



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE ESPECIALIDADES "DR. ANTONIO FRAGA MOURET"

**"Comparación de los niveles séricos de MIC A y MIC B
soluble en pacientes con Linfoma No Hodgkin y donadores
sanos y su asociación con la sobrevida libre de
progresión"**

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIZACIÓN EN
HEMATOLOGÍA

PRESENTA

Dra. Karla Vallejo Luna

ASESOR DE TESIS

Dra. Flor del Carmen Pérez Retiguin



México, Distrito Federal

2014



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Dr. Jesús Arenas Osuna

Jefe de la División de Educación en salud

Dr. Jorge Vela Ojeda

Titular del Curso Universitario

Dra. Flor del Carmen Pérez Retiguin

Asesor de Tesis

Dra. Karla Vallejo Luna

Médico Residente del 4º año de hematología

No. de registro final R- 2014 – 3501-24

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
ANTECEDENTES	6
MATERIAL Y MÉTODOS	11
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA	30
ANEXOS	33

RESUMEN

Título: “Comparación de los niveles séricos de MIC A y MIC B soluble en pacientes con Linfoma No Hodgkin y donadores sanos y su asociación con la sobrevida libre de progresión”

Material y método: Estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y comparativo. Incluimos pacientes Linfoma no Hodgkin (LNH) de novo y un grupo control con previa cuantificación de MICAs y MICBs por ELISA documentada en la base de datos. Su ubicaron en grupos: donadores sanos, LNH con sobrevida libre de progresión a 24 meses (SLP) y LNH con seguimiento para sobrevida global (SG). Se utilizó la prueba t de student y prueba de Levene para homogeneidad de varianzas.

Resultados: Se incluyeron 28 pacientes, con media de edad de 62 años (24 – 82). Se encontraron mayores niveles séricos de MICAs y MICBs en el grupo con LNH comparado con el grupo control ($p=0.003$ y $p= <0.001$). La media de SLP fue de 9.9 meses (2 - 23, $DE\pm 7.9$), obteniendo la media de :MICAs de 47.7 ng/ml (0.2 - 502.79 $DE\pm 129.17$) y MICBs de 13.1ng/ml (9 - 16.6 $DE\pm 2.16$). Para SLP no hubo diferencia en el análisis de los niveles séricos de MICAs y MICBs. (p 0.879, p 0.376). Para SG se obtuvo una media de 22 meses (3-44).

Conclusión: Los pacientes con LNH tienen elevados los niveles séricos de MICAs y MICBs, comparado con donadores sanos. La SLP no se asoció con los niveles séricos de MICA y MICB.

Palabras clave: Linfoma No Hodgkin, MICA soluble (MICAs), MICB soluble (MICBs).

ABSTRACT

Title: Comparison of the sera levels of soluble MICA and MICB in patients with non-Hodgkin lymphoma and healthy donors and their association with the free progression survival.

Material and Methods: Retrospective, observational, descriptive and comparative study. We included patients with de novo non-Hodgkin lymphoma (NHL) and a control group with previous quantification of soluble MICAs and MICBs by ELISA established in data base. We form groups: healthy donors, NHL with progression-free survival (PFS) at 24 months and patients with NHL with follow-up for overall survival (OS). Student's t test and Levene test for homogeneity of variance was used.

Results: We admit 28 patients, with median age 62 (24-82). Higher serum levels of sMICA and sMICB were found in the group with NHL compared with the control group ($p=0.003$, $p= <0.001$). The median PFS was 9.9 months (2-23, $SD\pm 7.9$), we found the mean for sMICA was 47.7 ng/ml (0.2 - 502.79 $SD\pm 129.17$) and to sMICB of 13.1ng/ml (9 - 16.6 $SD\pm 2.16$). PFS was no difference in the analysis of serum levels of sMICA and sMICB ($p 0.879$, $p 0.376$). About OS was obtained a median of 22 months (3-44).

Conclusion: Patients with Non-Hodgkin Lymphoma have elevated serum levels of MICA and MICB compared to healthy donors. The progression-free survival is not affected by serum levels of MICA and MICB

Keywords: Non Hodgkin Lymphoma (LNH), soluble MICA (sMICA), soluble MICB. (sMICB)

ANTECEDENTES.

Se ha visto que los pacientes inmunodeprimidos tienen una mayor incidencia de cáncer (1). En las neoplasias hematológicas la mayoría de los pacientes recaen a causa de resistencia a los tratamientos convencionales, considerando esto, se han realizado varios estudios en los que se ha evaluado el papel que juegan las células del sistema inmune innato en estas enfermedades, ya que se les atribuye función antitumoral y pueden tener un papel importante en la eliminación de células malignas y contribuir en la respuesta que se tiene al tratamiento (2). Las células NK y linfocitos $T\gamma\delta$ son células efectoras del sistema inmune innato capaces de matar células tumorales mientras resguardan las células normales (3).

FACTORES PRONOSTICO EN PACIENTES CON LINFOMA NO HODGKIN

CARACTERISTICAS DERIVADAS DEL TUMOR

- Histología
- Inmunofenotipo
- Alteraciones citogenéticas
- Actividad proliferativa
- Transformación histológica
- Progresión tumoral
 - Resistencia pleiotrópica a drogas MDR-P170
- DHL
- Carga tumoral
- Extensión de la enfermedad
- B2 microbulina
- Características derivadas del paciente:
 - Edad

- Enfermedades concomitantes
- ECOG
- Competencia inmunológica (VIH)
- Características derivadas del tratamiento
 - Experiencia del centro
 - Dosis e intensidad de la dosis

El tipo de respuesta obtenida con tratamiento (completa RC o parcial RP) así como la rapidez en alcanzar la RC (más o menos de 4 ciclos), parecen tener una clara repercusión en el pronóstico de los pacientes, con una mayor expectativa de curación y supervivencia cuando la respuesta es completa y el tiempo en conseguirla es inferior a 4 ciclos (3 ó menos). La duración de la RC tiene así mismo cierto valor, de modo que los pacientes que recaen a partir de los dos años, tienen mayores probabilidades de alcanzar una nueva RC y de sobrevivir más que aquellos que lo hacen antes. Se han tratado de introducir a las características clínicas, marcadores pronóstico como la B2 microglobulina y Ki67%, que ayuden a vislumbrar la posibilidad de una menor sobrevida libre de progresión o una menor sobrevida global. Hasta el momento sólo son parte de índices pronóstico para linfomas en específico: folicular, manto y difusos de células grandes (4).

PAPEL DE LAS CELULAS NATURAL KILLER EN EL SISTEMA INMUNE

Las células Natural Killer (NK) corresponden al 10 al 15% de los linfocitos de la sangre periférica; se caracterizan por dos tipos desde el punto de vista funcional NK CD56^{bright} capacidad inmunorreguladora y NK CD56^{dim} con capacidad citotóxica. Las células NK expresan una gran cantidad de receptores en la superficie celular permitiendo la activación ó inhibición de sus señales.

NKG2D es un receptor de activación del cual se han descrito una gran cantidad de ligandos, siendo las proteínas MIC A y MIC B (major histocompatibility complex

(MHC) class I chain-related) de particular interés. Estas proteínas son moléculas de la superficie celular relacionadas con las proteínas del MCH-I; se expresan en las células durante el stress celular y son sobrerreguladas en las células tumorales y durante las infecciones virales. El receptor NKG2D es una proteína transmembrana tipo II con un dominio similar a lectina tipo C, NKG2D pierde el sitio de unión a calcio y reconoce proteínas más que carbohidratos. Las células NK tienen la habilidad de matar células blanco de forma directa, así como mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) por medio de la unión de receptores transmembrana CD16 (FccRIII) a la porción Fc de la inmunoglobulina IgG. Las células NK son también capaces de matar células tumorales sin necesidad de reconocer antígenos tumorales específicos o con previa sensibilización (5-6).

MIC A Y MIC B

Los genes MIC fueron descritos en 1994 de forma separada por 2 grupos de investigadores. Su función consiste en codificar proteínas que son similares a los productos del gen HLA clase I, las proteínas MIC. Estas moléculas son estructuralmente similares a las proteínas MHC clase I y poseen los dominios a1, a2, y a3, pero a diferencia de estas, no se asocian a la B2-microglobulina ni a péptidos de unión ya que poseen una cavidad muy delgada para la presentación de péptidos a los linfocitos T. (7)

Zhang and Stastny estudiaron la proliferación de los linfocitos T a los antígenos MIC y evaluaron la citotoxicidad mediada por células realizando experimentos en los cuales encontraron que los linfocitos T son activados por las moléculas MIC, y sus resultados demostraron que la respuesta específica de los linfocitos T a MIC no fue mediada totalmente por el receptor NKG2D sino que pareció estar restringida a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Ellos realizaron ensayos de proliferación de linfocitos T en cultivos de control estimulados con MIC A en presencia de anticuerpos anti-MHC clase I, anti-MHC

clase II y anti-NKG2D y observaron que al bloquear el receptor NKG2D con un anticuerpo específico no causó inhibición de la respuesta de los linfocitos T CD4+ y solo observaron un ligero descenso en la proliferación de los linfocitos T CD8+; al bloquear las moléculas MHC clase I causó un leve descenso de la proliferación de los linfocitos T CD8+ de 1.8 a 0.% y al bloquear las moléculas del MHC clase II hubo una inhibición muy marcada de la proliferación de los linfocitos T CD4+ de un 30.9% a un 2%. Encontraron también que hubo una respuesta tanto de linfocitos T CD3+ con marcado predominio de linfocitos T CD4+ como de linfocitos B CD19+ sugiriendo que hubo una respuesta al estímulo con MICA y que por otro lado en los ratones la respuesta a MIC parece estar restringida más que al receptor de NKG2D a las moléculas MHC (8).

Las proteínas MIC A y MIC B son ligandos de activación para el receptor NKG2D junto con las proteínas de unión UL (ULBP1-3, ULBP4/RAET1E y RAET1G) en las células NK, células T CD8 y células T $\gamma\delta$ (9-10). Los genes se localizan dentro del complejo genético del MHC. Hay 51 alelos humanos reconocidos.

La expresión de las proteínas MIC está confinada a células del epitelio gastrointestinal, células endoteliales y fibroblastos. Existe una baja expresión en células epiteliales quiescentes, sin embargo se observa una mayor expresión en células con rápida proliferación. La expresión es sobrerregulada en varias células transformadas, particularmente aquellas de origen epitelial. Las regiones del control transcripcional de los genes MIC A Y MIC B contienen secuencias que son altamente homólogas a los genes que codifican las proteínas de choque térmico HSP70. La expresión de las proteínas MIC puede ser también sobrerregulada bajo condiciones de "stress" tales como choque térmico e infección viral. La infección de los fibroblastos con citomegalovirus (CMV) resultó en una pronunciada contrarregulación de las proteínas MHC clase I con simultánea sobrerregulación de las proteínas MIC (11).

La relación de MIC A con el cáncer ha sido de considerable interés, ya que muchos tumores parecen expresarla en su superficie lo cual podría favorecer la

respuesta inmune innata por estimulación de las células NK y la participación de los linfocitos T. Adicionalmente se ha encontrado que muchos tumores liberan MICA soluble y se ha reportado que esta proteína soluble inhibe la estimulación mediada por el receptor NKG2D. Steinle y colaboradores analizaron la liberación de la molécula MICB de las células tumorales y encontraron que MICB soluble puede también ser detectado en el suero de pacientes con cáncer (7)

PAPEL DE LOS LINFOCITOS T CITOTOXICOS EN LA RESPUESTA INMUNE CONTRA EL CANCER

Las células NK y linfocitos T $\gamma\delta$ son células efectoras del sistema inmune innato que son capaces de matar células anormales mientras resguardan las células normales. Las neoplasias hematológicas son enfermedades severas en las cuales la mayoría de los pacientes recaen a causa de resistencia a los tratamientos convencionales. Recientemente se han realizado varios estudios en los que se ha evaluado el papel que juegan estas células el sistema inmune innato en estas enfermedades ya que se les atribuye función antitumoral y pueden tener un papel importante en la eliminación de células malignas y contribuir en la respuesta que se tiene al tratamiento (5,6,12)

LINFOCITOS T $\gamma\delta$ EN LA RESPUESTA ANTITUMORAL

Los linfocitos T V δ 1, constituyen aproximadamente el 5% del total de los linfocitos T y se les atribuye efecto antitumoral. Fueron encontrados MICA y MICB en alta proporción en de tumores epiteliales de pulmón, mama, riñones, ovario, próstata y colon que expresaron antígenos inducidos por stress (13,14). Estos linfocitos fueron capaces de destruir células tumorales epiteliales de líneas celulares. Esta lisis fue inhibida por el uso de anticuerpos monoclonales contra MIC A/B, por lo tanto estos estudios muestran que tanto los subtipos de linfocitos T V γ 9V δ 2 y T

V δ 1 juegan un importante papel en la sobrevivencia inmunológica de las células tumorales (15).

En relación a las neoplasias hematológicas se ha demostrado que los linfocitos T V γ 9V δ 2 son capaces de matar *in vitro* líneas celulares de mieloma y linfoma. (16-18)

PAPEL DE MIC A/MIC B, CÉLULAS NK, NKT Y LINFOCITOS T GAMMA DELTA EN LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Se ha encontrado una contrarregulación en la expresión del receptor NKG2D en células de leucemia mieloide crónica, mieloma múltiple y síndrome mielodisplásico (5). Y a demás se ha encontrado una expresión negativa de éstas células en células de leucemia linfocítica crónica y leucemia linfoblástica aguda, sin reportarse datos en pacientes con linfoma.

Algunos estudios demuestran una expresión positiva de MICA/MICB en células de mieloma múltiple, leucemia mieloide crónica y en el 30% de los pacientes con síndrome mielodisplásico (17, 21-22)

En un estudio preliminar en este hospital realizado Pérez Retiguin FC, se encontraron niveles elevados de MICA y MICB solubles en el suero de 59 pacientes con todos los tipos de linfoma en los pacientes la mediana de edad fue de 51 años (18 a 82 años), 26 de género femenino (44%) y 33 de género masculino (56%). De estas muestras el 70% (n=44) fueron de pacientes con Linfoma No Hodgkin. Se obtuvo una media de los niveles séricos de MICA soluble de 86,001 pg/ml DE \pm 150,917ng/dl, para MICB de 10, 550 pg/ml DE \pm 1,891 pg/ml. Se encontraron niveles séricos elevados de MICA y MICB solubles al comparar con donadores sanos (p=0-0001, p=0.0003), concluyendo que existen niveles elevados de MIC A y MICB, así como niveles disminuidos de células NK y linfocitos T γ δ circulantes. (23)

MATERIAL Y METODO:

Este trabajo se realizó como un estudio de casos y controles, retrospectivo, observacional, descriptivo y comparativo. Llevado a cabo en el departamento de Hematología, en la clínica de linfomas y en el archivo de Laboratorio de Hematología Especial del Hospital de Especialidades U.M.A.E. “Dr. Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza.

Se incluyeron pacientes mayores de 16 años de edad, ambos géneros, con diagnóstico mediante reporte histopatológico e inmunohistoquímica de Linfoma No Hodgkin, sin recibir tratamiento que tuvieran panel viral negativo para virus de la hepatitis B, C, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y serología negativa para Citomegalovirus (CMV).

Se excluyeron pacientes que hubiesen recibido tratamiento quimioterapéutico previo a la toma de la muestra de sangre. Y también se excluyeron tanto pacientes o potenciales donadores que tuvieran enfermedades infecciosas de tipo bacteriana o viral, enfermedades autoinmunes o serología positiva para CMV, VIH, VHC y VHB.

Se retomaron los niveles séricos de MICA y MICB solubles, previamente cuantificados con el método de ELISA, en el estudio del perfil inmunológico realizado en este Hospital en 59 pacientes con diagnóstico de linfoma, 45 de ellos se clasificaron como Linfoma No Hodgkin y se tuvieron que excluir 17 pacientes por no cumplir estrictamente con los criterios de inclusión.

En total se incluyeron 28 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión teniendo la cuantificación de los niveles séricos de MICA y MICB solubles en suero de pacientes con diagnóstico únicamente de Linfoma No Hodgkin de novo y se incluyeron 20 donadores sanos provenientes de Banco central del CMN La Raza. Se utilizó la base de datos con muestras que se tomaron a partir marzo 2010 - febrero 2012, en nanogramos/ml lo que es igual a 1000 picogramos/ml.

Se obtuvieron del expediente clínico o electrónico: las características demográficas: edad y género. Así como las características clínicas: síntomas B al diagnóstico, estadio clínico, tumor voluminoso, infiltración extraganglionar. Además de datos de laboratorio al momento del diagnóstico: cuenta de leucocitos, linfocitos y niveles séricos de DHL. Para establecer los meses de sobrevida libre de progresión y sobrevida global se obtuvieron las: fechas de diagnóstico, fecha de remisión completa y la fecha de recaída o de progresión en caso de haberse presentado, de cada paciente de acuerdo con hoja de recolección de datos (ver anexo).

Se analizaron los resultados en estudio de casos y controles, se ubicaron en tres grupos: Donadores sanos, Pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin con primera recaída a 24 meses y pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin sin fallecer hasta el cierre del estudio, definiéndose como sobrevida global. En cada grupo se analizaron los niveles séricos de MICA y MICB solubles.

A las variables edad y peso se les realizó un análisis descriptivo consistente en obtener la media, desviación estándar o típica y los valores máximo y mínimo. Las gráficas obtenidas para las variables cuantitativas en estudio fueron las denominadas de caja.

A las variables género, estadio clínico, tumor voluminoso, infiltración extraganglionar, se les obtuvo su distribución por frecuencia absoluta y relativa medida ésta como proporción. Para las variables MIC A y MIC B este estudio es de casos y controles: por cada paciente con linfoma no Hodgkin se compararon con un grupo de pacientes sanos. Para detectar si existe una diferencia entre las medias de estas variables en ambos grupos de casos y controles, entre tipo de linfoma y recaída a los dos años se utilizó la prueba t de Student y la prueba de Levene para homogeneidad de varianzas.

Cada uno de estos análisis mencionados se complementó con la prueba no paramétrica de igualdad de medianas para dos grupos de Wilcoxon.

Para el procesamiento de la información se elaboró una base de datos en Excel, de Microsoft, y el análisis estadístico se realizó con el paquete computacional Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 21.

RESULTADOS:

Se obtuvieron de 28 pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin (LNH) con confirmación por inmunohistoquímica los resultados del estudio derivado de la muestra basal obtenida de febrero 2011 a febrero 2012, de acuerdo a las características de la población se encontró una media de edad de 62 años \pm 13.8 (mínima 24 – máxima 82). De acuerdo a género, manteniendo una proporción de 53.5% hombres y el 46.5% mujeres.

Dentro del grupo de donadores sanos se obtuvo una media de edad de 42 años. (mínima 28- máxima 57), En total 20 donadores, con una proporción de género de 65% de género masculino y 35% femenino. Al comparar la población de pacientes con LNH con la de donadores sanos en cuanto a características de edad y género no se encontró diferencia para igualdad de medias (P 1.43)

Se clasificaron a los pacientes de acuerdo al grupo internacional para el estudio de los linfomas: con diagnóstico de LNH agresivo n= 21 (75%) e indolentes n=7 (25%). El 71.5% con estadio clínico calculado al diagnóstico III o IV de Ann Arbor. Gráfico 1 y 2.

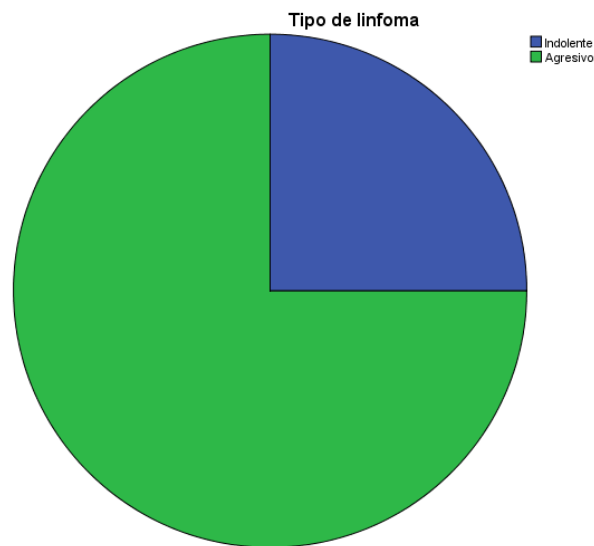


GRAFICO 1:
Tipo de Linfoma No Hodgkin

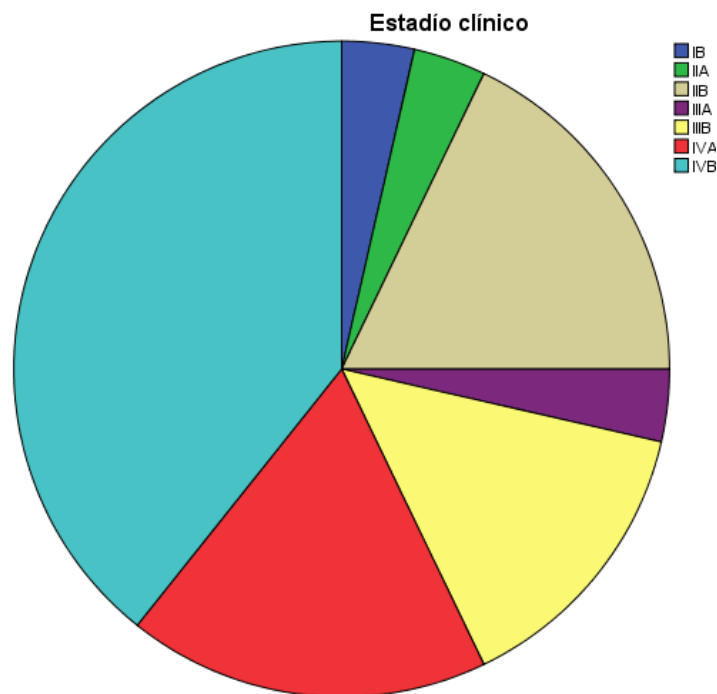


GRAFICO 2:
Estado clínico al diagnóstico.

Se documentó en los pacientes con LNH una media para MICA de 75.59 ng/ml (mínimo 0.001- máximo 502.79 DE \pm 151.78), y para MICB de 12.86 ng/ml (mínimo 8 – máximo 16.6 DE \pm 2.08).

Para el grupo de donadores sanos, se documentó una media para MICA de 9.3 ng/ml (mínimo 0 – máximo 153.21 DE \pm 34.36) y MICB de 10.5 pg/ml (mínimo 0 – máximo 14.5 DE \pm 1.89).

Se aplicó la prueba de t de student y la prueba de Lavene para homogeneidad de varianzas encontrando que existe diferencia significativa entre la media de MICA soluble de los pacientes con LNH y donadores sanos ($p= 0.03$); así como entre la media de MICB soluble de pacientes con LNH y donadores sanos ($p= <0.001$).

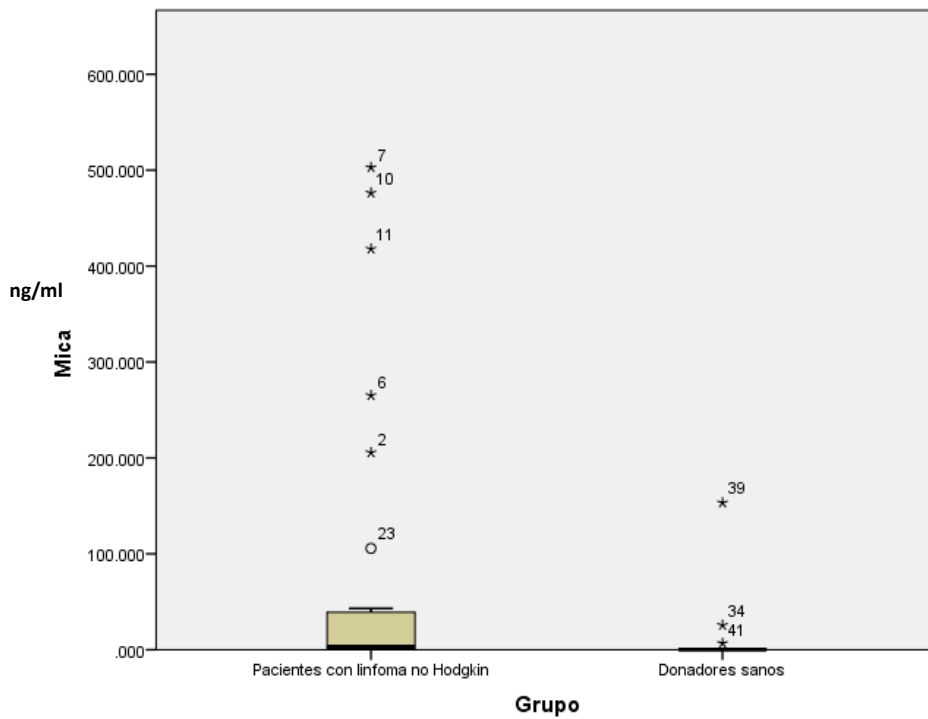


GRAFICO 3:
MICA en pacientes con LNH y en donadores sanos.

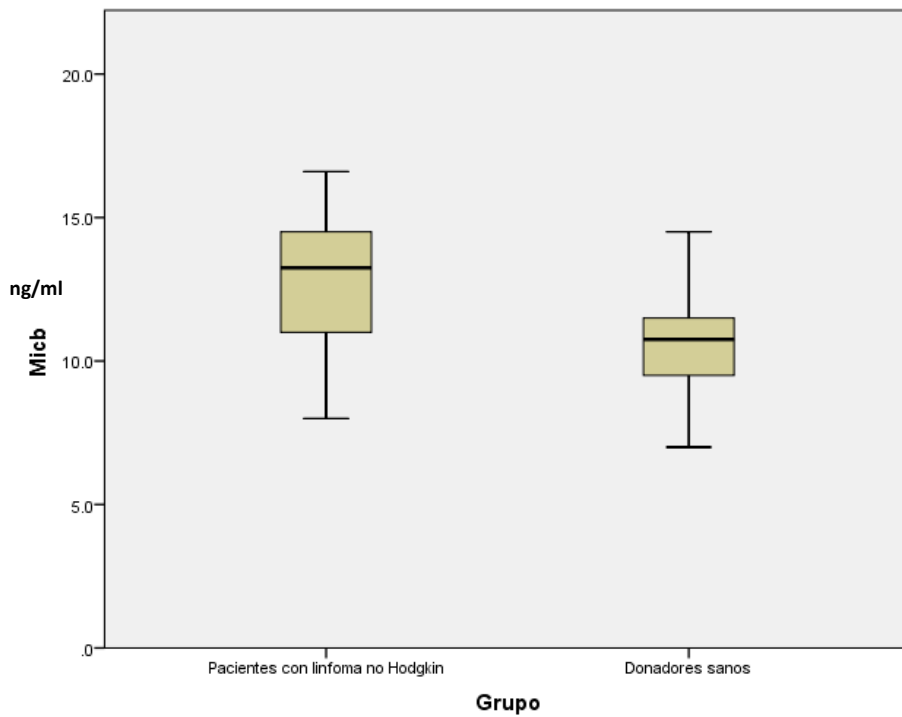


GRAFICO 4:
MICB en pacientes con LNH y en donadores sanos.

En pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin una cuarta parte debutó con tumor voluminoso y el 50% refirió síntomas B. En la mitad se halló infiltración extraganglionar y el 17% tuvo DHL mayor a la referencia en el momento del diagnóstico. Gráfico 5.

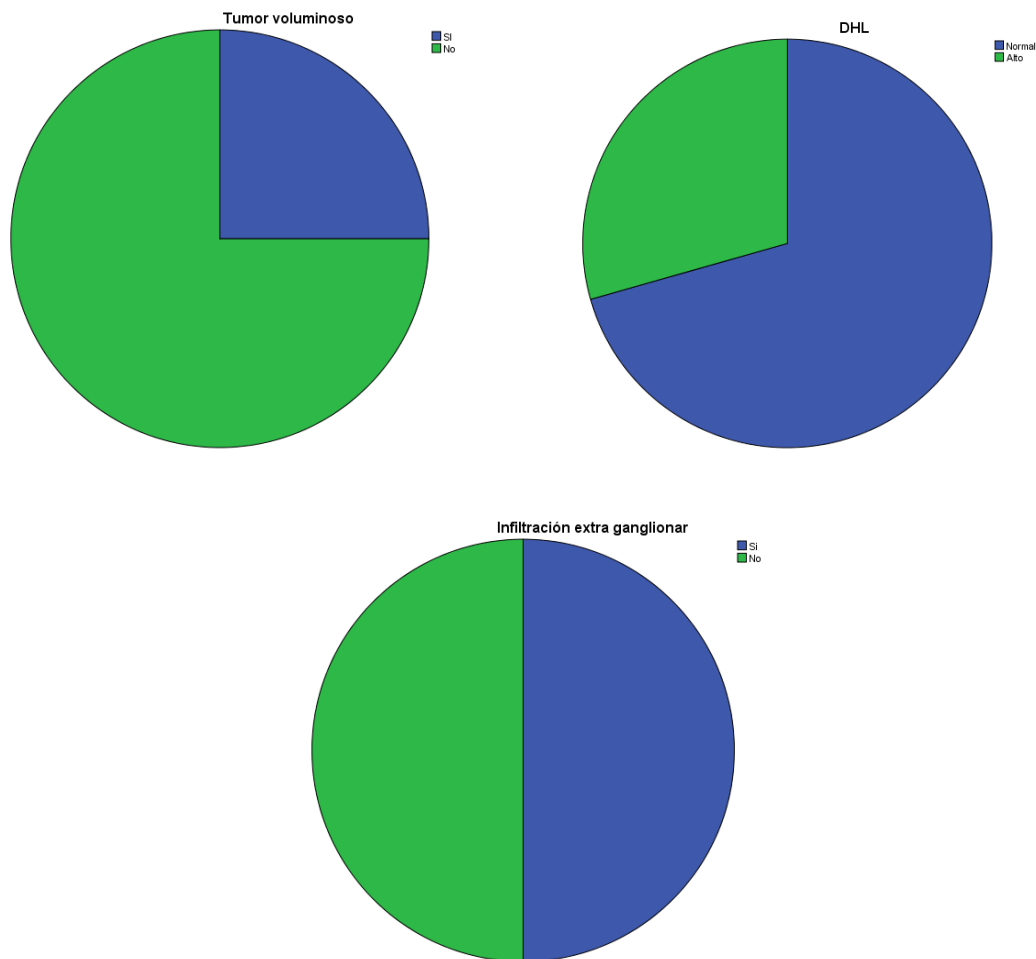


GRAFICO 5: Distribución al diagnóstico.
 Esquina superior derecha: Tumor voluminoso
 Esquina superior izquierda: Niveles séricos de Deshidrogenasa Láctica
 Centro: Presencia de infiltración extraganglionar.

De acuerdo con el tipo de Linfoma No Hodgkin agresivo e indolente se analizó la relación entre los niveles de MICA y MIB solubles con cada uno, encontrándose que para los LNH indolentes se ubicó una media de MICA de 214.82 ng /ml (DE ± 212.82) y una media de MICB de 13.77 ng/ml (DE± 0.89).

Siendo menores las medias para los linfomas agresivos con una cuantificación de MICA de 29.1 ng/ml (DE ± 29.18) y para MIC B de 12.5 ng/dl (DE± 2.29). Se aplico la prueba de Levene con un valor de P de 0.002 y p 0.16 para MICA y MICB respectivamente. Mediante la prueba T student para igualdad de medias se encontró diferencia significativa con p 0.003 únicamente para el linfoma indolente y los niveles de MICA solubles. No se encontró diferencia significativa entre el tipo de linfoma agresivo y los niveles de MICA (p 0.61) o de MICB (p 0.57). Gráfico 6 y 7.

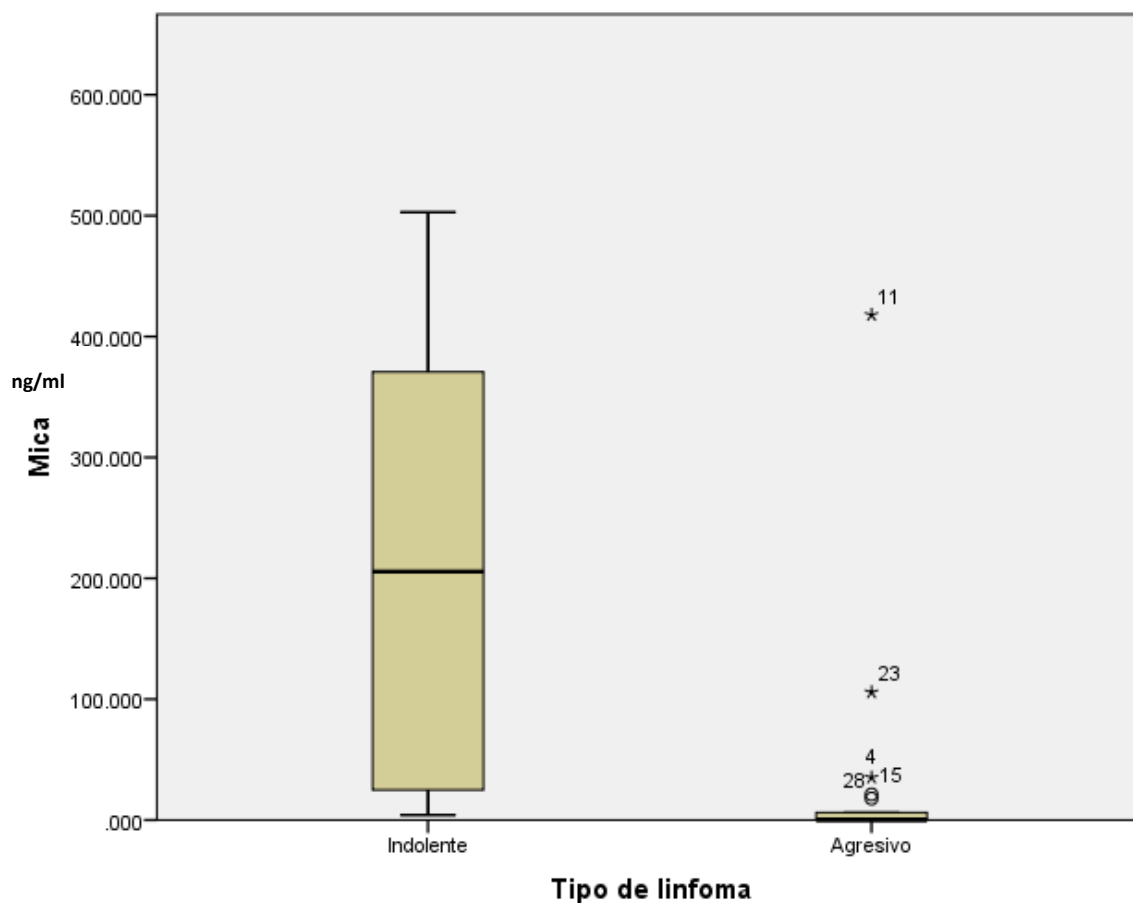


GRAFICO 6:
Niveles séricos de MICA solubles en pacientes con Linfoma No Hodgkin indolente y agresivo

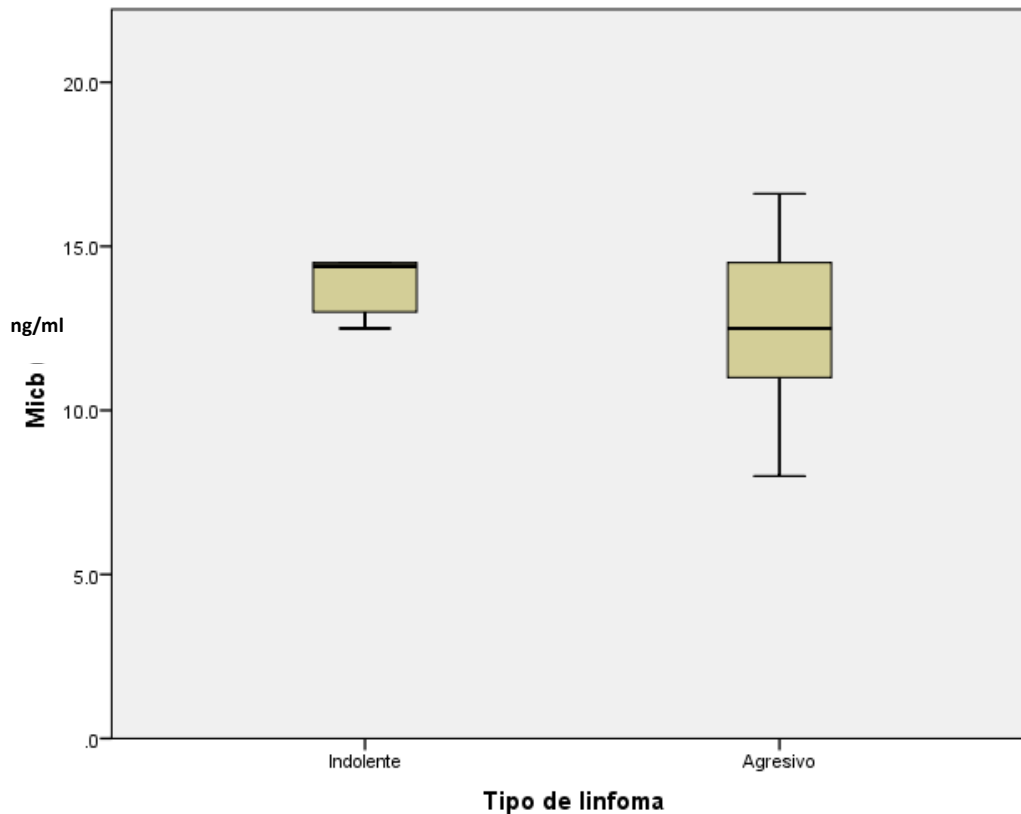


GRAFICO 7:
Niveles séricos de MICB soluble en pacientes con Linfoma No Hodgkin indolente y agresivo

De acuerdo con el estadio clínico, se encontró que los niveles séricos de MICA estaban elevados en pacientes con estadio clínico IIB representando el 17.9% de la población de estudio, con una media de 187.86 ng/ml (mínimo 0.013, máximo 502.79 DE ± 250.61). Respecto a los niveles en suero de MICB y el estadio clínico de los pacientes con LNH, se encontró que en la prueba de medianas de muestras independientes, no existe diferencias entre grupos, con un valor de .166. Gráfico 8 y 9.

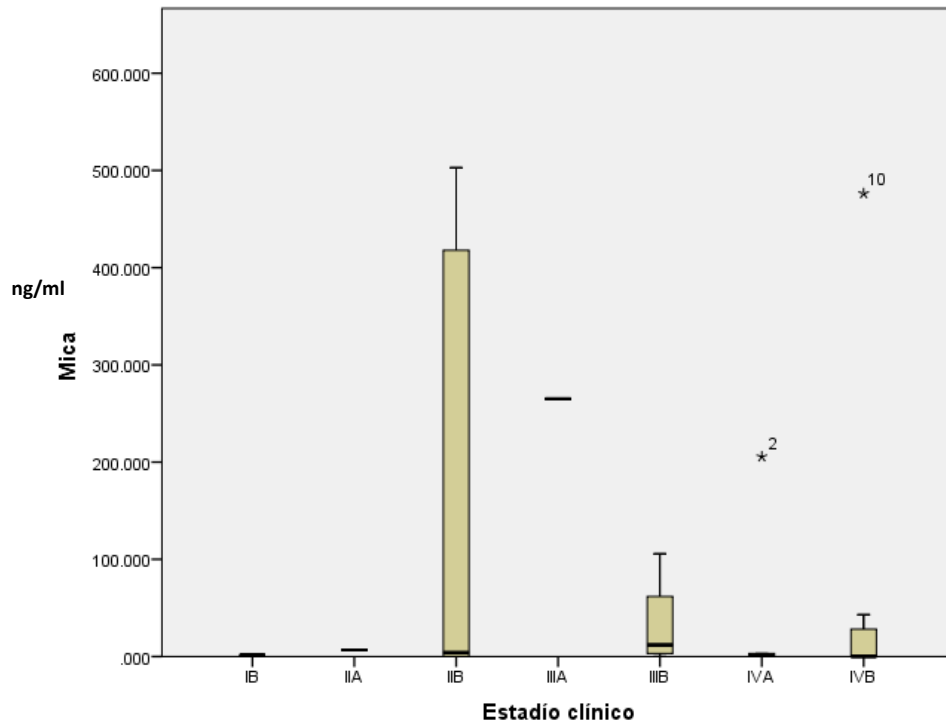


GRAFICO 8: Niveles séricos de MICA soluble y el estadio clínico de los pacientes con Linfoma No Hodgkin.

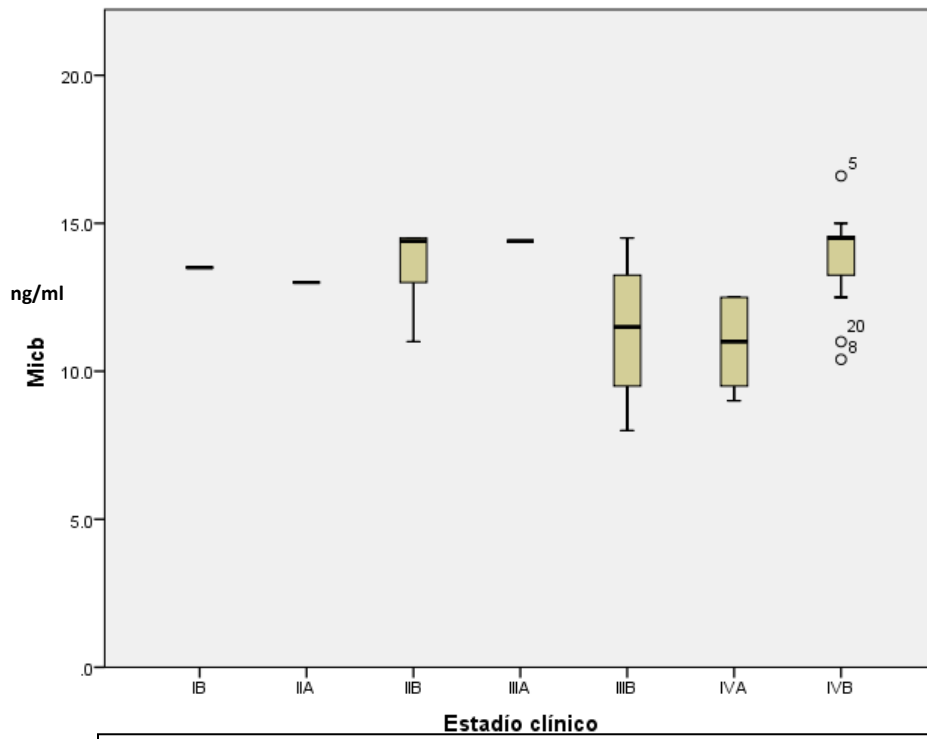


GRAFICO 9: Niveles séricos de MICB soluble y el estadio clínico de los pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Del grupo de pacientes con Linfoma No Hodgkin, 19 pacientes lograron primera remisión completa a los 4 meses posteriores a quimioterapia de primera línea, sumándose 2 pacientes que tuvieron falla, pero lograron remisión completa con segunda línea de tratamiento. Se documentó primera recaída en el 27.5% de los pacientes en un lapso de 6 meses (1-12 meses) y en el 6.8% de los que lograron una segunda remisión completa, presentaron una segunda recaída a los 9 meses.

De los pacientes que lograron remisión completa tuvieron una media de 26.8 ng/ml de MICA y 12.7 ng/ml de MICB soluble. El resto de los pacientes que no lograron remisión completa se obtuvo una media de 178.56 ng/ml (mínima 0.002, máximo de 502 ng/ml DE ± 226.27 IC 95% 4.52 - 362.49). GRAFICO 10 y 11.

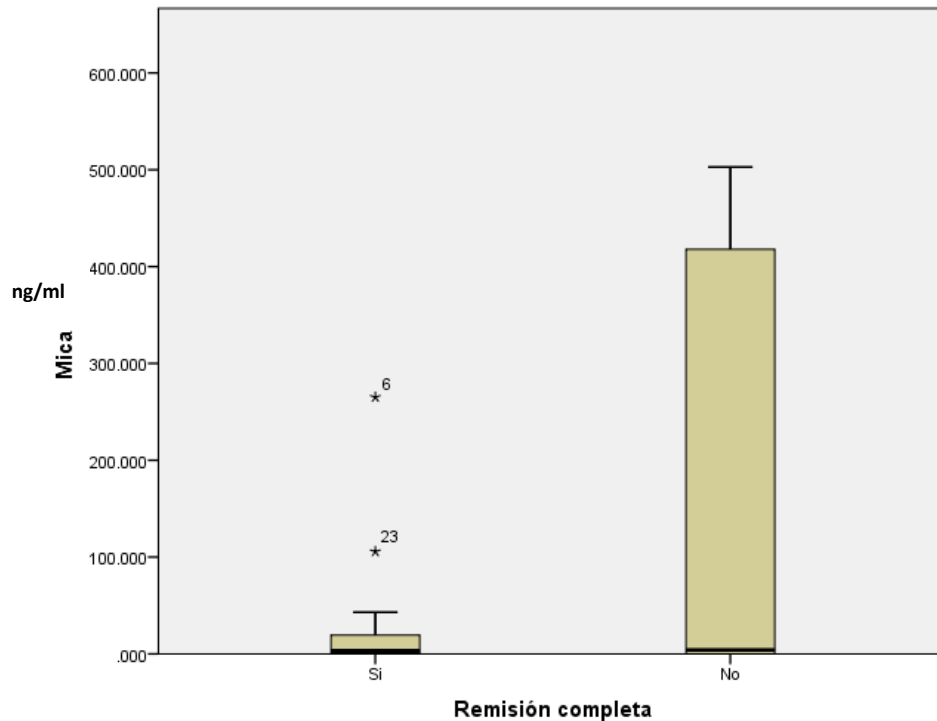


GRAFICO 10:
Niveles de MICA y la obtención de primera remisión completa.

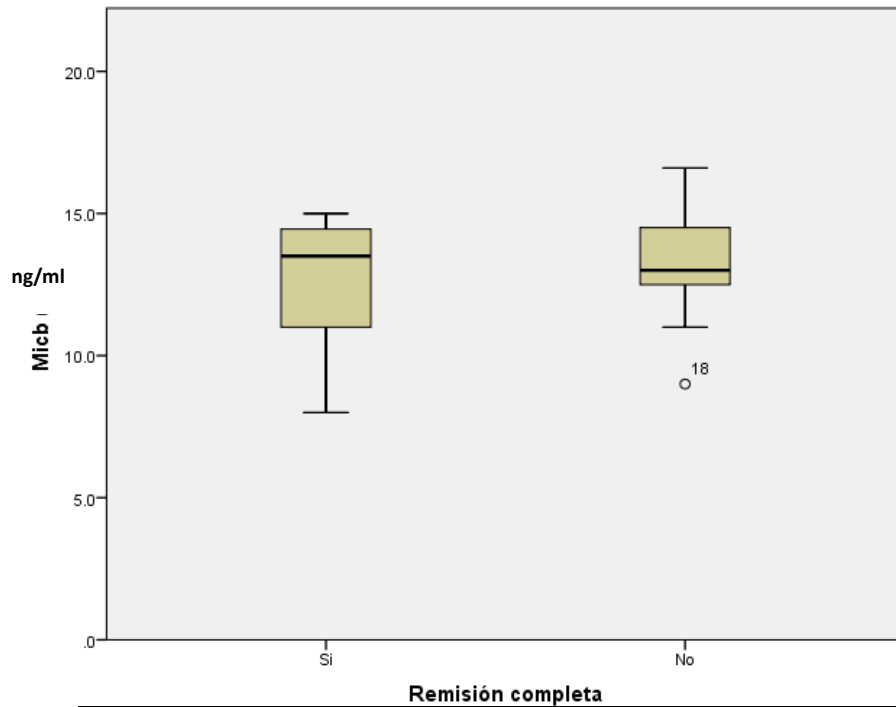


GRAFICO 11:
Niveles séricos de MICB soluble y la obtención de primera remisión completa.

Se observó la presentación de recaída en el grupo de pacientes con seguimiento a 24 meses, obteniendo que el 46.4% de los pacientes con LNH tuvieron su primera recaída con una media de 9.9 meses (mínima 2 - máxima 23, DE±7.9). GRAFICO 12.

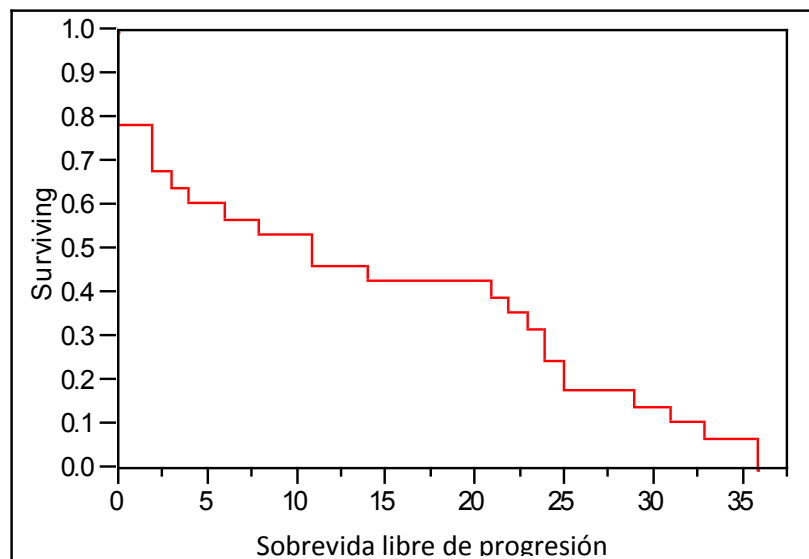


GRAFICO 12: Curva de Kaplan-Meier para Sobrevida Libre de Progresión en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Se analizaron los niveles de MICA y MICB solubles en suero, teniendo una media el grupo que recayó a 24 meses de MICA 47.7 ng/ml (mínima 0.2 - máxima 502.79 DE± 129.17) y de MICB una media de 13.1ng/ml (mínima 9 - máxima 16.6 DE ± 2.16). Se utilizó la prueba de Levene para la igualdad de varianzas encontrando igualdad y ausencia de significancia entre la presentación de recaída a 24 meses y los niveles séricos de MICA con p 0.879, ni para MICB con p 0.376. GRAFICO 13 y 14.

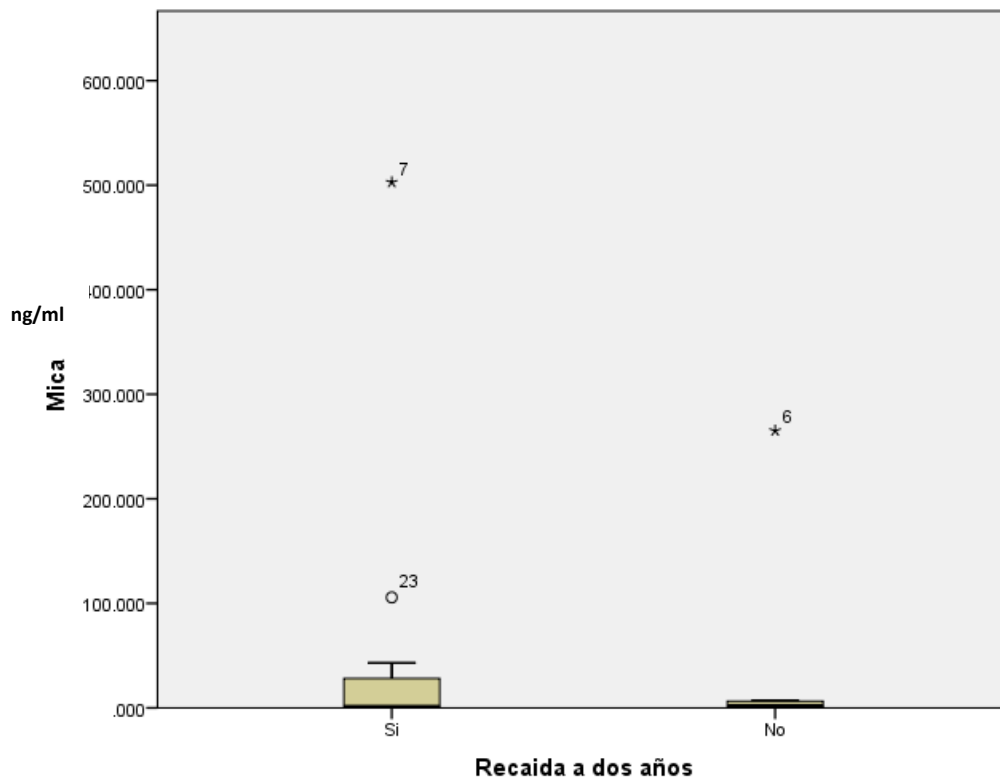


GRAFICO 13:
Niveles séricos de MICA y la presentación de recaída a 2 años (24 meses).

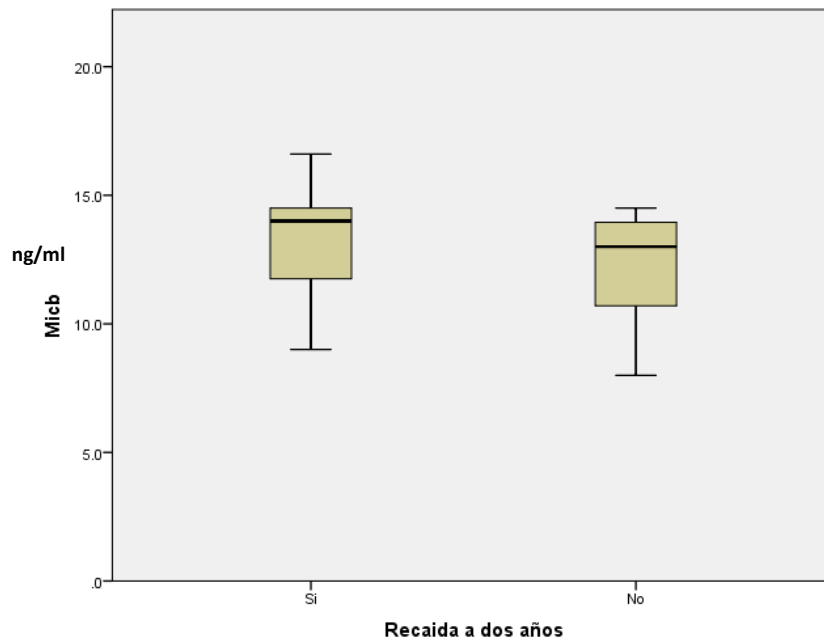


GRAFICO 14:
Niveles séricos de MICB y la presentación de recaída a 2 años (24 meses).

Se encontró por medio del seguimiento de la sobrevida libre de progresión durante 24 meses, que 12 pacientes que lograron mantenerse en remisión completa sin recaídas. Se analizaron los niveles séricos de MICA soluble con una media de 34.85 ng/ml (mínima 0.002 - máxima 265.17 DE ± 78.28) y para MICB soluble una media de 11.79 ng/dl (mínima 8 - máxima 14.4 DE ± 2.26).

La sobrevida global se evaluó hasta el cierre del estudio el 25 de febrero 2014, obteniendo una media de 22 meses (3-44), teniendo una media de niveles séricos de MICA de 70.53 ng/dl (mínimo 0.002 - 502.79 DE ± 141.4) y MICB con una media de 12.6 ng/dl (mínimo 8 - máximo 16.6. DE ± 2.19). Curva de Kaplan-Meier. GRAFICO 15.

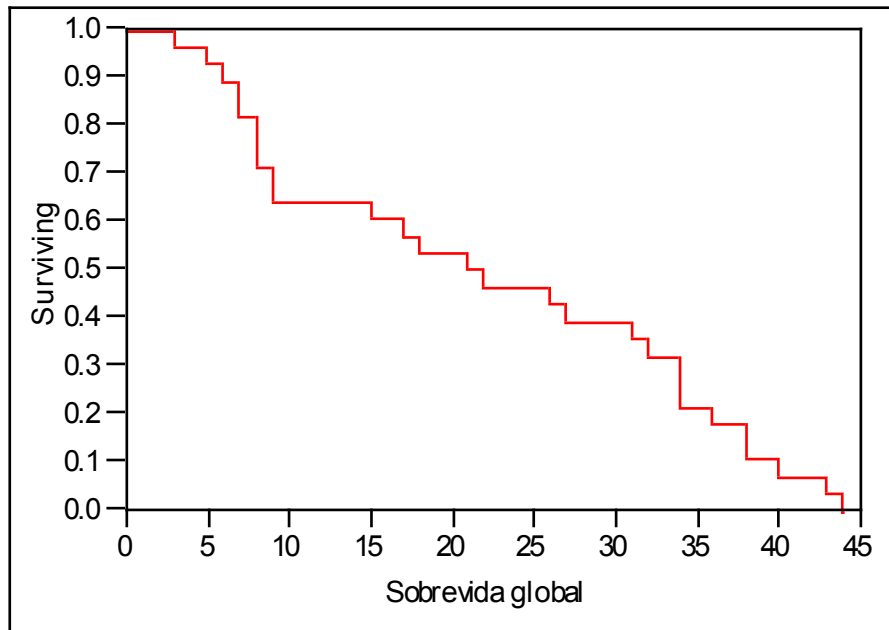


GRAFICO 15: Curva de Kaplan-Meier para Sobrevida Global en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Hubo cinco defunciones, de ellos se documentó una sobrevida global de 9.4 meses. Cuatro con diagnóstico de LNH agresivo y uno indolente con transformación a LNH difuso de células grandes, refractario secundario. Uno de ellos falleció un mes después de lograr remisión completa, debido a complicaciones infecciosas durante la mielosupresión del esquema de quimioterapia de tercera línea y cuatro de ellos por progresión de la enfermedad. Se analizaron los niveles séricos en pacientes con defunción durante el seguimiento del estudio, obteniendo MICA soluble una media de 98.8 ng/ml (0.002-476 DE \pm 211.11) y para MICB soluble una media de 13.72 ng/ml (12-15 DE \pm 1.36).

DISCUSION:

De acuerdo a lo escrito en la literatura nuestra población de estudio de pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin se comporta de forma similar con las características de edad y género con una media de edad de 62 años y el predominio del género masculino 3:2, encontrando una menor diferencia en este estudio.

En cuanto a la distribución del tipo de Linfoma No Hodgkin se adjudican hasta el 50% de ellos a linfomas agresivos y el 40% a linfomas indolentes de acuerdo a la clasificación del grupo internacional para el estudio de Linfomas; encontrándose diferente al tener el 75% de linfomas agresivos y el 25 % de linfomas indolentes.

En el 2006 Holdenrieder y cols., realizaron un estudio en 512 personas, midiendo los niveles séricos de MICA soluble con método de ELISA; 62 eran individuos sanos y 296 tenían cáncer colorectal, gastrointestinal, de mama, ovario, pulmón, renal y próstata. Comprobaron una diferencia significativa entre los niveles de MICA soluble en el suero de los pacientes con neoplasia y los catalogados como sanos ($p < 0.001$). Encontrando en los pacientes con cáncer no benigno, niveles séricos de MICA de 30 hasta 1557 pg/ml con percentila 95 de 550 pg/ml. En este estudio de casos y controles se retoman los niveles séricos no sólo de MICA, sino también los de MICB previamente cuantificados por método de ELISA en pacientes con Linfoma No Hodgkin, se compararon con los niveles séricos de MICA y MICB solubles de donadores sanos.

Tal como en el estudio de Holdenrieder se encontró diferencia significativa de los niveles séricos de MICA y MICB solubles entre los donadores sanos y los pacientes con LNH. Teniendo niveles significativamente mayores de MICA en LNH que los hallados otros tipos de cáncer como el máximo de 1557 pg/dl citado en neoplasias de colon-y recto, siendo nuestra máxima determinación 502, 791 pg/dl o bien 502.791 ng/dl, utilizando esta escala para facilidad del análisis.

Destaca la realización de este estudio ya que no existe previa asociación de la determinación de MICA o MICB solubles en pacientes con linfoma. A pesar que la muestra de pacientes se redujo de 45 pacientes con linfoma No Hodgkin a 28 por no cumplir estrictamente los criterios de inclusión.

Ya con el conocimiento de la existencia de MICA y MICB solubles se analizó su asociación con la sobrevida libre de progresión a dos años como mínimo seguimiento, evidenciando del grupo de LNH que presentaron progresión de la enfermedad tuvieron cuantificaciones de MICA y MICB solubles que resultaron estadísticamente no significativas.

En cuanto al estadio clínico (EC), se observó que las mayores cuantificaciones de MICA se encontraban en los pacientes en EC IIB, sólo representando al 17.9% la población ya que tres cuartas partes pertenecían a EC IIIA, IIIB, IVA o IVB. Esto pudiera ser de valor al detectar niveles séricos en pacientes que no se encuentren en estadios avanzados al momento del diagnóstico.

De los pacientes que conservaron la respuesta completa se obtuvieron niveles menores que en los pacientes que presentaron una primera recaída en el lapso de dos años. Requiriendo establecerse esta diferencia con

Se encontró diferencia significativa entre los niveles séricos de MICA soluble los pacientes con Linfoma No Hodgkin indolente y agresivo, siendo evidentemente mayores en los primeros. Los linfomas indolentes se han descrito como neoplasias de mayor sobrevida global, con menor tasa de replicación, pero con mayor número de recaídas durante su evolución, hasta la quimioresistencia.

Se requieren estudios con mayor número de pacientes con linfoma indolente para poder comprobar estos resultados, así como seguimiento a mayor número de años, debido a la sobrevida global que tienen en particular estos pacientes.

CONCLUSIONES:

Como parte de la búsqueda de factores pronóstico: generales, factibles y orientadores de la evolución del paciente con Linfoma No Hodgkin, los biomarcadores parecen tener un lugar en la evaluación inicial de estos pacientes.

Se tiene el conocimiento de que existen niveles séricos elevados de MICA y MICB solubles en pacientes con LNH y que estos son mayores a los encontrados en donadores sanos.

Es posible que tenga mayor significancia pronostica los niveles en suero de MICA que los niveles de MICB solubles. Ya que tanto en la sobrevida libre de progresión como en sobrevida global no hubo diferencia para MICB soluble.

Al encontrar niveles elevados de MICA soluble en pacientes con Linfoma No Hodgkin indolente, en comparación con los linfomas agresivos, sugiere una diferencia en el tipo de sobrevida libre de progresión.

La sobrevida libre de progresión a 24 meses no se ve afectada por los niveles de MICA y MICB solubles de acuerdo a estos resultados.

Describiendo que en un poco más de la mitad de los pacientes estudiados, se presentó la primera recaída a 24 meses posterior a un esquema de primera línea, permite postular que los mecanismos que hacen medibles a MICA y MICB solubles, sean realmente parte de las armas de evasión a la respuesta antitumoral innata. Se requieren estudios prospectivos y con mayor cantidad de pacientes para establecer el valor pronóstico de este hallazgo.

BIBLIOGRAFIA

1. Bhardwaj, N. Harnessing the immune system to treat cancer. *Clin. Invest* 2007. 117:1130–1136.
2. Born W, Reardon C and O'Brien R, et al. The function of $\gamma\delta$ T cells in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2006; 18:31–38.
3. Wilhelm M, Kunzmann V, Eckstein S, et al. $\gamma\delta$ T-cells for immune therapy of patients with lymphoid malignancies. *Blood* 2003. 102: 200-206.
4. Johnston A, Salles G, Prognostic Systems for Lymphomas. *Hematol Oncol Clin N Am* 2008;22, 839–861.
5. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA, et al. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in Immunology* 2001; 22:633–40.
6. Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56 (bright) subset. *Blood* 2001; 97:3146–51.
7. Salih HR, Goehlsdorf D, Steinle A, et al. Release of MICB molecules by tumor cells: mechanism and soluble MICB in sera of cancer patients. *Hum Immunol* 2006, 67:188.
8. Zhang Y, Stastny P. MICA antigens stimulate T cell proliferation and cell-mediated cytotoxicity. *Hum Immunol*. 2006; 67 : 215-22.
9. Bauer S, Groh V, Wu J, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science*. 1999;285:727-9.
10. Zou Y, Mirbaha F, Stastny P. et al. Contact inhibition causes strong down-regulation of expression of MICA in human fibroblasts and decreased NK cell killing. *Hum Immunol* 67:183, 2006.
11. Zwirner NW, Marcos CY, Mirbaha F, et al. Identification of MICA as a new polymorphic alloantigen recognized by antibodies in sera of organ transplant recipients. *Hum Immunol* 61:917, 2000.
12. Rey J, Veuillen C, Vey N, et al. Natural killer and gammadelta T cells in haematological malignancies: enhancing the immune effectors. *Trends Mol Med*.

13. Dudley-Moore D. T cells: pre-determined specificity? *Nature Rev* 2005;5:15:275-84.
14. Bernhard H, Jäger E, Maeurer MJ, et al. Tumor associated antigens in human renal cell carcinoma: MHC restricted recognition by cytotoxic T lymphocytes. *Tissue Antigens*. 1996 Jul;48(1):22-31
15. Malkovsky M, Fisch P, Wallace M, et al. Gamma/delta T cells: From bench to bedside. *Clin. Applied Immunol. Rev.* 2003 : 235–245.
16. Wilhelm M, Kunzmann V, Eckstein S, Reimer P, Weissinger F, Ruediger T and Tony HP: $\gamma\delta$ T-cells for immune therapy of patients with lymphoid malignancies. *Blood* 2003;102: 200-206.
17. Kyle, R.A. Rajkumar, S.V. Multiple myeloma. *Blood* 2008, 111, 2962–2972.
18. Zocchi MR, Poggi A. Role of gammadelta T lymphocytes in tumor defense. *Front Biosci.* 2004 Sep 1;9:2588-604.
19. Fauriat, C, Mireti A, Viagli E, et al. Deficient expression of NCR in NK cells from acute myeloid leukaemia: evolution during leukaemia treatment and impact of leukaemia cells in NCRdull phenotype induction. *Blood* 2007: 109, 323–330.
20. Verheyden, S. and Demanet, C. NK cell receptors and their ligands in leukaemia. *Leukemia* 2008: 22, 249–257.
21. Kiladjian, J.J. Activation of cytotoxic T-cell receptor gd T lymphocytes in response to specific stimulation in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2008, 93, 381–389.
22. Kiladjian, J.J. Defects of immune surveillance offer new insights into the pathophysiology and therapy of myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2007, 21, 2237–2239.
23. Pérez – Retiguin FC. Concentraciones elevadas de MIC A y MIC B solubles en pacientes con linfoma: un posible mecanismo de evasión antitumoral. *Rev Hematol Mex* 2013;14 (Supl. 1):S155-S179.
24. Holdenrieder S, Stieber P, Peterfi A, et al. Soluble MICA in malignant diseases. *Int. J. Cancer* 2006: 118, 684–687.
25. Fisher, L. D., Van Belle, G. *Biostatistics. A Methodology for the Health Sciences.* John Wiley and Sons Inc. New York, 1993.

26. Hollander, M. and Wolfe, D. A. Nonparametric Statistical Methods. 2nd edition. John Wiley and Sons, Inc. New York, 1999.
27. Kuehl, R. O. Diseño de Experimentos. 2ª edición. Internacional Thomson Editores México, 2001.

ANEXO I

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

NUM FOLIO _____ FECHA _____
DX _____ EDAD: _____ SEXO: _____

FECHA DEL DX: _____ FECHA DE INICIO DE TRATAMIENTO: _____
OBTUVO REMISION COMPLETA: SI _____ FECHA: _____ NO: _____

ECOG: _____
SINTOMAS B: FIEBRE: _____ PERDIDA DE PESO : _____ DIAFORESIS: _____
TUMOR VOLUMINOSO: _____ INFILTRACION EXTRAGANGLIONAR: _____
EC : I II III IV

LECUCOCITOS: _____ LINFOCITOS: _____
DHL: _____ NIVELES DE REFERENCIA DE DHL: _____

REPORTE DE INMUNOHISTOQUIMICA:
FECHA: _____ REPORTE: _____
BIOPSIA DE HUESO: _____
TRATAMIENTO: 1ª LINEA _____

SUBPOBLACIONES

	DONADOR	PACIENTE
MIC A	_____	_____
MIC B	_____	_____

RECAIDA: SI _____ NO: _____ FECHA DE RECAIDA: _____

DEFUNCION: SI _____ NO: _____ FECHA DE DEFUNCION: _____