



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"
DR. ANTONIO FRAGA MOURET.

*ZAP70, P53 MUTADO, CD38 Y SU CORRELACIÓN CON LA RESPUESTA AL
TRATAMIENTO EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA.*

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:

HEMATOLOGIA

PRESENTA:

DRA. LILIA ERIKA MIRANDA CORNEJO

ASESOR:

DRA. LAURA ARACELIA MONTIEL CERVANTES

MÉXICO, D.F. 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dr. Jesús Arenas Osuna.

Jefe de División de Educación en Salud

UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza” .

Dr. Jorge Vela Ojeda.

Jefe del Servicio de Hematología y Profesor titular del curso de la UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza” .

Dra. Lilia Erika Miranda Cornejo.

Residente de Tercer año de Hematología de la UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza” .

Número De Registro:

R-2011-3501-95

ÍNDICE	
	Página
Caratula	1
Hoja de autorización de tesis	2
Índice	3
Resumen	4
Abstract	5
Introducción	6
Material y Métodos	10
Resultados	13
Discusión	15
Conclusiones	18
Bibliografía	19
Anexos	22

ZAP-70, P53 MUTADO, CD38 Y SU CORRELACIÓN CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA.

INTRODUCCION. La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una neoplasia heterogénea, hay pacientes con comportamiento agresivo, con falla a tratamiento mientras otros muestran buena respuesta. ZAP-70, p53 y CD38 son proteínas cuya expresión en linfocitos neoplásicos pueden fungir como predictoras de respuesta.

OBJETIVO. Estudiar la asociación de la expresión de las proteínas de ZAP70, p53 mutado y CD38 con la respuesta al tratamiento en pacientes con LLC de novo.

MATERIAL Y METODOS. Estudio observacional, retrospectivo, de enero 2009 a junio 2011. Criterios de inclusión: pacientes con LLC de novo, con determinación de ZAP70, CD38 y p53 realizada en citometro, con seguimiento registrado en su expediente; criterios de exclusión pacientes con determinación de proteínas realizada en otra unidad. Se calculó incidencia de respuesta al tratamiento con intervalos de confianza al 95%, se compararon los niveles de proteínas mediante U Mann-Withney, para la supervivencia, se empleo Kaplan-Meier.

RESULTADOS. Se incluyeron 36 pacientes, los pacientes con respuesta al tratamiento tuvieron niveles más bajos de Zap-70 y CD38 en comparación con aquéllos con falla al tratamiento. No se encontraron diferencias con p53.

CONCLUSIONES. CD38 es el marcador que más se asocia a falla terapéutica. ZAP-70 logra asociarse pero con niveles de expresión más altos. La detección temprana de estas proteínas puede emplearse como marcador de pobre respuesta al tratamiento y ofrecer esquemas terapéuticos más intensivos. P-53mutada, no logro asociación.

PALABRAS CLAVE. ZAP-70, p53, CD38.

ZAP-70, MUTATED p53, CD38 AND ITS CORRELATION WITH THE RESPONSE TO TREATMENT IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA.

INTRODUCTION. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a heterogeneous neoplasia; there are patients with aggressive behavior with treatment failure, while others respond well. ZAP-70, p53 and CD38 are proteins whose expression in neoplastic cells may serve as predictors of response.

OBJECTIVE. To study the association of the protein expression of ZAP70, p53 mutated and CD38 with the response to treatment in patients with de novo LLC.

MATERIALS AND METHODS. Study retrospective, observational from January 2009 to June 2011. Inclusion criteria: patients with CLL de novo, with determination of ZAP70, CD38 and p53 made in cytometer, with follow-up recorded in your file; exclusion criteria for patients with protein determination made in another unit. We calculated the incidence of response to treatment with confidence intervals at 95%, compared the levels of proteins by Mann-Whitney U, for survival employment Kaplan-Meier.

RESULTS. There were 36 patients, patients with response to treatment had lower levels of Zap-70 and CD38 compared to those with treatment failure. No differences in p53.

CONCLUSIONS. CD38 is the marker most commonly associated with treatment failure. ZAP-70 but does associated with higher expression levels. Early detection of these proteins can be used as a marker of poor response to treatment and provide more intensive treatment regimens. P-53 mutated, could not associated.

KEY WORDS. ZAP-70, p53, CD38

INTRODUCCION.

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una neoplasia caracterizada por la proliferación de linfocitos B maduros monoclonales, que infiltran la médula ósea, sangre periférica, ganglios linfáticos, bazo u otros tejidos. Representa el 9.7 % de todos los linfomas no Hodgkin (1,2). Tiene predilección por presentarse en personas de edad adulta. Hasta alcanzar 12.8 por cada 100 000, en personas mayores de 65 años (3).

La LLC es una entidad heterogénea, con un curso clínico sumamente variable, ya que hay pacientes que se presentan con un curso clínico agresivo los cuales requieren inicio de tratamiento en forma inmediata, con falla a éste, ocasionando la muerte de los pacientes al poco tiempo de ser diagnosticados, mientras que otros permanecen asintomáticos por largos periodos de tiempo, con buena respuesta al tratamiento. Los sistemas de estadificación más utilizados son la clasificación de RAI (Anexo 1) y la clasificación de Binet (Anexo 2), los cuales fueron ideados para evaluar la extensión de la enfermedad, sin embargo fallan en predecir el curso clínico de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, ya que no permiten identificar las formas estable o progresiva de la enfermedad, es por ello que se ha puesto en marcha la búsqueda de otros factores predictores de respuesta (3,4 ,5).

La heterogeneidad de la LLC ha mostrado ser un reflejo de las diferencias en el estado mutacional de los genes de las regiones variables de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IgVH) (5).Un proceso por el cual atraviesan los linfocitos B normales con el objeto de crear un receptor con adecuada afinidad por un antígeno, dicho proceso es simulado por los linfocitos neoplásicos.

Las mutaciones de los genes de las regiones variables se detectan mediante la comparación de las secuencias de ADN de los genes en las células B, con sus correspondientes genes en la línea germinal. Una secuencia que difiere de su homólogo de la línea germinal en un 2 por ciento o más se define como mutado (5).

Es así, que los casos de LLC se puede dividir en dos grupos: en el primero las células leucémicas han reordenado los genes de las regiones variables de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, con mutaciones detectadas en 2 % o más (LLC "mutado"), y en el segundo grupo, las células no se han sometido a mutación, o si las hay se encuentran en menos del 2 % (LLC "no mutado") (6).

Los pacientes con genes de IgV_H no mutados usualmente se presentan en estadios avanzados, tienen una mala respuesta al tratamiento y un curso clínico agresivo. En contraste, los pacientes que tienen mutaciones en los genes IgV_H se presentan en un estadio clínico temprano, muestran adecuada respuesta al tratamiento, y tienen una mayor supervivencia (5,6,7).

El estado mutacional de IgV_H ofrece información predictiva importante, sin embargo la secuenciación no se lleva a cabo en la mayoría de los laboratorios clínicos, por lo que se han puesto en marcha la búsqueda de otros factores predictivos sustitutos que se puedan correlacionar con el estado mutacional de los genes IgV_H (6,8).

Recientemente, se ha demostrado que la expresión de la proteína ZAP-70 en los linfocitos B neoplásicos propios de la LLC se correlaciona de forma muy estrecha con las clonas que no han sufrido mutación de los genes IgV_H, por lo

que su determinación tendría valor como predictor de respuesta al tratamiento¹; de igual forma, puede relacionarse la expresión de CD38y p53, aunque esta no siempre es constante (5).

ZAP-70

ZAP-70 es una proteína inicialmente identificada como compañera de fosforilación de la cadena Z en el complejo CD3 asociado al receptor de células T, sobre los linfocitos T. Lo que resultó se denominará proteína asociada a Z. Es un componente de membrana asociado con la activación celular de linfocitos T y células NK, ya que propaga las señales enviadas a partir de sus receptores de antígeno de superficie (8,9).

Las células B normales generalmente carecen de ZAP-70, sin embargo estudios han revelado que la expresión de ZAP-70 en linfocitos B neoplásicos está asociada con la señalización aumentada del receptor de células B.

La medición de ésta proteína puede ser usada como marcador sustituto, ya que correlaciona con el estado mutacional de los genes IgVH (7,9,10), siendo que las células de LLC que no han sufrido mutaciones de los genes IgVH, expresan ZAP-70 (8). El mecanismo de relación entre la expresión de ZAP-70 y el estado mutacional de IgVH aún es desconocido (11).

CD38

CD38 es una proteína transmembrana. Se expresa en varias células, sin embargo su interés reciente se enfoca sobre su papel en los linfocitos B, donde participa en la interacción y diferenciación, así como en la regulación la apoptosis

y en el aumento señalización de los receptores de células B(12,13). CD38 se correlaciona con el estado mutacional de los genes de IGVH, siendo un marcador fácilmente identificado mediante citometría de flujo (14).

P53

Se ha descrito que p53 es el gen más frecuentemente alterado en los cánceres humanos. El gen supresor de tumor p53 codifica una fosfoproteína que se encuentra normalmente en los núcleos de las células(15).La proteína p53 se activa por daño al DNA; sus funciones incluyen la regulación del ciclo celular, apoptosis, reparación de daño al DNA, angiogénesis y regulación del estrés oxidativo. Mediante el mecanismo de reparación o eliminación de células con daño en el DNA, mantiene la integridad del genoma y por lo tanto previene la expansión clonal (15,16,17).

Las mutaciones del gen p53, pueden ser un mecanismo por el cual las células leucémicas se vuelven resistentes a la quimioterapia (18).

Con respecto a la asociación entre los genes IgVH mutados y la disfunción de p53, hay algunas posibles explicaciones:

- 1.- La disfunción de p53 podría dañar la capacidad de las células precursoras de LLC para someterse a hipermutación somática.
- 2.- Linfocitos de LLC con genes IgVH no mutados podrían ser más selectivos para la adquisición de cambios genéticos que resultan en la disfunción de p53.
- 3.- La disfunción de p53 podría facilitar la expansión clonal selectiva de células precursoras de LLC con genes IgVH no mutados (18).

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevara a cabo en el departamento de hematología y en el laboratorio de hematología especial, de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

1. Pacientes y Diseño.

Estudio observacional, retrospectivo, que incluyó pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfocítica crónica que ingresaron al servicio de Hematología de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

Se revisaron los expedientes de los pacientes con leucemia linfocítica crónica que cumplieron con los criterios de inclusión y cuyo diagnóstico se realizó en el periodo comprendido entre enero del 2009 a junio del 2011. De estos pacientes, se recabaron los resultados basales, previos al tratamiento, de los niveles de proteínas ZAP-70, p53mutado y CD38, determinados en porcentaje mediante citometría de flujo.

Se capturaron los datos del expediente clínico y datos generales de los pacientes, para estudiar la asociación que existía entre los niveles de dichas proteínas y la respuesta que se obtenida al tratamiento. La evaluación de la respuesta se realizó a los 6 meses de que los pacientes concluyeron el esquema de tratamiento. Se consideró como respuesta al tratamiento a aquellos pacientes que lograron una respuesta completa o parcial, se considero falla al tratamiento cuando los pacientes no cumplieron con los criterios para respuesta completa o respuesta parcial y a pacientes que presentaron enfermedad progresiva o muerte relacionada a la enfermedad, según las guías establecidas a nivel internacional (2).

La respuesta alcanzada se asoció con los niveles basales de las proteínas ZAP-70, CD38 y p53mutado, siendo el punto de corte para considerarlas como positivas los porcentajes de 10%, 25% y 2% respectivamente según los objetivos planteados:

Criterios de Selección

Criterios de Inclusión:

- Pacientes mayores de 16 años.
- Que tengan diagnóstico de leucemia linfocítica crónica de novo, que hayan ingresado al servicio de hematología de enero del 2010 a junio del 2011.
- Que cuenten con determinación de ZAP70, CD38 y p53, realizada por citometría de flujo.
- Cuyo seguimiento clínico, se encuentre registrado en su expediente clínico o electrónico.

Criterios de Exclusión:

- Pacientes cuya determinación de ZAP-70, p53 mutado o CD38, no se haya realizado en el laboratorio de hematología del Hospital de especialidades centro médico La Raza.

2. Análisis Estadístico.

Se realizó un análisis descriptivo de la información utilizando medidas de tendencia central y dispersión [mediana, percentil 25 (p25) y percentil 75 (p75)] así como frecuencias y porcentajes.

Se calculó la incidencia de respuesta al tratamiento con intervalos de confianza al 95% (IC95%). Se compararon los niveles de las proteínas Zap-70, p53 y CD38

entre los pacientes con y sin respuesta al tratamiento mediante la prueba estadística U Mann-Whitney y se calcularon los Riesgos Relativos (RR) con IC95% para dichas proteínas con puntos de corte de 10%, 25% y 2% respectivamente.

Para el análisis de supervivencia, se utilizó como denominador los meses de tratamiento. Se calcularon curvas de supervivencia Kaplan-Meier para la población total comparando por sexo, año de tratamiento, estadio RAI, tipo de respuesta al tratamiento y niveles de las proteínas Zap-70, p53 y CD38.

Finalmente, se calcularon los Riesgos proporcionales (HR, Hazard ratio) con IC95% mediante el modelo de regresión de Cox, utilizando las covariables sexo, respuesta al tratamiento, estadio RAI y los niveles de proteínas.

Se consideró como estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. El análisis se desarrolló utilizando el programa estadístico STATA versión 10.0 (Texas, EUA).

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 36 pacientes entre enero de 2009 y junio de 2011, 66.67% fueron hombres (n=24) y 33.33% mujeres. El estadio clínico más frecuente, según la clasificación de RAI, fue el estadio 1 (41.67%, n=15) seguido del estadio 2 (25% n=9) y el estadio 0 (16.67%, n=4). La mediana de seguimiento en meses (p25, p75) fue de 13.5 (9.5-23) [Tabla 1]. Las medianas de los niveles de las proteínas fueron de 30.05%, 8.15% y 2.58% para Zap-70, CD38 y p53 respectivamente [Tabla 2, Figura 1].

La tasa de respuesta al tratamiento fue de 61.11% (IC95% 43.46%-76.85%) [Fig. 2]. Los pacientes con respuesta al tratamiento tuvieron niveles más bajos de las proteínas Zap-70 y CD38 en comparación con aquellos con falla al tratamiento (35.35 vs 48.6 p=0.038 para Zap-70 y 6.25 vs 24.3 p=0.003 para CD38). No se encontraron diferencias con la proteína p53. [Tabla 3]. Los pacientes con respuesta al tratamiento tuvieron una menor proporción de CD38 positivo (>25%) (4.5% vs 50%, p=0.003; RR 0.16). No se encontró asociación con los niveles positivos de Zap-70 ni p53 mutado [Tabla 4]

Se reportaron un total de 5 muertes (13.8%, IC95% 4.67- 29.49%); la mediana de seguimiento fue de 13.5 (9.5- 23) meses. La supervivencia a los 26 meses fue de 12.8% [Fig. 3]. La supervivencia fue mayor en las mujeres en comparación con los hombres (26.7% vs 5.8% p=0.031 a los 26 meses de seguimiento) [Fig. 4]. Se observó una supervivencia similar entre los pacientes con estadio RAI 0 y 1 en comparación con aquellos RAI 2,3 y 4 (8.5% vs 19.1% p=0.851 a los 26 meses de seguimiento) [Fig. 5]

No se encontraron diferencias en la supervivencia en relación a los niveles de proteínas CD38, Zap-70 ni p53, así como tampoco en relación con el tipo de respuesta al tratamiento [Fig. 6].

Al realizar el modelo de regresión de Cox, el sexo femenino se encontró como un factor protector asociado a la supervivencia (HR 0.39 IC95% 0.16 - 0.97, P=0.045). No se encontró asociación con los niveles de CD38, de Zap-70 ni p53 mutado [Tabla 5].

DISCUSION.

La leucemia linfocítica crónica (LLC) representa el 9.7 % de todos los linfomas no Hodgkin, acorde con lo reportado a nivel internacional. Dicha neoplasia es la más frecuente en la población blanca, tiene predilección por presentarse en personas de edad adulta.

La LLC, ha mostrado ser una entidad sumamente heterogénea en lo que respecta a su presentación clínica, identificándose pacientes con un curso clínico agresivo y falla al tratamiento y por otro lado pacientes con una buena respuesta al tratamiento. La mayoría de los factores pronósticos existentes en la actualidad no han logrado identificar las formas estable o progresiva de la enfermedad, según lo reportado por varios autores entre ellos John G. y cols. (3), que tras realizar una revisión de los distintos factores pronósticos, no lograron establecer una asociación precisa.

Recientemente se ha postulado que los niveles de expresión de las proteínas ZAP-70, CD38 y p53mutada, en los linfocitos B neoplásicos, podrían ser empleados como posibles factores pronósticos que identifiquen estos dos grupos de comportamiento heterogéneo, ya que revisiones previas incluidas las realizadas por Chiorazzi y cols. (5), Dighiero y cols. (7), Wiestner (8), postularon que la expresión de estas proteínas se correlaciona con el estado mutacional de los genes de las regiones variables de la Ig, lo cual se sabe identifican un subgrupo de pacientes con pobres resultados. Sin embargo la asociación entre la expresión de estas proteínas y la falla al tratamiento de estos pacientes, no han sido concretamente establecidas, ya que estudios previos han arrojado resultados discordantes, Rassenti y cols. encontró asociación con ZAP-7, pero no así para CD38.

A diferencia de la mayoría de los estudios reportados previamente los cuales solo incluían la evaluación de ZAp-70 y algunos de ellos de CD38, nuestro estudio incluyó la evaluación de las tres proteínas en un mismo tiempo en todo el grupo de pacientes estudiados, evaluando por primera vez el papel que juega la expresión de la proteína p53mutado, en forma conjunta. Las variables con confusión incluidas en nuestro análisis, incluyó la estratificación de RAI, la cual ha sido la clasificación más ampliamente usada y la cual establece grupos según la extensión de la enfermedad. No se encontró diferencias estadísticamente significativas con respecto al estadio clínico.

Acorde a los planteado ya previamente postulando a ZAP-70 y CD38 como posibles factores pronósticos de pobre respuesta, nuestro estudio encontró resultados estadísticamente significativos para logra asociarlos con falla terapéutica, ya que se demostró que los pacientes con respuesta al tratamiento tuvieron niveles más bajos de las proteínas Zap-70 y CD38 (35.35 vs 48.6 Zap-70 y 6.25 vs 24.3 para CD38) en comparación con aquéllos con falla al tratamiento, sin embargo cabe aclarar que ambos valores registrados para ZAP 70 caen dentro del rango de considerado de positividad, lo que a futuro podría plantear nuevo punto de corte, ya que a este respecto en diversos estudios aun no se ha establecido completamente los valores positivos. Nuestro estudio mostró que cifras mayores a 45% para ZAp-70 resultaron en valores significativos para asociarlos con falla al tratamiento. No sucede lo mismo para CD38, donde los valores encontrados si marcan diferencias con respecto a los valores planteados como positivos y negativos, cumpliendo con las expectativas planteadas.

Nuestro estudio evaluó la posible asociación de obtener un valor positivo de las proteínas con falla terapéutica, tomando como punto de corte para considerarlos positivos para ZAP-70, CD38, y p53 del 10%, 25% y 2% respectivamente, dicha asociación solo se logro establecer para CD38, con

resultados estadísticamente significativos. Siendo nuevamente este último el de mayor peso en nuestro análisis.

En lo que respecta a la proteína p53mutada, no se logran encontrar resultados significativos para poder asociarla a falla terapéutica.

La supervivencia no se vio afectada por la expresión de las diferentes proteínas, interesantemente se encontró una mayor supervivencia en pacientes del sexo femenino, siendo hasta ahora el primer estudio que lo reporta.

CONCLUSION.

La expresión de CD38 es el marcador que con mayor peso se asocia a la falla terapéutica. ZAP-70 logra asociarse de igual manera, sin embargo con niveles de expresión como punto de corte más alto al planteado. La detección temprana de estas proteínas puede ser útil como marcadores de pobre respuesta al tratamiento y poder así, planear esquemas terapéuticos más intensivos desde un inicio en este subtipo de pacientes con mal pronóstico. Con respecto a la expresión de p-53mutada, se requieren más estudios, ya que no se logro asociarla a falla terapéutica.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Montserrat E. Leucemia Linfática Crónica. En Hematología Clínica. Sans-Sabrafen J, BessesRaebel C, Vives Corrons J.L. ELSEVIER. 2005. 491-500.
2. Michael Hallek, Bruce D. Cheson, Daniel Catovsky, Federico Caligaris-Cappio, Guillaume Dighiero. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines. Blood. 2008. 111, 5446-5456.
3. John G. Gribben. How I treat CLL up front. Blood. 2010. 115, 187-197.
4. Faramarz Naeim. Mature B-Cell Neoplasms. En Hematopathology Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics and Molecular Approaches. Faramarz Naeim, M.D. P. Nagesh Rao, Ph.D. Wayne W. Grody, M.D. Ph.D. Elsevier. 2008. 297-372.
5. Nicholas Chiorazzi, M.D., Kanti R. Rai, M.B., B.S., and Manlio Ferrarini, M.D. Chronic Lymphocytic Leukemia. NEJM. 2005. 352, 804- 815.
6. Montillo Marco, Hamblin Terry, Hallek Michael, Monserrat Emili, Morra Enrica. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. Haematologica. 2005. 90, 391-399.
7. Dighiero G, Hamblin T J. Chronic lymphocytic leukaemia. Lancet. 2008. 371, 1017–1029.
8. Wiestner Adrian, Rosenwald Andreas, Barry Todd S., Wright George, Davis R. Eric, Henrickson Sarah E., Zhao Hong, Ibbotson Rachel E., Orchard Jenny A., Davis Zandie, Stetler – Stevenson Maryalice, Raffeld Mark, Arthur Diane C., Marti Gerald E., Wilson Wyndham H., Hamblin Terry J., Oscier David G., and Staudt Louis M. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. Blood. 2003. 101, 4944 – 4951.

9. Bene Marie Christine. What is ZAP-70?. ISAC. 2006. 70B, 204–208.
10. Rassenti Laura Z. and Kipps Thomas J. Clinical Utility of Assessing ZAP-70 and CD38 in Chronic Lymphocytic Leukemia. ISAC. 2006. 70B, 209–213.
11. Crespo Marta, B.S., Bosch Francesc, M.D., VillamorNeus, M.D., Bellosillo Beatriz, Ph.D., ColomerDolors, Ph.D., Rozman Maria, M.D., Marce Silvia, B.S., López-Guillermo Armando, M.D., Campo Elies, M.D., and Montserrat Emili, M.D. ZAP-70 Expression as a Surrogate for Immunoglobulin-Variable-Region Mutations in Chronic Lymphocytic Leukemia. N Engl J Med. 2003. 348, 1764 – 1775.
12. Silvia Deaglio, TizianaVaisitti, Semra Aydin, Enza Ferrero, and Fabio Malavasi. In-tandem insight from basic science combined with clinical research: CD38 as both marker and key component of the pathogenetic network underlying chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2006. 108, 1135- 1144.
13. Hamblin TJ, Orchard JA, Ibbotson RE, et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. Blood. 2002. 99, 1023-1029.
14. Silvia Deaglio, TizianaVaisitti, Semra Aydin, Luciana Bergui, Giovanni D’Arena, Lisa Bonello, Paola Omede’, MariaScatolini, OzrenJaksic, Giovanna Chiorino, DimitarEfremov, and Fabio Malavasi. CD38 and ZAP-70 are functionally linked and mark CLL cells with high migratory potential. Blood. 2007. 110, 4012-4021.
15. Lin Ke, Sherrington Paul D., Dennis Michael, MatraiZolta, Cawley John C. and Pettitt Andrew R. Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgVH mutation in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002. 100, 1404 – 14096.
16. Foulkes William D., M.B., Ph.D. p53 – Master and Commander. N Eng J Med. 2007. 357, 2539 – 25417.

17. Cordonelole, Masi Serena, Romana Mauro Francesca, Soddu Silvia, Morsilli Ornella, Valentini Tiziana, Vegna Maria Luce, Guglielmi Cesare, Mancini Francesca, Giuliacci Sonia, Saacchi Ada, Mandelli Franco and Foa Robert. P53 Expression in B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia: A Marker of Disease Progression and Poor Prognosis. *Blood*. 1998. 91, 4342 – 4349.
18. Dohner H., Fischer K., Bentz M., Hansen K., Benner A., Cabot G., Diehl D., Schlenk R., Coy J. and Stilgenbauer S.. P53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood*. 1995. 85, 1580 – 1589.

ANEXOS.

ANEXO I.

CLASIFICACION DE RAI

Estadios	Características clínicas
0 (riesgo bajo)	Linfocitosis en sangre periférica y en médula ósea.
I II (riesgo intermedio)	Linfadenopatía Esplenomegalia y/o Hepatomegalia
III IV (riesgo alto)	Anemia Trombocitopenia.

ANEXO II.

CLASIFICACION DE BINET

Estadios	Características clínicas
A	Menos de 3 áreas linfoides afectadas, sin anemia ni trombocitopenia
B	Más de 3 áreas linfoides afectadas, sin anemia ni trombocitopenia.
C	Hb menor a 10gr/dl y trombocitopenia menor 100mil.

Tabla1. Características de la población de estudio

Característica	n=36
Sexo masculino	24(66.67)
Estadio RAI	
RAI 0	6(16.67)
RAI 1	15(41.67)
RAI 2	9 (25)
RAI 3	5(5.56)
RAI 4	4(11.11)
Seguimiento, meses	13.5 (9.5, 23)

Los datos se presentan como número (%) ó mediana (p25,p75)

Tabla2. Niveles de proteínas en la población de estudio

Proteína	
Zap-70, %	38.05 (25.55, 22)
CD38, %	8.15 (4.7, 22)
p53, %	2.85 (1.05, 6.35)

Los datos se presentan como mediana (p25,p75)

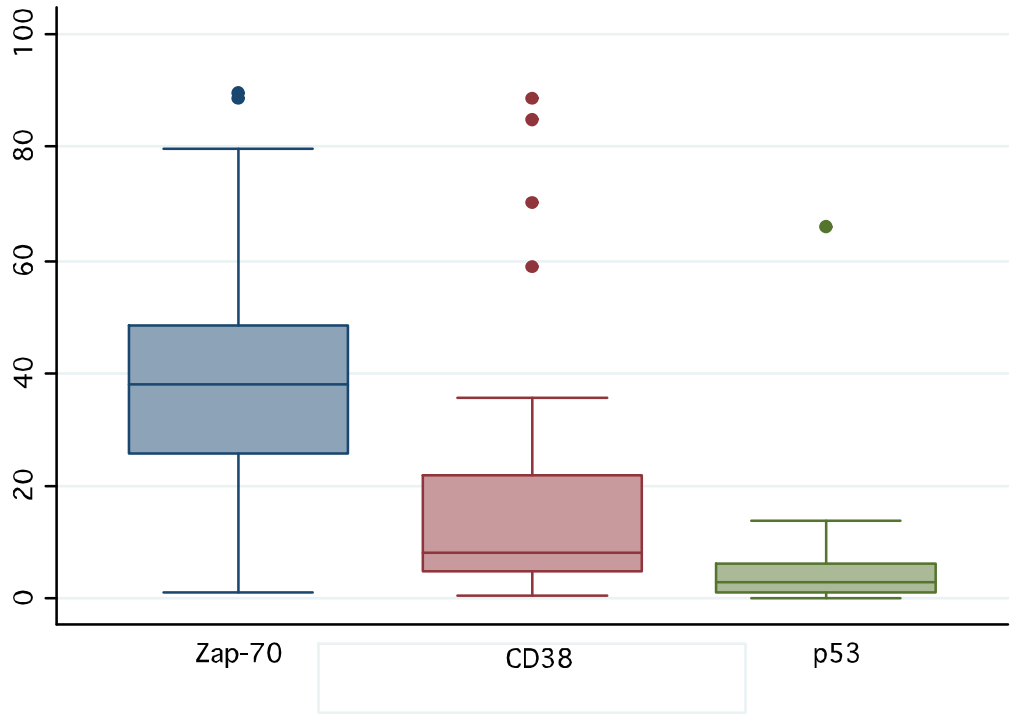


Figura 1. Niveles de proteínas Zap-70, CD38 y p53 en la población de estudio.

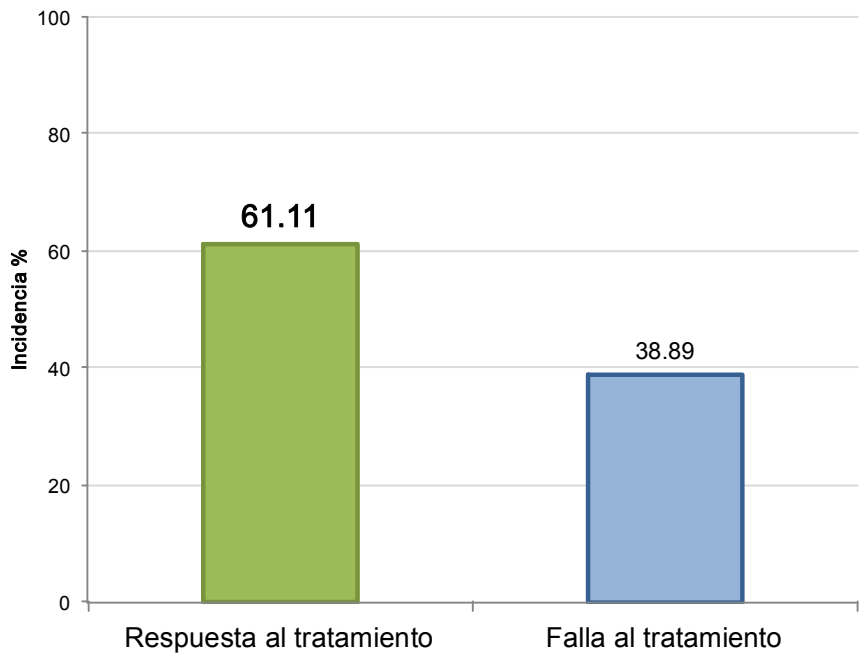


Figura 2. Incidencia de respuesta al tratamiento en la población de estudio.

Tabla 3. Niveles de proteínas, de acuerdo al tipo de respuesta

Proteína	Respuesta al tratamiento (n=22)	Falla al tratamiento (n=14)	<i>P</i>
Zap-70, %	35.35 (21.5, 39.6)	48.6 (30.3, 74.3)	0.038*
CD38, %	6.25 (3.8, 10)	24.3 (13.1, 59)	0.003*
p53, %	2.35 (1.1, 5.7)	4.95 (1.0, 7.5)	0.455

Los datos se presentan como mediana (p25,p75). Valor de P con prueba de U de Mann-Whitney *p<0.05

Tabla 4. Asociación entre los niveles de proteínas y la respuesta al tratamiento

Proteína	RR (IC95%)	<i>P</i>
Zap-70 ≥ 10%	ND	0.389
CD38 ≥ 25%	0.16 (0.02 - 1.05)	0.003*
p53 ≥ 2%	0.98 (0.57 -1.69)	1.000

RR, riesgo relativo; IC95%, intervalo de confianza 95%; ND, no disponible. Valor de P con prueba exacta de Fisher. *p<0.05

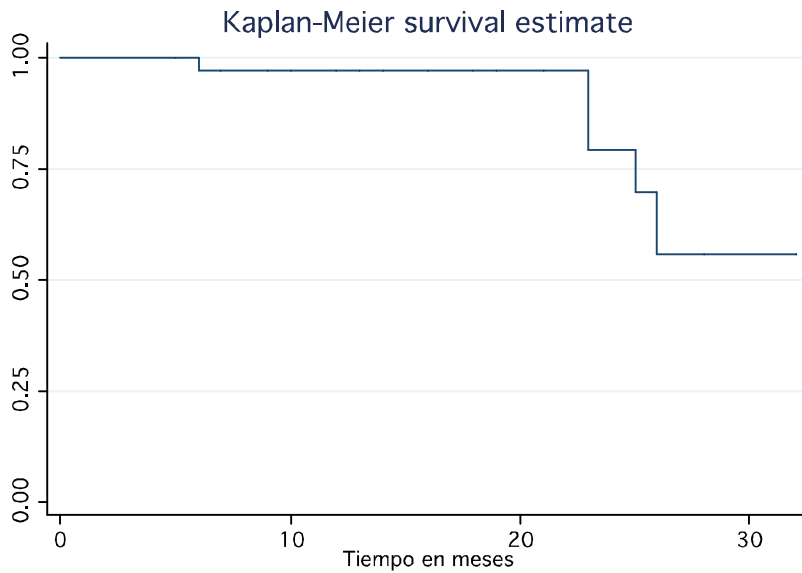


Figura 3. Curva de Kaplan-Meier que muestra la supervivencia de la población de estudio

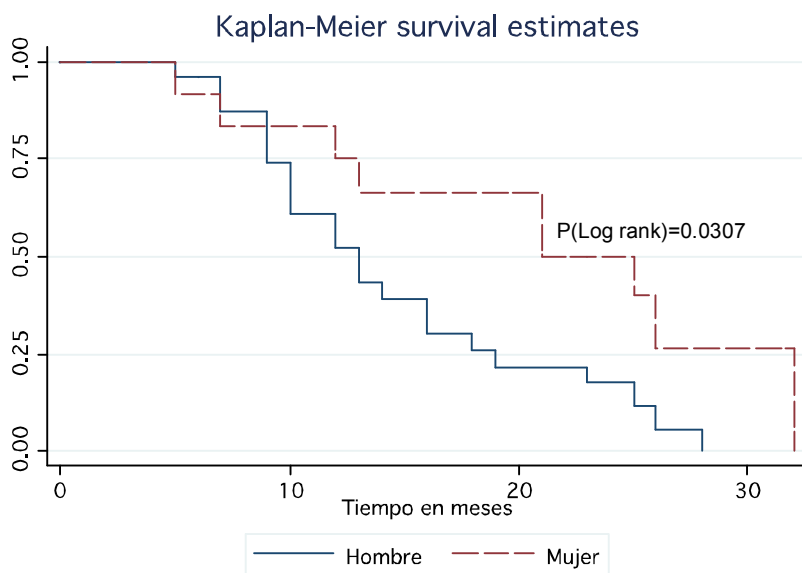


Figura 4. Curva de Kaplan-Meier que muestra la supervivencia de la población de estudio por sexo. La supervivencia fue mayor en las mujeres en comparación con los hombres.

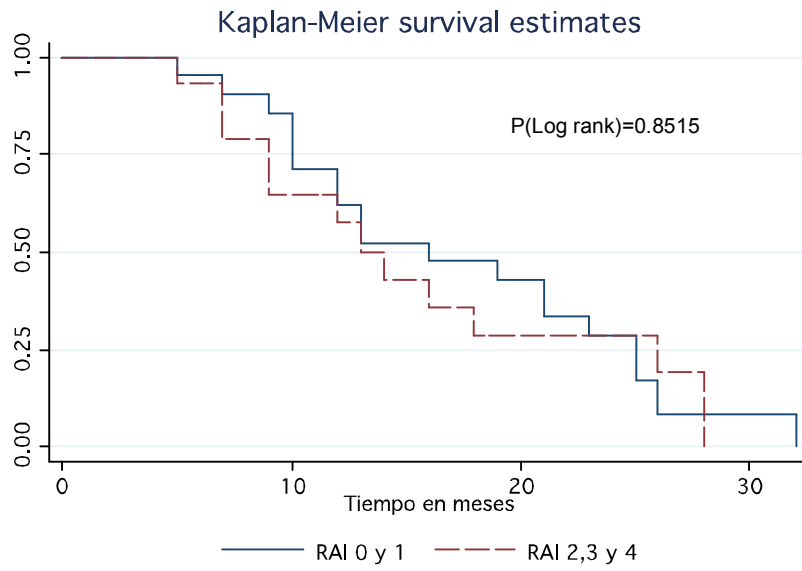


Figura 5 Curva de Kaplan-Meier que muestra la supervivencia de la población de estudio según el estadio RAI.

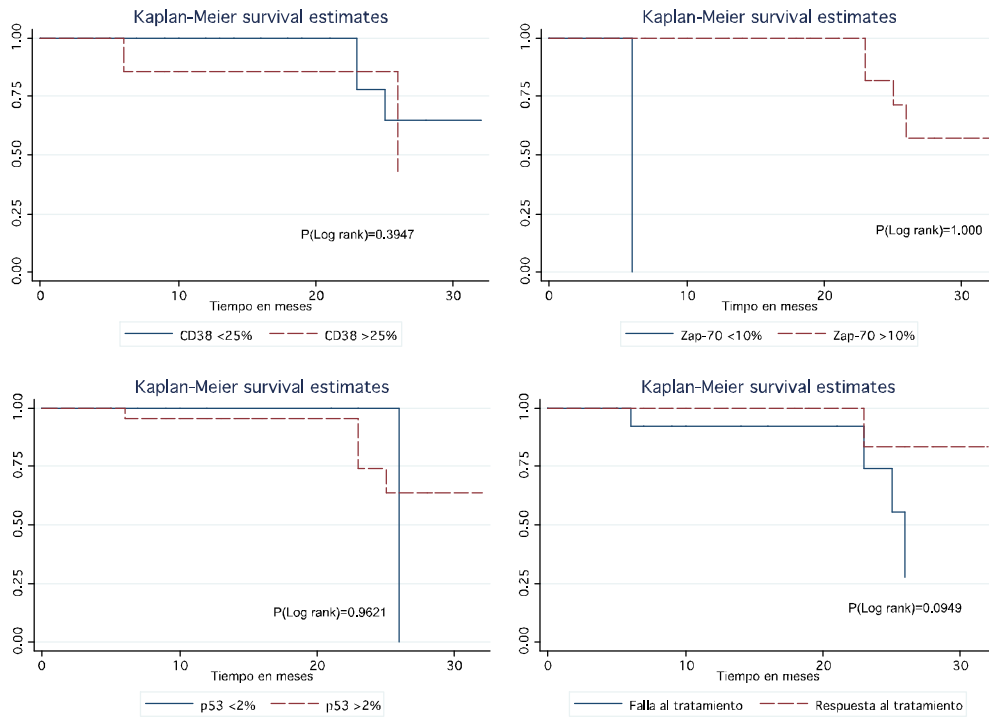


Figura 6. Curvas de Kaplan-Meier que muestra la supervivencia de la población de estudio en función a los niveles de las proteínas CD38, Zap-70 y p53 así como la respuesta al tratamiento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 5. Asociación entre los niveles de proteínas y la supervivencia

Proteína	HR (IC95%)	P
Sexo femenino	0.28 (0.10 - 0.81)	0.018*
Respuesta al tratamiento	0.49 (0.16 - 1.47)	0.205
RAI 0 y 1	0.58 (0.24 - 1.38)	0.223
Zap-70,%	0.98 (0.96 - 1.00)	0.185
CD38,%	1.00 (0.97 - 1.02)	0.945
p53,%	0.95 (0.89 - 1.01)	0.121

HR, Hazard ratio; IC95%, intervalo de confianza 95%. Valor de P con prueba exacta de Fisher. *p<0.05

