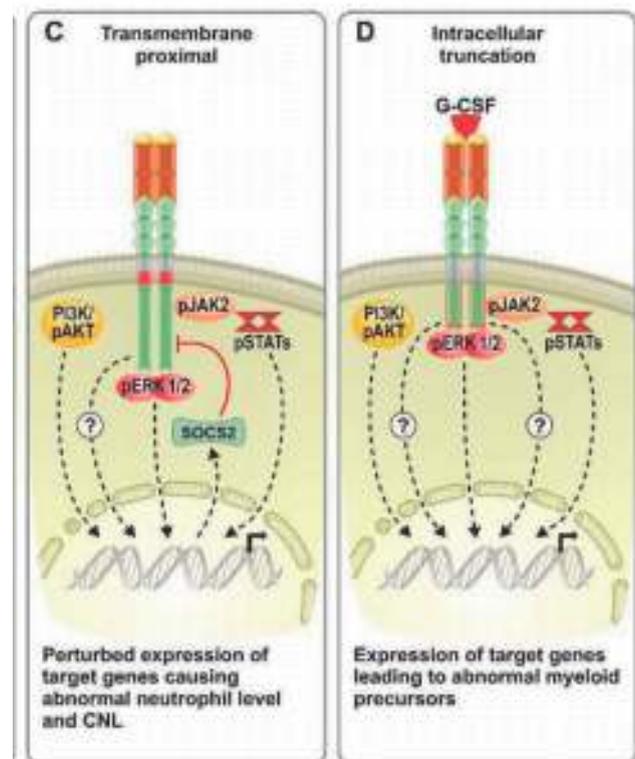
VER MÁS SOBRE  
ESTE PRODUCTO:

CLICK  
ACÁ



renciación a igual afinidad por su ligando que el receptor wild type. La vía de señalización que se activa en este caso involucra a los mediadores de señalización SFCKs (quinasas de la familia SRC) y TNK2, a diferencia de las mutaciones del dominio transmembrana que involucran la vía JAK/STAT. Esta clase de mutaciones en el dominio citoplasmático, que generan un receptor trunco, no producen NCS, pero los pacientes con NCS que las adquieren presentan mayor predisposición a desarrollar síndrome mielodisplásico o leucemia mieloide aguda<sup>(3)</sup>.

**>> Figura 1:** Vías de señalización downstream en receptor wild type y receptor mutado. (A) Cascada normal de señalización en receptor wild type, mediada por JAK/STAT, PI3K/AKT and MAPK/ERK (B) Mutaciones que afectan al dominio extracelular del receptor. Se observa disrupción de la unión a su ligando, sin activación de vías de señalización downstream. (C) Mutaciones que afectan al dominio transmembrana, generando receptor constitutivamente activo. (D) Mutaciones en el dominio intracelular. Hiperrespuesta al ligando G-CSF, a igual afinidad por el mismo que el receptor wild type.



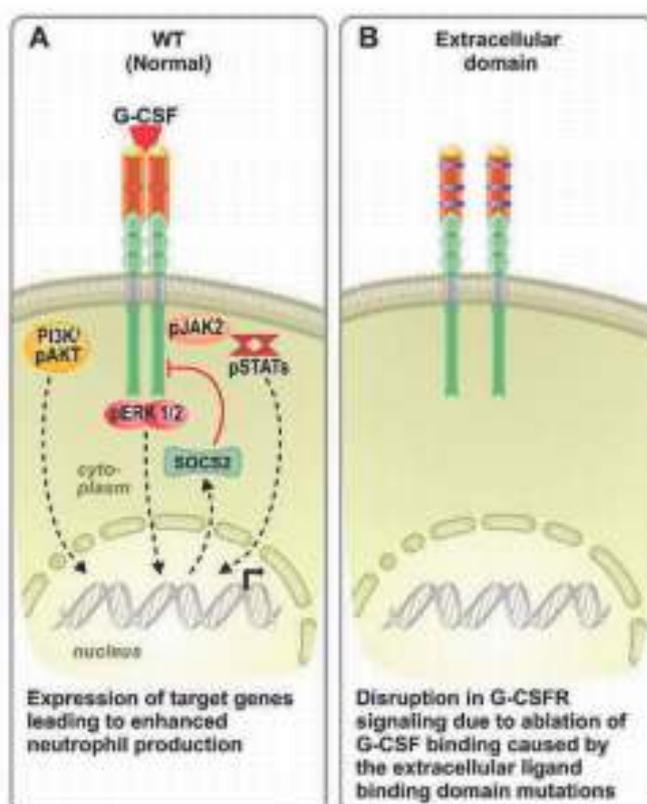
En 2016, las guías de la Organización Mundial de Salud incluyeron mutaciones en CSF3R como criterio diagnóstico de LNC, aunque se mantiene la clasificación de LNC sin mutaciones en CSF3R si cumple con otros criterios<sup>(4)</sup>.

También se han observado mutaciones del gen en Leucemia Mieloide Crónica atípica, Leucemia Mielomonocítica Crónica, Leucemia Mieloide Aguda de novo y LLA de precursor de células T temprano, pero en menor frecuencia<sup>(3)</sup>.

Estudios de secuenciación han demostrado la presencia de mutaciones concomitantes en otros genes con variada prevalencia y frecuencia alélica como SETBP1 y ASXL1 en la mayoría de los pacientes con CSF3R mutado y en menor frecuencia, mutaciones en SRSF2, U2AF1, TET2 y CALR (variantes distintas a las encontradas en trombocitopenia esencial y mielofibrosis)<sup>(1)</sup>.

La prevalencia de las mutaciones de SETBP1 en LNC en pacientes con CSF3R T618I es de entre 40<sup>(5)</sup> y 75<sup>(6)</sup>%, según diversos estudios, mientras que mutaciones en ASXL1 es entre 30 y 80%<sup>(7)(8)(9)</sup>

En aquellos pacientes en los que se identificaron mutaciones adicionales en SETBP1 y/o en ASXL1 presentaron, en la mayoría de los casos, una



# ELITE InGenius

## PCR Real Time

### Totalmente Automatizado

**COVID-19**  
**CORONAVIRUS**  
 -DISPONIBLE-

#### ♥ Patógenos de trasplante

- CMV
- EBV
- BKV
- VZV
- HSV1
- HSV2
- Parvovirus B19
- Adenovirus
- Enterovirus
- JCV
- HHV6
- HHV7
- HHV8
- Toxoplasma gondii
- Hepatitis E (RUO)
- WNV
- Aspergillus

#### 💧 Onco-Hematológicas

- Coagulation factors panel
  - Factor V
  - Factor II
  - MTHFR

#### 🏠 Infecciones Resistencia a Antibióticos

- MRSA/SA
  - S. aureus
  - mecA/mecC

- C. difficile
  - Toxin A
  - Toxin B

- CRE 21
  - KPC
  - IMP, VIM, NDM
  - OXA

- ESBL
  - CTX-M-1,15
  - CTX-M-9,14

- Colistin Resistance
  - mcr1
  - mcr2

#### 💬 Meningitis

- Viral panel 1
  - HSV1
  - HSV2
  - VZV

- Viral panel 2
  - Enterovirus
  - Parechovirus
  - Adenovirus

- Bacterial panel
  - N. meningitidis
  - S. pneumoniae
  - H. influenzae

#### 👤 Enfermedades de transmisión sexual

- MG + Resistance
  - M. genitalium
  - Macrolide resistance

- STI PLUS Panel
  - C. trachomatis
  - N. gonorrhoeae
  - M. genitalium
  - T. vaginalis

- C. trachomatis

#### 🏠 Infecciones Respiratorias

- Viral panel
  - Flu A
  - Flu B
  - RSV

- Bacterial panel
  - C. pneumoniae
  - M. pneumoniae
  - Legionella pn.

- MTB + Resistance
  - MTB complex
  - Rifampicin resistance
  - Isoniazid resistance

- COVID-19

#### 👤 Gastro-Intestinal Infection

- Norovirus
  - Genotypes I & II

- Viral Panel
  - Rotavirus
  - Adenovirus
  - Astrovirus

- Bacterial panel
  - Campylobacter spp.
  - Salmonella spp.
  - Y. enterocolitica

- Parasitic panel
  - G. lamblia
  - C. parvum
  - E. histolytica


**BIODIAGNOSTICO**

+54 11 4300 9090 | info@biodiagnostico.com.ar | www.biodiagnostico.com.ar

menor sobrevida global (1)(2)(5)(10). Esto indicaría que SETBP1 y ASXL1 podrían utilizarse como marcadores pronósticos, aunque aún son necesarios estudios con mayores cohortes que lo demuestren.

Si bien actualmente no hay un tratamiento específico para la LNC, se ha utilizado hidroxiurea, interferón alfa y el alotransplante como opción para los pacientes candidatos. Surge además como potencial alternativa utilizar Ruxolitinib como fármaco inhibidor de la vía JAK/STAT ya que es la vía de señalización mayormente activada en las células que presentan la mutación T618I, que se encuentra aprobado para mielofibrosis y policitemia vera. Si bien se ha visto que las células que presentan dicha mutación son sensibles a inhibidores de JAK1/2 in vitro, aún no hay suficiente evidencia que demuestre su efectividad en los pacientes debido a la baja prevalencia de LNC (3) (11) (12). Algunos estudios sugieren que mutaciones concomitantes a CSF3R T618I en genes como SETBP1, serían responsables del fracaso terapéutico (7)

Serán necesarios aún más estudios de secuenciación que permitan ampliar las características moleculares de la LNC para evaluar el impacto de las mutaciones en los distintos genes en el diagnóstico, pronóstico y respuesta terapéutica.

Finalmente, podemos concluir que mutaciones en el gen CSF3R son altamente frecuentes en LNC y su detección es importante ya que contribuye a la comprensión de la patogénesis de esta neoplasia y representa un criterio potencialmente útil para el diagnóstico. Por ende, se considera importante incorporar el estudio de las mutaciones de los genes mencionados en los laboratorios dedicados al diagnóstico molecular.

## >>> REFERENCIAS

- (1) Szuber and Tefferi. Chronic neutrophilic leukemia: new science and new diagnostic criteria. *Blood Cancer Journal*. 8:19. (2018).
- (2) Juliane Menezes and Juan Cruz Cigudosa. Chronic neutrophilic leukemia: a clinical perspective. *OncoTargets and Therapy*. 8:2383-90 (2015).
- (3) Pankaj Dwivedi and Kenneth D. Greis. Granulocyte Colony Stimulating Factor Receptor (G-CSFR) signaling in severe congenital neutropenia, chronic neutrophilic leukemia and related malignancies. *Exp Hematol*. 46: 9–20 (2017).
- (4) Genomics of Chronic Neutrophilic Leukemia. Maxson and Tyner. *Blood*, 9;129(6):715-722. (2017).
- (5) Pardanani A, Lasho TL, Laborde RR, Elliott M, Hanson CA, Knudson RA, Ketterling RP, Maxson JE, Tyner JW, Tefferi A. CSF3R T618I is a highly prevalent and specific mutation in chronic neutrophilic leukemia. *Leukemia*. 27:1870–1873 (2013).
- (6) Cui, Y. et al. CSF3R, SETBP1 and CALR mutations in chronic neutrophilic leukemia. *J. Hematol. Oncol*. 7, 77 (2014).
- (7) Elliott MA, Pardanani A, Hanson CA, et al. ASXL1 mutations are frequent and prognostically detrimental in CSF3R-mutated chronic neutrophilic leukemia. *Am J Hematol*. 90(7):653-656 (2015).
- (8) Meggendorfer, M. et al. Specific molecular mutation patterns delineate chronic neutrophilic leukemia, atypical chronic myeloid leukemia, and chronic myelomonocytic leukemia. *Haema-tologica* 99, e244–e246 (2014).
- (9) Cui, Y. J. et al. [The clinical characteristics, gene mutations and prognosis of chronic neutrophilic leukemia]. *Zhonghua. Xue. Ye. Xue. Za. Zhi*. 38, 28–32 (2017).
- (10) Szuber , Finke , Lasho, Elliott, Han-son, Pardanani and Tefferi. CSF3R-mutated chronic neutrophilic leukemia: long-term outcome in 19 consecutive patients and risk model for survival *Natasha Blood Cancer Journal*. 8(2):21 (2018).
- (11) Lasho TL, Mims A, Elliott MA, Finke C, Pardanani A, Tefferi A. Chronic neutrophilic leukemia with concurrent CSF3R and SETBP1 mutations: single colony clonality studies, in vitro sensitivity to JAK inhibitors and lack of treatment response to ruxolitinib. *Leukemia* 28(6):1363-5 (2014).
- (12) Stahl M, Xu ML, Steensma DP, Rampal R, Much M, Zeidan AM. Clinical response to ruxolitinib in CSF3R T618-mutated chronic neutrophilic leukemia. *Ann Hematol*. 95(7):1197-1200 (2016).

**MANLAB**<sup>®</sup>

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

# Analizadores de hemostasia Soluciones para cada laboratorio

Confianza, conveniencia y eficiencia en costos.



**Sistema BFT™ II**



**Sysmex® CA-600 series**



**Sysmex® CS-2500**



**Sistema BCS® XP**

La línea completa de analizadores de hemostasia de Siemens Healthineers cubre las necesidades de todo tipo de laboratorio, permitiendo automatizar los procesos y obteniendo una mayor calidad y productividad al minimizar el margen de error.

**Simplicidad. Control. Mejores resultados.**

[siemens-healthineers.com/ar/](https://www.siemens-healthineers.com/ar/)

**SIEMENS**  
**Healthineers**