

11218



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
U.M.A.E. ESPECIALIDADES "DR. ANTONIO FRAGA MOURET"  
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"**

**Expresión De CD34 y Glucoproteína P como Factor  
Pronóstico en Pacientes con Leucemia Aguda de  
Novo.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**

**MEDICO ESPECIALISTA EN HEMATOLOGIA**

**P R E S E N T A**

**Elena García Ruiz**

**ASESOR  
MC. DR. JORGE VELA OJEDA**



**MEXICO, D. F.**

**FEBRERO 2005.**

m341512



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Expresión de CD34 y Glucoproteína P Como Factores Pronósticos en Pacientes con Leucemia Aguda de Novo.**



**Dr. Jesús Arenas Osuna**  
**Jefe de la División de Educación Médica en Salud**  
**U.M.A.E. Especialidades "Dr. Antonio Fraga Mouret"**  
**Centro Médico Nacional La Raza, México D.F.**

*Jorge Vela Ojeda*

**Dr. Jorge Vela Ojeda**  
**Jefe de servicio de Hematología**  
**Jefe de la División de Educación Médica en Salud**  
**U.M.A.E. Especialidades "Dr. Antonio Fraga Mouret"**  
**Centro Médico Nacional La Raza, México D.F.**



SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.A.M.

## CD34 and P glycoprotein expression as prognostic factors in De Novo Acute leukemia

### OBJECTIVE:

To determine the expression of P-glycoprotein and CD34 and correlate these variables with overall survival and disease free survival in patients with De Novo acute leukemia.

### PATIENT AND METHODS

We have enrolled patients whit De Novo acute lymphoblastic and myeloblastic leukemia who had performed bone-marrow flow-cytometry and inmunophenotyping of CD34 and P glycoprotein (GP-P) at diagnosis.

Disease free survival and overall survival were analyzed by Kaplan and Meier curves and the differences between two or more curves by Log rank test.

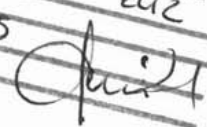
### RESULTS

We have studied 96 patients, 36 with acute myelogenous leukemia (AML) and 56 with acute lymphoblastic leukemia (ALL). In the AML group 21 (58%) patients had over-expression of CD34 and 8 (22%) of GP-P. Overall survival (OS) and disease free survival (DFS) was 3.9 and 5.8 months respectively. We observed a lower OS in patients having over-expression of CD34 and CD33. Also, we observed that patients with higher values of HDL had poor prognosis.

In the ALL group 19 (50%) patients has over-expression of GP-P and 42 ( %) of CD34. The median OS was 6.8 months. Those patients who had over-expression of CD34 had a lower OS.

### CONCLUSSION

The over-expression of CD34 and CD33 and higher values of HDL are bad prognostic factor in patients with AML. The only variable that had prognostic value in patients with ALL was the over-expression of CD34.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo, recensional.  
NOMBRE: Elena Guadalupe Ruiz  
FECHA: 02/03/05  
FIRMA: 

## **Expresión de CD34 y Glucoproteína P Como Factores Pronósticos en Pacientes con Leucemia Aguda de Novo.**

### **OBJETIVO:**

Determinar la expresión de glucoproteína P y CD34 como factor pronóstico en pacientes con leucemia aguda de novo.

### **MATERIAL Y METODOS:**

Se ingresaron pacientes con diagnóstico de leucemia aguda de novo que contaran con inmunofenotipo, evaluándose la expresión de CD34 y GP P.

Se utilizó las curvas de Kaplan Meier para la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, así mismo se utilizó el método de Log Rank para comparar las variables y supervivencia global (SG) y libre de enfermedad.(SLE)

### **RESULTADOS:**

Se ingresaron 96 pacientes con leucemia aguda de novo 36 pacientes con LAM y 56 con LAL, solo a 61 pacientes se les determinó Glucoproteína P. Los dos grupos se analizaron en forma independiente: en el grupo de LAM 21 tenían expresión alta de Cd34 (58.3%) y 8 (22%) de glucoproteína P. La SG y SLE fue de 5.8 y 3.9 meses respectivamente. La SG fue menor en pacientes con sobre expresión de CD34 y de CD33. El resto de las variables analizadas no tuvo significado estadística.

En el grupo de pacientes con LAL 19 (50%) tuvieron sobreexpresión de GP P y 42 una cifra alta de CD34, la SG fue de 6.8 meses. La única variable con significado estadístico fue la sobreexpresión de CD34 y la cifra de DHL al diagnóstico. El resto de las variables no tuvo significado estadístico.

**CONCLUSIÓN:** La sobreexpresión de CD34 y CD33, así como la DHL elevada al diagnóstico, son factores de pronóstico desfavorable en pacientes con leucemia aguda mieloblástica de novo confiriéndoles una SG y SLE bajas. En pacientes con leucemia linfoblástica aguda, solamente la cifra alta de CD34 tuvo valor pronóstico.

<b>INDICE</b>	<b>Pág.</b>
I. Antecedente	1 - 5
II. Planeamiento del problema	6
III. Justificación	7
IV. Objetivos	8
V. Hipótesis.	9
VI. Enfermos y métodos.	10 - 11
VII. Variables	12- 13
VIII. Análisis estadístico	14
IX. Aspectos éticos.	15
X. Resultados	16 - 35
XI. Discusión	36 37
XII. Bibliografía	38 - 40
XIII. Anexos:	41 - 42

## **AGRADECIMIENTOS:**

### **A mis padres:**

Por el apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida por la confianza depositada en mí y por haberme dado el mayor tesoro: la vida.

### **A mis Hermanos:**

Por ser el ejemplo de superación, lucha, éxito en mi vida y por compartir parte de este sueño.

### **A mis Amigos:**

Sonia, Rubén, Lilia, Víctor, Juan Carlos, por haber compartir momentos de alegría y tristeza y por su apoyo incondicional en este tiempo.

### **A mis maestros:**

Por sus enseñanzas y por compartir su experiencia conmigo, especialmente al Dr. Vela Ojeda por su apoyo para la realización de esta tesis.

### **A mis pacientes:**

Que fueron un libro abierto para mi aprendizaje y por el cariño que me brindaron.

## **I- ANTECEDENTES:**

Las leucemias agudas son patologías que cursan con proliferación maligna de hematopoyéticas inmaduras llamadas blastos cuya acumulación progresiva se acompaña de disminución en la producción de los elementos normales de la médula ósea. El promedio de la incidencia en la población en general es de 1 a 3 casos por 100,000 habitantes por año.<sup>1</sup>

Existen dos tipos de leucemias, las agudas y las crónicas. Las leucemias agudas, se subdividen a su vez en leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloblástica aguda (LMA). La LLA en el adulto, constituye aproximadamente el 15 % de las leucemias agudas, la LMA tiene una incidencia que aumenta en forma exponencial con la edad, de menos de 1 caso por 100,000 por año para personas mayores de 30 años, y de a 14 por 100,000 a los 75 años<sup>(2)</sup>.

La etiología de las leucemias se desconoce, los factores genéticos tienen una gran importancia, como lo demuestra la probabilidad de desarrollar una leucemia aguda en hermanos univitelinos. Entre los factores externos involucrados en su patogenia se encuentran las radiaciones ionizantes que ocupan un lugar importante, el benzol, que es el leucemógeno químico más conocido, así mismo, existen algunos fármacos como el cloranfenicol y la fenilbutazona con posible potencial de para el desarrollo de la leucemia<sup>(2,3)</sup>.

La leucemia linfoblástica aguda es una enfermedad neoplásica que se origina de un progenitor linfocítico B o T; la proliferación de las células neoplásicas en la médula ósea produce una supresión en la hematopoyesis, dando como consecuencia: anemia, trombocitopenia y neutropenia. Esta enfermedad es más común en niños sin embargo puede ocurrir en cualquier grupo de edad<sup>(3,4)</sup>.



Existen algunas variedades de LLA que pueden ser clasificadas usando métodos morfológicos, por inmunofenotipo, citogenética y moleculares, los cuales son importantes para identificar subtipos biológicos de la enfermedad, algunos de los cuales requieren para obtener resultados óptimos, combinación de drogas específicas, modificación en las dosis y en la duración del tratamiento (1,2). Así mismo, la LMA puede ocurrir como resultado de mutaciones somáticas en las células tallo o en células más diferenciadas. La exposición a dosis altas de radiación y la exposición crónica a benceno, incrementa la incidencia de la enfermedad. Un pequeño aumento de los casos se observó después de la exposición, de pacientes con linfoma o cánceres no hematológicos, a quimioterapia intensiva. El diagnóstico se realiza por medio del examen de las células en sangre periférica y en la médula ósea, en donde se observa aumento en las células inmaduras (blastos). (5,6)

Existen factores pronósticos en ambos tipos de leucemias agudas: en lo que respecta a LLA, la edad es muy importante, pues si el paciente tiene entre 1 y 9 años, el pronóstico es bueno. Además, si la cuenta inicial de leucocitos se encuentra por arriba de  $50\,000\text{ mm}^3$ , se considera como criterio de riesgo alto. También la respuesta al tratamiento, el cual es el factor pronóstico más importante, pues los pacientes en los que se obtiene remisión completa de la enfermedad en las primeras 4 semanas de tratamiento, tienen mejor pronóstico. Así mismo, las alteraciones citogenéticas analizadas por medio de cariotipo o FISH, dividen a este tipo de leucemia en grupos de diferente riesgo. (2,7)

Para la LMA existen igualmente factores pronósticos como: leucemia de novo o secundaria, cifra de leucocitos al diagnóstico y la presencia de alteraciones citogenéticas. La facilidad de alcanzar una remisión completa es también un factor pronóstico relevante, ya que pacientes que presentan blastos en la médula ósea posterior al primer ciclo de tratamiento, tienen mayor frecuencia de recaída de la enfermedad. Entre otros factores de

mal pronóstico se encuentran la presencia en las células malignas de CD34+ y glucoproteína P, así como una expresión aumentada del gen MDR<sup>(8.)</sup>

Existen trabajos en donde se han tratado de incluir otros factores pronósticos como el inmunofenotipo de las células, pues este tipo de leucemias pueden presentar elevación de CD34 que es un marcador de inmadurez celular. Así mismo, se sabe que la presencia de glucoproteína P 170 mejor conocida como gen de multidrogo-resistencia, puede ocasionar en el paciente resistencia a la quimioterapia, lo cual es un factor de falla al tratamiento en LMA. Este gen codifica para una proteína denominada GP que funciona como bomba transmembranal, la cual impide la entrada de los fármacos hacia el interior de la célula. Esta proteína transmembranal pertenece a la familia de las proteínas ABC y los genes que codifican a estas proteínas, se encuentran en algunas bacterias o en humanos<sup>8,9</sup>

El gen *mdr1* es expresado en algunos tejidos normales, particularmente en la superficie apical de huesos pequeños, colon, epitelio tubular de riñón, útero grávido, cerebro, tracto gastrointestinal, en células hematopoyéticas normales CD34+, así como en linfocitos normales NK, T CD8.<sup>(10,11)</sup>

Numerosos estudios han investigado la expresión de este gen en neoplasias hematológicas, sin embargo, un problema importante es la ausencia de métodos estandarizados para la detección y cuantificación de la expresión de *mdr1* en muestras de tumores<sup>(10)</sup>

Algunos estudios han reportado una alta frecuencia de la expresión de *mdr1* en pacientes con leucemias agudas, la mayoría de ellos demuestran positividad entre un tercio y la mitad de los casos analizados al diagnóstico. Algunos autores han reportado positividad en el 41% de los pacientes de novo<sup>(11,12)</sup> Este incremento en la expresión de *mdr1* ocurre predominantemente en los pacientes refractarios al tratamiento. El fenotipo de

MDR está asociado a otros marcadores de mal pronóstico como presencia de CD7 o CD34. En algunos estudios la expresión de P170 fue considerada como un marcador adverso para respuesta, lo cual se asoció a la presencia de subtipos de leucemia mieloides inmaduras, como por ejemplo las variedades M0 y M1.<sup>(13)</sup>

Análisis separados de la expresión de glucoproteína P y Cd34 indican que ambos son factores desfavorables.

En lo que se refiere a las leucemias agudas linfoides, la presencia del gen también se considera como un factor desfavorable. La frecuencia de casos positivos por citometría de flujo es baja antes del inicio de la quimioterapia (15% de los pacientes de reciente diagnóstico), sin embargo se ha publicado una alta frecuencia cuando se utiliza RT PCR, relacionándose la presencia de glucoproteína P con falla terapéutica, ya que la presencia del gen de multidrogoresistencia contribuye a falla terapéutica particularmente cuando se trata con regímenes de quimioterapia que contienen drogas como antraciclinas, alcaloides de la vinca y epidofilotoxinas, las cuales son moduladas por la glucoproteína P.<sup>(14,15)</sup>

De aquí la importancia que tiene establecer al diagnóstico los factores pronósticos de cada paciente siendo el de mayor peso pronóstico el cariotipo. Así mismo realizar el estudio del inmunofenotipo celular, ya que de encontrarse una cifra alta de CD34+, así como la presencia de Glucoproteína P, se ha relacionado a factores de mal pronóstico ocasionando resistencia de las células leucémicas a la quimioterapia de inducción, además de persistencia de la enfermedad o recaídas tempranas.<sup>(16)</sup>

EL CD34 es una proteína de diferenciación celular, se encuentra distribuida en la médula ósea en 1 a 4 % incluyendo células hematopoyéticas y células endoteliales y juega un papel importante en la transducción de señales entre leucocitos y células endoteliales, sin embargo, en las leucemias agudas este marcador se encuentra elevado en relación

directamente proporcional a la glucoproteína P (15). Algunos estudios han determinado que a mayor proporción de CD34+ los pacientes presentan falla a tratamiento y recaídas tempranas, confiriéndoles mal pronóstico a los pacientes ya que como se mencionó anteriormente, estas células expresan la glucoproteína P.

Una alta expresión de glucoproteína P (gen de MDR) se ha asociado con remisiones cortas en pacientes con leucemia mielodíscida aguda, especialmente en aquellos de edad avanzada, por lo cual es importante valorar la utilidad del inmunofenotipo para decidir el tratamiento y en caso de pacientes jóvenes protocolizarlos para trasplante de médula ósea<sup>(17,18)</sup>

## **II.- PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA:**

Actualmente ingresan a nuestro servicio un total de 100 pacientes nuevos con leucemia aguda cada año, de estos un 35% son linfoides y en un 60% se logra remisión completa, sin embargo algunas de estas remisiones son de corta duración, presentándose recaídas tempranas, con gran resistencia a quimioterápicos, por lo cual es de vital importancia establecer el riesgo mediante la detección de factores pronósticos al diagnóstico.

Es importante en cualquier paciente con leucemia aguda, efectuar estudios de inmunofenotipo al diagnóstico, ya que indirectamente se pueden encontrar algunos factores pronósticos como la expresión en cantidades elevadas de CD34 o algún marcador aberrante. Dado que en nuestro servicio contamos con citometría de flujo, podemos determinar otro tipo de proteínas como la Glucoproteína P que teniendo una alta expresión, confiere al paciente resistencia a algunas drogas utilizadas en la terapia de inducción, de aquí la importancia del estudio para determinar ¿Cual es el papel que tiene la expresión de CD34 y glucoproteína P como factor pronóstico en pacientes con leucemia aguda de novo

I

### **III-JUSTIFICACION**

Existen factores de mal pronóstico descritos tanto para leucemia mieloide como linfoblástica que incluyen: edad, número de leucocitos al diagnóstico, cariotipo adverso, tiempo en alcanzar la remisión, sin embargo en últimas décadas se ha visto que uno de los factores adversos de mal pronóstico más importantes es tener algunas alteraciones genéticas desfavorables como las traslocaciones (9;22) y (4;11), así como trisomías. La citometría de flujo juega un papel importante actualmente ya que por medio de ella podemos determinar la presencia de CD34 y Glucoprotiena P la cual codifica para el gen de MDR (multidrogoresistencia) siendo un factor adverso en la duración de la remisión y en pacientes con leucemia mieloide aguda se ha asociado con remisiones de la enfermedad de corta duración.

#### **IV OBJETIVOS:**

##### **Objetivo principal:**

- Determinar la expresión de CD34 y glucoproteína P en pacientes con leucemia aguda de novo y su relación como factor pronóstico.

## **V.- HIPÓTESIS.**

La expresión elevada de CD34 y glucoproteína P en los blastos de las leucemias agudas de novo se encuentra en relación directamente proporcional con el pronóstico de los enfermos.

La expresión de estos marcadores puede influir como factor adverso para lograr una remisión completa de la enfermedad con el tratamiento de inducción a la remisión.

Los pacientes con leucemia aguda que expresan la glucoproteína P y CD34 en los blastos, tienen menor supervivencia libre de enfermedad y menor supervivencia global.



## **VI.- ENFERMOS Y METODOS**

### **DEFINICIÓN DE LA POBLACION A ESTUDIAR**

Se estudiaron pacientes con diagnóstico de Leucemia aguda de novo que ingresaron al Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional la Raza del 01 de septiembre del 2003 al 31 de septiembre del 2004

### **CRITERIOS DE SELECCION**

#### **INCLUSION**

- Pacientes con diagnóstico de Leucemia Aguda de Novo que ingresen al Servicio de Hematología del HECMNR.
- Edad igual o mayor a 16 años.
- Que cuenten con inmunofenotipo tanto de sangre periférica como de médula ósea.

#### **NO INCLUSIÓN**

- Pacientes tratados con quimioterapia previamente.
- Pacientes con recaída a médula ósea.
- Que tengan inmunofenotipo realizado en otra institución.
- Pacientes con leucemias secundarias.
- Pacientes con antecedente de enfermedad inmunológica.
- Pacientes con diagnóstico de LGC en fase blástica

#### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

- Fallecimiento del paciente.
- Cuestiones técnicas

#### **TIPO DE ESTUDIO**

Respectivo, observacional, comparativo.

**TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

Se incluyeron todos los pacientes que ingresaron al servicio del 01 de septiembre del 2004 al 31 de septiembre del 2004 y que cumplieron con los criterios de inclusión.

## VII- DEFINICION DE VARIABLES

**CD34:** Marcador de célula tallo hematopoyética se midió en porcentaje siendo positivo igual o mayor de 21 %, y se cuantificó por citometría de flujo.

**Glucoproteína P.** Proteína la cual es producto del gen de Multidrogo resistencia, se consideró positiva con un porcentaje igual o mayor de 5% y se midió al igual por citometría de flujo.

**Edad.** Lapso de tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta el momento actual Variable independiente, se midió en años.

**Sexo:** condición orgánica que distingue el genero masculino y femenino variable independiente, cualitativa.

**Leucocitos:** cantidad de células blancas circulantes en sangre periférica.

**Subtipo de leucemia:** Se dará de acuerdo la clasificación de la FAB por morfología cumpliendo los criterios de ella, y se clasificó en:

Linfoides: L1. L2. L3

Mieloides: M0. M1. M2. M3- M4. - M5- M6- M7.

**DHL:** Deshidrogenada láctica variable independiente, se midió en unidades internacionales, se consideró de mal pronóstico si se encontraba elevada, tomando como rangos normales (230 –460 U/L).

**Supervivencia libre de enfermedad.** Se midió de acuerdo con las curvas de Kaplan y Meier y se definió como: El tiempo que transcurre desde la remisión completa del paciente hasta que presente recaída, muerte o la fecha de la última evaluación. Se dió un valor de 1 al paciente con recaída y/ o muerte y 0 a los que viven y conserven la remisión completa.

**Supervivencia global.** Es el tiempo que transcurre desde el diagnóstico hasta la muerte del paciente o a la última evaluación. Se dió valor de 1 a los que murieron y 0 a los que viven.

## VII ANALISIS ESTADÍSTICO

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	PRUEBA ESTADÍSTICA
CD34	Cuantitativa nominal dependiente	= o >21% sí <20 % no	X2 o prueba exacta de Fisher.
Glucoproteína P	Cualitativa nominal Dependiente	= o > 30% Si <30% No	X2 o exacta de Fisher
Edad	Cuantitativa independiente	años	Wilcoxon
Sexo	Cualitativa Independiente	Masculino Femenino	X2 o exacta de Fisher
leucocitos	Cuantitativa continua independiente	Mm3	Wilcoxon
Subtipo de leucemia	Cuantitativa independiente	L1, L2, L3 M0,M1,M2M3 M4.M5.M6,M7	X2 o prueba exacta de Fisher.
DHL	Cuantitativa continua independiente	UI	Wilcoxon
Supervivencia libre de enfermedad	Cuantitativa continua independiente	meses	Kaplan Y Meier
Supervivencia global	Cuantitativa continua independiente	meses	Kaplan y Meier

## **VIII-ASPECTOS ÉTICOS:**

Es un estudio piloto no invasivo. El cual deberá de ser aprobado por el Comité de Ética y el de Investigación del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional la Raza IMSS.

El protocolo de estudio se basó en las normas de la declaración de Helsinki y en las normas de buenas prácticas clínicas.

## RESULTADOS:

Se incluyeron un total de 92 pacientes con diagnóstico de leucemia aguda de novo, 56 con leucemia aguda linfoblástica (LAL) y 36 pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA). A todos ellos se les realizó inmunofenotipo en médula ósea con los siguientes marcadores: CD34, Cd33, CD2, CD3, CD5, CD7, CD10, CD19, CD20, CD22, CD23, TdT, Igs, IgC, MPO, Cd15, CD14, Cd13 CD42, Glicoforina A.

**Leucemia mieloide aguda:** Se estudiaron 36 pacientes, 20 mujeres y 16 hombres con una mediana de edad de 38.1 años (16 – 68 años). Los subtipos de leucemia se describen en la tabla 1.

Se analizaron al diagnóstico algunas variables como cuenta de leucocitos, niveles de DHL, expresión de GP P y CD34 (tabla 2). Diecinueve pacientes (52.8%) presentaron una cuenta elevada de leucocitos, 10 (27.8%) leucocitos bajos y 7 (19.4%), normales. En lo que se refiere a la cifra de DHL, fue alta en 30 pacientes (83.3%) y baja en 6 (16.7%). El CD34 se efectuó solo en 33 pacientes, de los cuales 21 tuvieron una expresión alta (58.8%) y en 12 fue normal (33.3%). Tabla 2

La Glucoproteína P se midió solo a 23 pacientes, 8 de ellos la tuvieron alta (22.2%) y normal en 15 (41.7%).

De los 36 pacientes que se diagnosticaron, 35 iniciaron tratamiento y solamente 1 de ellos falleció antes del inicio de quimioterapia de inducción a la remisión (IR), de los cuales 11 correspondieron a subtipo LAM M3 y recibieron tratamiento con ATRA 45 mg/m<sup>2</sup> s.c. V.O. por 45 días e idarrubicina 12 mg/m<sup>2</sup> sc. I.V. por tres días, y el resto esquema 7/3 (ara c 100 mg/m<sup>2</sup> s.c. por 7 días e idarrubicina 12 mg/m<sup>2</sup> s.c. por tres días), 2 de estos pacientes ingresaron a trasplante de médula ósea (TMO), uno de ellos en 1ª remisión fue sometido a

TMO autólogo y actualmente se encuentra en remisión completa, el otro se encontraba en 2ª remisión y fue sometido a TMO alogénico y presentó recaída de la enfermedad 60 días posterior al mismo, actualmente se encuentra en tratamiento paliativo.

De estos pacientes que ingresaron al servicio, 19 (52%) fallecieron durante el tratamiento de IR, siendo la causa infecciones y hemorragia y 3 (8.3%) pacientes fallecieron durante la posremisión por progresión de la enfermedad.

### **La supervivencia global (SG)**

La mediana fue de 5.82 meses (IC= 95 (3.86 – 7.71) (Figura 1). Cuando se comparó aquellos pacientes que presentaron expresión alta de la GP P con los de expresión normal, la SG fue de 4.18 IC 95% (1.70 – 7.67) y 4.59 (IC 95% 2.21 – 6.86) respectivamente (P= 0.4) (Figura 2).

Igualmente, la mediana de SG en los pacientes que presentaron expresión alta de CD34 fue de 3.7 meses IC =95 (1.60 – 5.79), y para los que expresaron CD34 normal fue de 8.09 IC= 95% (4.81 – 11,37) (P=0.07) (Figura 3).

La supervivencia global fue similar para los pacientes que presentaron cuentas altas o normales de leucocitos (P = .66), por otro lado, los pacientes que tuvieron cifras de DHL elevadas al diagnóstico, tuvieron una SG inferior a los pacientes con DHL normal (P= .01) .

### **Supervivencia libre de enfermedad**

La mediana fue de 3.99 meses (IC= 95% (2.36-5.62%) (Figura 4). Cuando se comparó aquellos pacientes que presentaron expresión alta de CD34 con aquellos que tenían una expresión normal, la mediana fue de 2.46 meses IC 95% (.75 – 4.17) y de 5.1 meses IC 95% (2.78 – 7.69) respectivamente con una (P=:0.05) (Figura 6).



La SLE fue menor en aquellos pacientes con niveles de DHL elevada 2.83 IC 95% (1.33 – 4.3)  $P = .003$  (Figura 7).

Así mismo no hubo diferencia estadística en pacientes con niveles altos de GP  $P$  comparados con aquellos pacientes con niveles normales siendo la media de 2.86 IC 95% (.00 – 6.28), y 3.19 meses ( $P = .81$ ). Figura 5

Otros marcadores con significado estadística fueron presencia de CD33 en niveles altos ( $P < 0.01$ ), así mismo, hubo tendencia a supervivencia corta en los pacientes que tuvieron niveles altos de: TDT ( $P = .27$ ), CD10 ( $P = .16$ ), y CD19 ( $P = .07$ ).

### **Leucemia Linfoblástica Aguda:**

Se incluyeron un total de 56 pacientes 30 mujeres y 26 hombres los subtipos de leucemia según la FAB se describen en tabla 2.

La mediana de edad fue de 39.7 (16 – 82.), se analizaron al diagnóstico la cuenta de leucocitos siendo alta en 38 (67.9%) normales: 6 (10,7%) y baja 12 (21,5%); en lo que respecta a los niveles de DHL 53 de estos pacientes (94.6) la tuvieron alta y 3 (5.4%) normal Tabla 4

Se determinó la expresión de CD34 en 56 pacientes, la expresión fue alta en 42 (75%) y normal en 14 pacientes (25%).

En cuanto a expresión de glucoproteína P fue posible determinarla en 38 pacientes de los 56 que se incluyeron, observándose una expresión alta en 19 pacientes (50%).

De los 56 pacientes que se incluyeron, 25 (44.6%) se encuentran vivos y 31 (55.4%) fallecieron durante la inducción a la remisión, siendo las causas principales hemorragia (30%), sepsis (65%) y toxicidad a quimioterapia (15%). Veintiséis pacientes (46.4%) alcanzaron remisión con el primer ciclo de quimioterapia en un promedio de 31 días (25 – 37 días), 4 pacientes fueron refractarios a quimioterapia y actualmente se encuentran en tratamiento paliativo. La quimioterapia utilizada en IR fue esquema BFM (L.asparginasa 6,000 UI  $m^2sc$  diariamente por 14 días, Vincristina 1.4  $m^2/$  semanal, daunorrubicina 45  $mg/m^2$  semanal por 4 semanas, prednisona 60  $mgs /m^2sc$  diariamente por 28 días) en 37 pacientes (66%), HCVAD( ciclofosfamida 300  $mg./m^2sc$  c12 hrs. x 6 dosis ,Dexametasona 40 Mg. IV c/24 hrs. x 4 días, vincristina 1.4  $mg./m^2sc$  día 4 y 11 del esquema, daunorrubicina 45  $mg./m^2$  SC, s en los días 4 y 11 ) 7 (12.5%) y en pacientes con leucemia

bifenotípica 6 (1%) se administro esquema 7/3 (Ara C /Idarrubicina) y esquema Burkitt en el subtipo de leucemia L3 (0.53%).

#### **Supervivencia global:**

Fue de 6.8 meses IC 95% (3.64 – 8.43) (Figura 8). Cuando se comparó a aquellos pacientes con expresión elevada de CD34 y expresión normal la SG fue de: 6.95 meses IC 95% (4.76 – 9.3) y 4.55 IC 95% (.0 – 11.45) respectivamente (P= 0.64).

La SG en pacientes con una GP P elevada fue de 6.45 IC 95% (3.56 – 9.33) y para aquellos pacientes con niveles normales 6.30 IC 95% (.00 – 14.87) (P=0.94) Figura 9  
Otros marcadores sin significado estadístico fueron CD2 (P=0.22), CD7 (P=0.27), CD10 (P=0.48).

#### **Supervivencia libre de enfermedad (SLE).**

La mediana fue de 7.40 meses IC 95% (5.65 - 9). Figura 10 .Cuando se comparó la expresión elevada de GP y expresión normal la SLE fue de 8.80 meses IC 95% (6 – 7) y 7.95 IC 95% 5.59 – 10.32) respectivamente (P=0.71) figura 11 y expresión alta de CD34 6.83 IC. 95% (4.77- 8.81) (P=0.29) Figura 12

**Tabla 1 Frecuencia de leucemia mieloide aguda de acuerdo a la clasificación de la FAB.**

Subtipo de Leucemia	Frecuencia	
M2	10	27.8%
M3	11	30.6%
M4	8	22.2%
M5	1	2.8%
M6	1	2.8%
M7	2	5.6%
Bifenotípica	3	8.3%

**Tabla 2 Frecuencia de leucemia linfoblástica aguda de acuerdo a la Clasificación de la FAB.**

Subtipo de Leucemia	Frecuencia	
L1	1	1.8%
L2	46	82.1%
L3	3	5.4%
Bifenotípica	6	10.7%

Tabla 3

**Características de los Pacientes Leucemia Mieloide Aguda**

Sexo	
Femenino/masculino	20/16
Edad	
Mediana	38.1
Rangos	(16- 68)
Leucocitos	
Altos/Normales/bajos:	19/7/10
DHL	
Normal/Alta	30/16
Glucoproteína P	
Normal/Alta	15/8
CD34	
Normal/Alto	21/12

Tabla 4

**Características de pacientes con Leucemia linfoblástica aguda**

---

Sexo	
Femenino/masculino	30/26
<hr/>	
Edad	
Mediana	39.7
Rangos	(16- 82)
<hr/>	
Leucocitos	
Altos/Normales/bajos:	38/6/12
<hr/>	
DHL	
Normal/Alta	53/3
<hr/>	
Glucoproteína P	
Normal/Alta	15/19
<hr/>	
CD34	
Normal/Alto	42/14
<hr/>	

Fig. 1. Supervivencia global en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda.

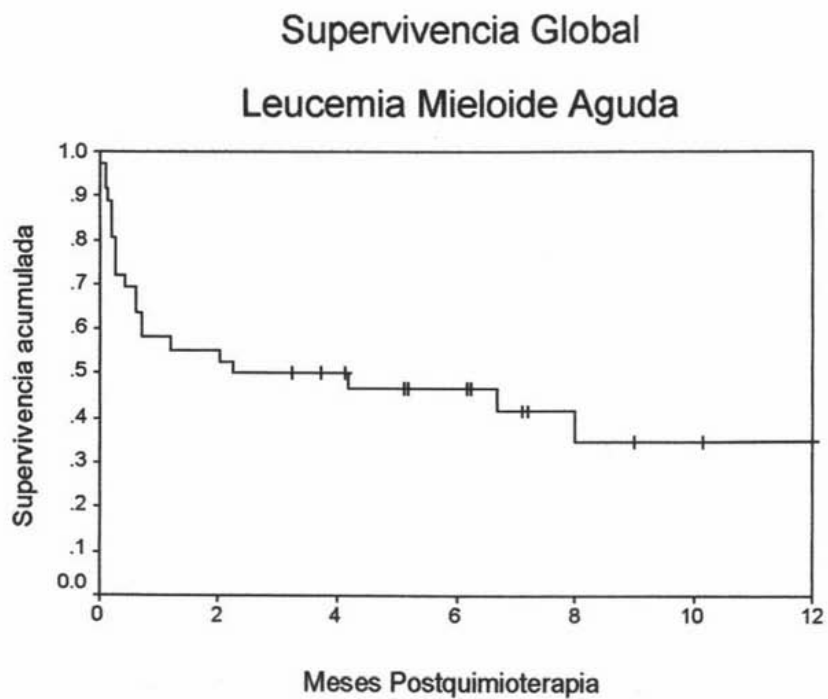


Figura 2 Supervivencia Global en Pacientes con Leucemia mieloide Aguda y Expresión de GP P

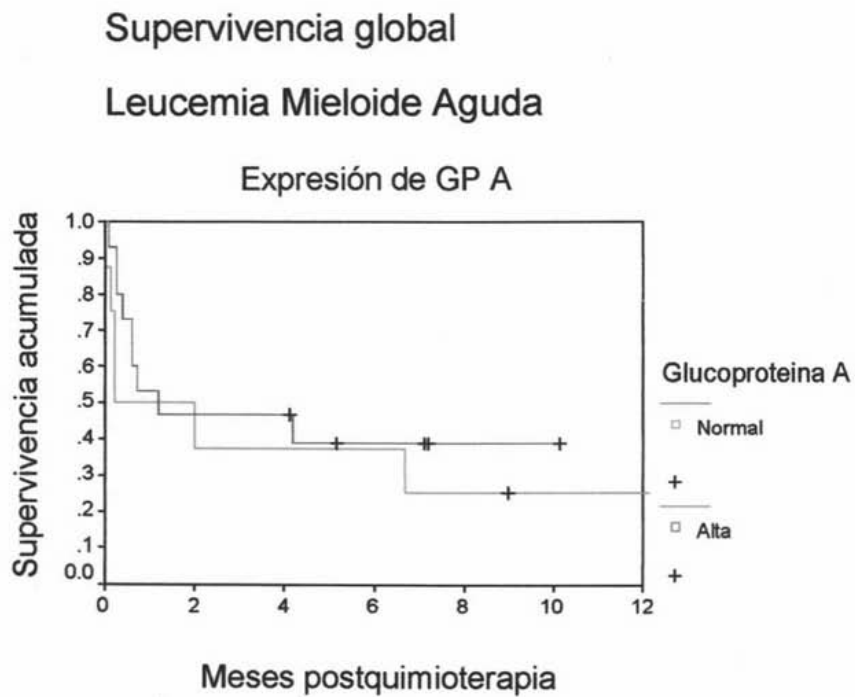




Figura :3 Supervivencia Global en Leucemia Mieloide Aguda con expresión Alta de CD34

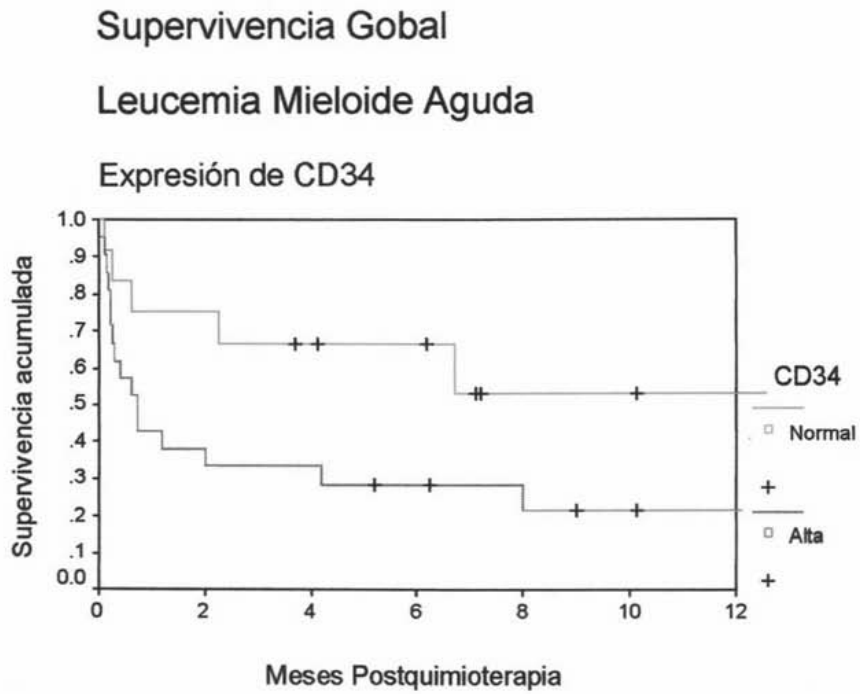
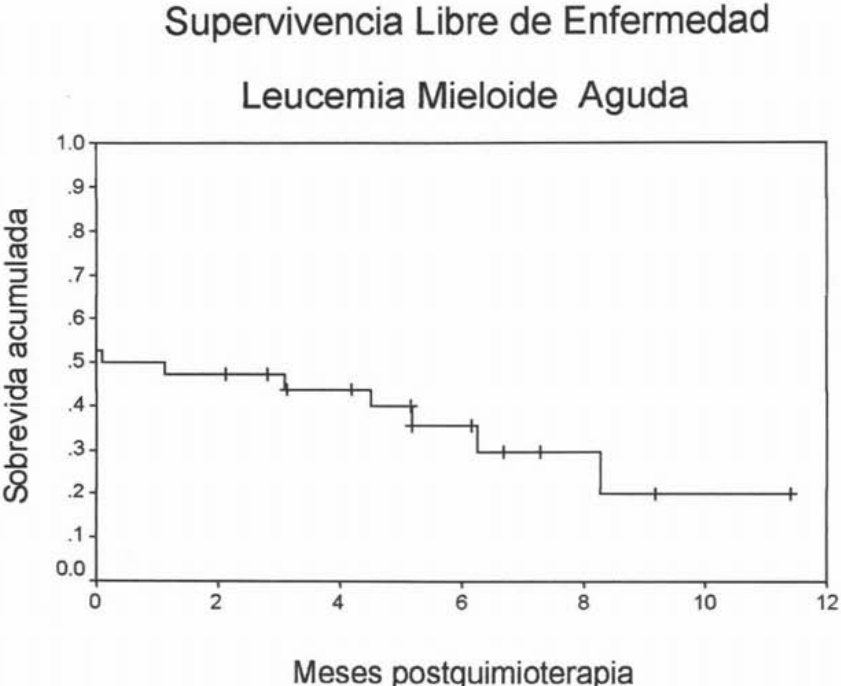


Figura 4 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Mieloide Aguda



**Figura 5 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Mieloide Aguda y Expresión de GP P**

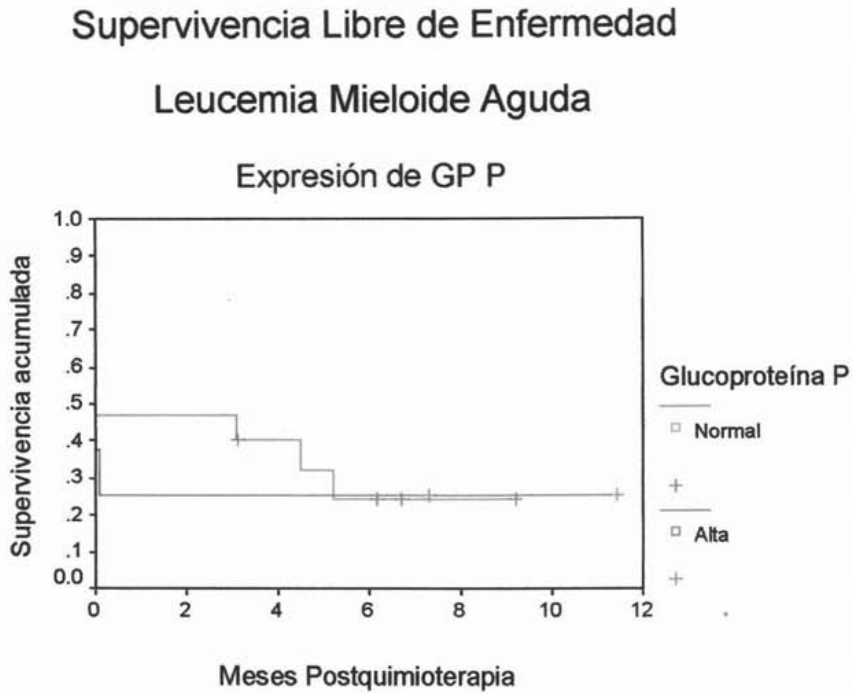


Figura 6 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Mieloide Aguda y Expresion de CD34

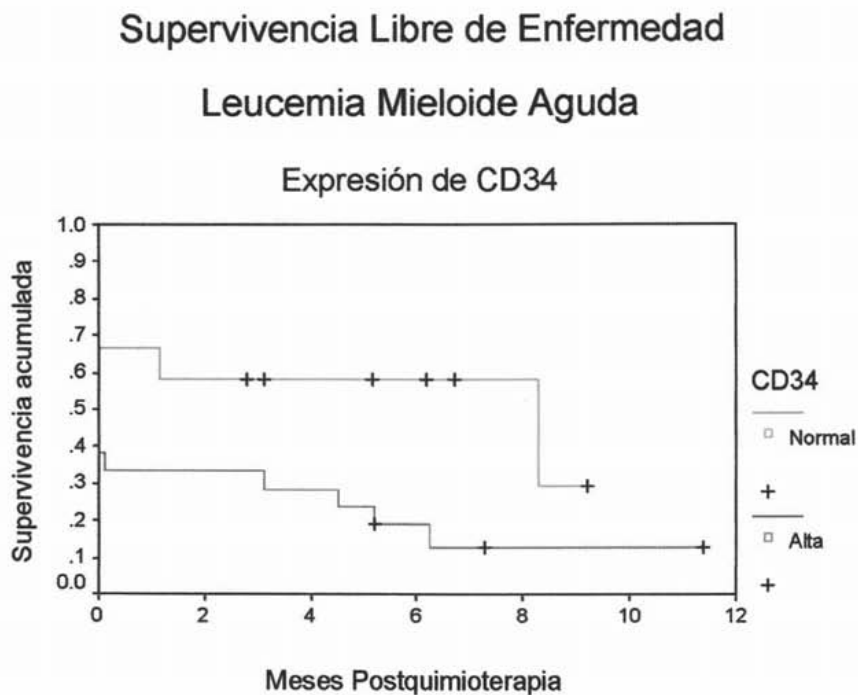


Figura 7 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Mieloide Aguda y Niveles de DHL.

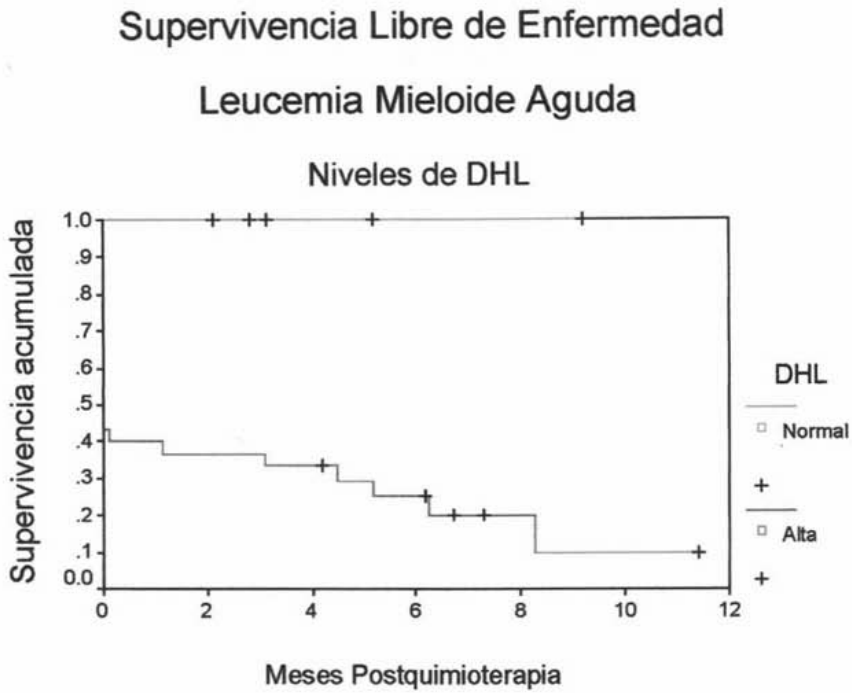


Figura 8 Supervivencia Global en Leucemia Linfoblástica Aguda

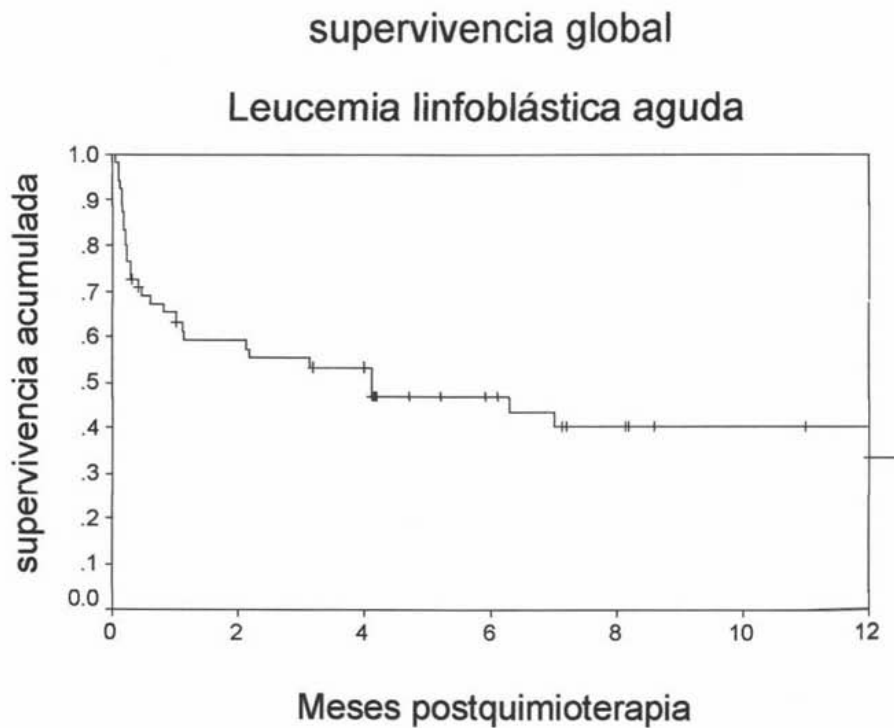


Figura 9 Supervivencia Global en Leucemia Linfoblástica Aguda y Expresión de GP P

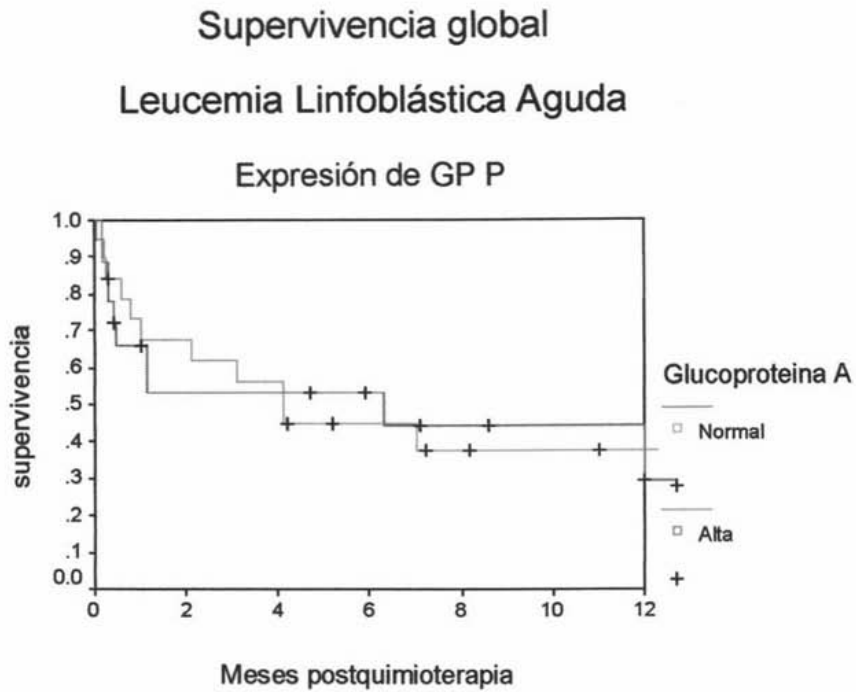


Figura 10 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Linfoblástica Aguda

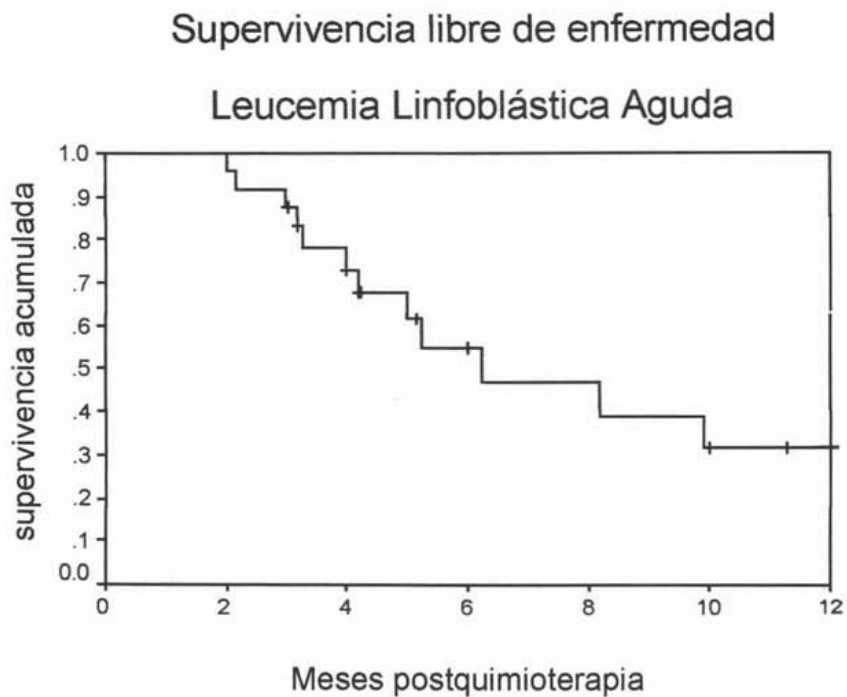




Figura 11 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Linfoblástica Aguda y Expresión de GP P.

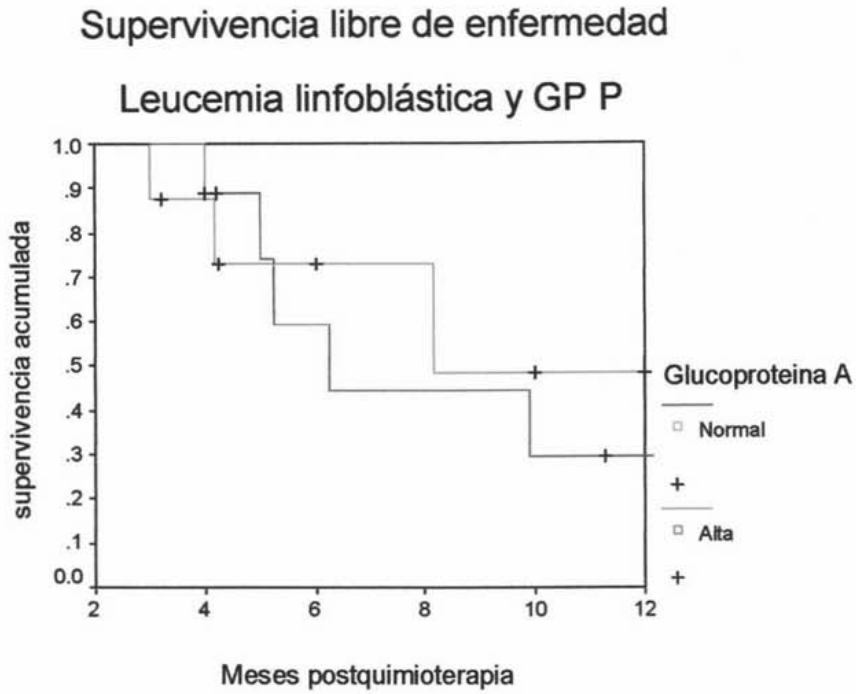
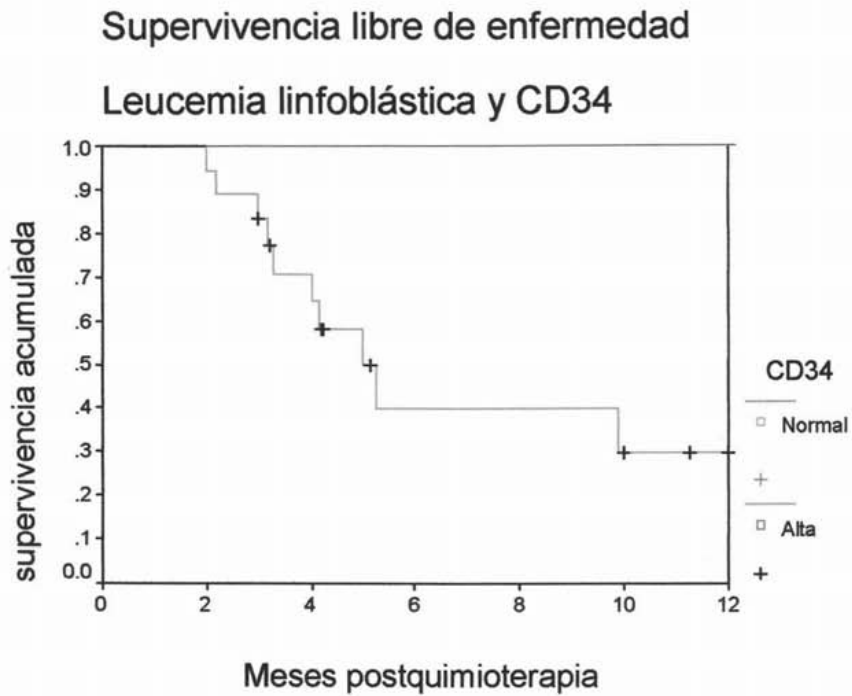


Figura .12 Supervivencia Libre de Enfermedad en Leucemia Linfoblástica Aguda y Expresión de CD34



## DISCUSION:

La expresión de glucoproteína P es reconocida como un mecanismo de resistencia a drogas en tumores refractarios. Recientemente algunos estudios demostraron que la sobre expresión de glucoproteína P en pacientes con leucemias agudas secundarias esta relacionada a exposición de terapia previa, sin embargo no siempre existe antecedente de tratamientos previos ni de mielodisplasia. En algunos estudios se ha encontrado expresión elevada de GP P hasta en un 58% en pacientes con leucemia de novo<sup>8</sup>.

Cuando se asocio esta sobre expresión con otro marcador, se encontró una relación con la expresión alta de CD34, confiriéndoles pobre respuesta a quimioterapia.<sup>6</sup>

En algunos estudios para corroborar si la expresión de GP y CD34 son factores pronósticos independientes, se evaluó la presencia de alteraciones citogenéticas, encontrando que la presencia de anormalidades citogenéticas como trisomía 8 y anormalidades del cromosoma 7 estaban asociadas a pobre pronóstico y otras alteraciones como t(8:21)(q22;q22), inv(16) y t(15:17) tuvieron un pronóstico favorable. Estos datos indican que en pacientes con leucemia mieloide aguda de novo puede reconocerse un fenotipo o subpoblación celular con baja sensibilidad a las drogas utilizadas en este tipo de leucemias, confiriéndole al paciente una pobre posibilidad de remisión completa y una alta posibilidad de refractariedad.<sup>4</sup>

Por otra parte como es sabido una determinante como factor adverso es encontrar una DHL elevada misma que pudo ser reproducida en este estudio ya que tuvo una P significativa, así como la expresión de CD33 el cual es un marcador para blastos mieloides no conociéndose la importancia como factor pronostico sin embargo en este estudio si fue significativo para una SG y SLE.

En lo que respecta a la LLA en un estudio multicéntrico se encontró que la presencia de glucoproteína P estaba elevada en un tercio de pacientes con leucemia de novo, lo cual se correlacionó con una pobre respuesta a quimioterapia, por lo que se concluyó que la expresión de esta GP predice una baja posibilidad de remisiones completas lo cual puede ser un parámetro para decidir el esquema de quimioterapia, así como el riesgo para el manejo de pacientes con LLA (9).

En el presente estudio se estudiaron en una forma independiente la expresión de CD34 y Glucoproteína P, en leucemia mieloide aguda la expresión de Glucoproteína P no tuvo significado estadístico en supervivencia libre de enfermedad, ni en supervivencia global. Por otro lado, cuando se determinó CD34, se demostró que valores elevados confieren un mal pronóstico tanto en SLE como en SG.

En la leucemia linfoblástica, el único factor con importancia pronóstica fue la determinación de CD34 para SLE.

Por lo tanto en nuestro estudio se demostró que la determinación de CD34 es útil como factor pronóstico en leucemias agudas, ya que la sobreexpresión de esta proteína influye tanto en la SLE como en la SG. Se sabe bien que existe una relación directamente proporcional entre la sobreexpresión de GP P y de CD34, en el presente estudio se analizaron las dos variables por separado, por lo que es necesario en un futuro analizar los dos parámetros en forma simultánea por medio de dos anticuerpos con fluorocromos distintos.

Es necesario en el presente trabajo continuar el seguimiento de los pacientes a largo plazo para confirmar nuestros hallazgos y además, cuando el tamaño de la muestra sea mayor, realizar un análisis de regresión de Cox para determinar si estas variables tienen valor pronóstico independiente

## **BILIOGRAFIA:**

- 1.- Acute lymphoblast leukemia: Ching H. Beutler E; Lichtamn M, Williams. - Hematology 6<sup>a</sup>.; edit. McGraw Hill Ed. 2001; 1163-85.
- 2.- Greer J; Baer M; Kinney M Acute Myeologenous Leukemia Wintrobe's.- Clinical Hematology Baltimore Maryland Edit: Williams & Wilkins. Ed10a. . 2242-315.
- 3.-Kern W, Voscanova D; Schoch C; Hiddemann W; .- Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in unselect patients whit acute myeloid leukemia; Blood 2004;104: 3078-3085.
- 4.- Del Poeta Giovanni- Clinical relevance of P glycoprotein expression in de novo acute myeloid leukemia; Blood 1996;87; 1997-2004.
- 5.-Van den Heuvel- Elbrink:- MDR 1 gene related clonal selection and P- Glycoprotein function and expression in relapsed or refractory acute myeloid leukemia; Blood 2001; 97 3605-3611.
- 6.- Leith C; Kenneth L.; Kopecky J; Ming Chen I; Eijdem L Slovak M - Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug Resistance proteins MDR1/ P - Glycoprotein, MRP1 and LRP in acute myeloid leukemia; Blood año:94; 1986 – 1099.
- 7.- Illmer T; Schuler U; Thiede C; Swartz U; Kim R; Gotthard S; Freunde D; Schakel U; Ehniger G; Schaich M: MDR1 Gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. Cancer Research 2002; 62; 4955- 4962.
- 8.- Te Boekhorst Peter Leuvw Kees; Schoester M; Wittebol S; Nooter K; Hegemijer A; Lowenberg B; Sonneveld P: . Predominance of functional multidrug resistance (MDR-1) phenotype in Cd34 + acute myeloid leukemia cells. Blood 1993, 10, 3157 – 62.

- 9.- Patel V; Dunn M; Sorokin A; Dunn Michael ; sorokin A; . Regulation of MDR.1 (P-glycoprotein ) by cyclooxygenase – 2. Jbc; 2002; 277 38915- 20.
- 10.- Tafuri A; Gregorj C; Petrucci M; Ricardo M; Macini M; Cimino G; Mecucci C; Tedeschi A; Floritoni D; Ferrara F; Di RaimondoF; Gallo E; Liso V; Fabbiano F Cascavilla N .- MDR 1 protein expression in an independent predictor of complete remission in newly diagnosed adult acute lymphoblastic leukemia.Blood 2002;100; 974-81.
- 11.- Goasguen J; Dossot J; Fardel O; Lee Me F; Le Gall E Leblay R Expression of the multidrug resistance associated P glycoprotein P 170 in 59 cases of the novo acute lymphoblastic leukemia: prognostic implications: Blood 1993; 81; 2390.
- 12.- Pallis M; Russel N: : P glycoptroein plays a drug efflux independent role augmenting cell survival in acute myeloblastica leukemia and is associated with modulation of sphingomyelin ceramide apoptotic pathway: Blood 2000; 95 2697.
- 13.- Hematology oncology clinics of North America: 1995: 9 ..
- 14.- Dalton WS. Mechanisms of drug resistance in hematological malignancies. Semin Hematol 1997; 34 – 8.
- 15.-Wattel E; Lepelley P; Meralt A: The expression of the multridrug resistance related glycoprotein P in newly diagnosed adult acute lymphoblastic leukemia absence of correlation with resoponses to treatment. Leukemia 1995: 1870- 74.
- 16.- Beck WT, Grogan TM, William CL. Methods to detect P Glycoprotein associated multidrug resistance in patients tumor consensus recommendation. Cancer res, 1996; 56: 3010. 20.
- 17.- Hoelzer D; Thiel E Loeffler H. Prognostic factors in a multicenter study for treatment of acute lymphoblastic leukemia in adult.Blood 1988; 71: 123-31.

18.- Neussler W, Gullis E, Pelka Fleischer R. Expression and functional activity of P glycoprotein in adult acute myelogenous leukemia patients. *Ann Hematol.* 1997;75: 17-26.

ANEXO 1

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
 SERVICIO DE HEMATOLOGIA  
 CLINICA DE LEUCEMIAS

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Afiliación \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Diagnostico \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Tratamiento recibido: \_\_\_\_\_

Fecha de inicio de tratamiento: \_\_\_\_\_

Remisión completa: \_\_\_\_\_

Citogenética: \_\_\_\_\_

Fecha	H b	Leucocitos	N	linfos	% de BL	plaquetas	DHL	SNC	Hepatomegalia	Espenoemgalia



ANEXO 2

Edad: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_

INMUNOFENOTIPO MO:		SP	
HLA DR.	CD45		
CD34	IgS		
CD33	IgC		
CD2	gluc. P		
CD5	Glucosforina AG		
CD7			
CD9			
CD10			
CD13			
CD14			
CD15			
CD19			
CD20			
CD22			
CD25			
CD42			