



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O.D.
DR. EDUARDO LICEAGA

**PUNTOS DE RIESGO PARA POBRE RESPUESTA A LA INDUCCION A LA
REMISION EN LOS PRIMEROS QUINCE DIAS DE TRATAMIENTO EN PACIENTES
CON LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA DE NOVO EN EL SERVICIO DE
HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE
HEMATOLOGIA

PRESENTA:
DRA. MARIA PAULA GALINDO LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS:
DR. CHRISTIAN RAMOS PEÑAFIEL
DRA. IRMA OLARTE CARRILLO

CO DIRECTOR DE TESIS:
DR. ADOLFO MARTINEZ TOVAR

CIUDAD DE MEXICO, 2017



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.



SERVICIO DE HEMATOLOGIA

TESIS

**PUNTOS DE RIESGO PARA POBRE RESPUESTA A LA INDUCCION A LA REMISION EN LOS
PRIMEROS QUINCE DIAS DE TRATAMIENTO EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA DE
NOVO EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

Dra. María Paula Galindo López

Residente Tercer Año
Hematología
Hospital General de México

Dr. Christan Ramos Peñaiel

Jefe de Hospitalización Servicio de Hematología
Hospital General de México

Dra. Irma Olarte Carrillo

Laboratorio de Biología Molecular Hematología
Hospital General de México

Dr. Adolfo Martinez Tovar

Laboratorio de Biología Molecular Hematología
Hospital General de México

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a la División de estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México, así como al CONACYT quien otorgo la beca para la realización de esta tesis.

Así mismo quiero darle las gracias al Dr. Christian Ramos, mi tutor no solo en la realización de mi tesis, sino a lo largo de este proceso que me ha llevado a ser hematóloga, sin su apoyo y sin sus enseñanzas no estaría entregando este trabajo, de la mano de la Dra. Irma Olarte quien siempre estuvo a nuestro lado ayudándonos con en cada paso de este camino, no solo con sus clases, sino también con sus consejos. Junto a ellos agradezco a todo el equipo de docentes del servicio de Hematología del Hospital General de México, por sus enseñanzas muchas gracias.

Finalmente y no menos importante a mi familia, Mi esposo Esteban por estar a mi lado no solo en estos tres años, sino en estos siete años que tomo este largo camino, siempre serás la persona que me impulsa a ser una mejor profesional. Mi papá y mi tía Gloria Helena quienes siempre estuvieron pendientes de mi. Mi mamá, mi pilar, mi soporte, mi guía, a la que le debo todo lo que soy y lo que seré, sin ella no estaría acá, gracias a ella por ser mi modelo a seguir, tu eres el espejo en el que me quiero reflejar día a día, nunca me cansare de darte las gracias.

	Página
Resumen estructurado.....	5
Antecedentes.....	6
Planteamiento del problema.....	14
Justificación.....	16
Hipótesis.....	18
Objetivos.....	19
Metodología.....	20
Resultados.....	23
Discusión	27
Conclusiones.....	33
Bibliografía.....	34

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de riesgo de la LLA	06
Tabla 2: Tasa de respuesta temprana a esteroides y acorde con cifra inicial de leucocitos	12
Tabla 3: Protocolo institucional para el tratamiento de la leucemia linfocítica del adulto	13
Tabla 4: Definición de las Variables	21
Tabla 5: Frecuencia de las diferentes variables clínicas tabla 4 frecuencia de las diferentes variables clínicas ..	24
Tabla 6: Porcentaje de asociación de los factores de riesgo y la presencia de remisión completa a las 4 semanas	25
Tabla 7: Porcentaje de asociación de los factores de riesgo y la presencia de recaída	26

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1: Evolución de factores pronósticos de leucemia linfocítica aguda	07
Fig. 2: Representación esquemática de la proteína ABCB1.....	08
Fig. 3: Representación esquemática de los genes implicados en la quimiorresistencia debido a una reducción en las concentraciones intracelulares de los medicamentos	09
Fig. 4: Representación de la señal de activación de los Glucocorticoides	11

RESUMEN ESTRUCTURADO

Antecedentes: Conocer los factores de riesgo iniciales para predecir la probabilidad de respuesta al esquema de inducción a la remisión de los pacientes adultos diagnosticados de Novo con leucemia linfocítica aguda, es importante para poder intervenir de manera temprana en el cambio de terapéutica e incremento en las tasas de remisión completa y supervivencia libre de enfermedad.

Objetivo: Determinar la expresión de los genes ABCB1 y ABCG2, respuesta a esteroides y disminución del conteo de blastos como factores de riesgo de mal pronóstico en los pacientes adultos diagnosticados con leucemia linfocítica aguda.

Metodología. Los niveles de expresión de los genes ABCB1 y ABCG2 se analizaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en 58 pacientes con diagnóstico de LLA. La respuesta a esteroides se evaluó con la presencia de blastos en sangre periférica luego de 7 días de manejo y la presencia de blastos en médula ósea se evaluó mediante el aspirado realizado en el día +8 de tratamiento. La asociación entre estos parámetros y la probabilidad de integrar remisión se determinó mediante la prueba de Chi cuadrado. La supervivencia global (OS) se determinó usando el método de Kaplan-Meier.

Resultados: Se estudiaron un total de 58 pacientes, en los cuales se evaluó inicialmente la expresión de la ABCB1 y ABCG2 presentando expresión alta en 18, 31%. Y 13, 22.4% respectivamente. Posteriormente se evaluó la respuesta favorable a los esteroides mismo que se consideró como el segundo punto de riesgo, estando presente en el 58.6% de los casos y por último se midió la presencia de Blastos en Médula ósea en el día +8 de tratamiento (posterior a la dosis de Daunorrubicina y Vincristina) siendo positivo este punto en el 58.6%. Los tres puntos en conjunto se encontraron en el 61% de los pacientes con falla al tratamiento, y teniendo más peso la respuesta a esteroides como predictor de mal pronóstico.

Conclusiones: La presencia de los tres factores de riesgo analizados aumenta la probabilidad de refractariedad y recaída de los pacientes con leucemia linfocítica aguda

Palabras clave. Quimioterapia, hematología, Leucemia, Genes de Multiresistencia a Drogas.

ANTECEDENTES

Históricamente, han sido reconocidos varios factores de riesgo importantes para respuesta al tratamiento de Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) (tabla. 1), uno de ellos ha sido la remisión durante el primer mes. En muchos estudios, la respuesta al tratamiento inicial ha sido un factor pronóstico primordial independientemente de las características iniciales de la enfermedad. Además, los datos más recientes sugieren que la presencia de la leucemia residual en la médula ósea en el día 7 o 14 se ha asociado con un peor pronóstico, aunque los datos publicados son predominantemente en la LLA infantil.

Clasificación de la LLA de acuerdo al tipo de riesgo

Variable	Riesgo Habitual	Riesgo Alto
Edad	< 35 años	> 35 años
Cuenta Inicial de Leucocitos	< 30,000 para LLA B, 100,000 para LLA t	>30,000 para LLA-B >100,000 para LLA-T
Genética	Normal, Hiperdiploidia > 50 Cr, t (12:21)	t(9:22), t(8,14), t(4;11), hipodiploidia <45cr
Inmunofenotipo	Línea B	Línea T con >100,000 leucocitos, B madura
Morfología	L1, L2	L3 (Burkitt)
Respuesta	Remisión completa a las 4 semanas	No Remisión completa a las 4 semanas
Infiltración a SNC	Ausente	Presente

Tabla 1: Clasificación de riesgo de la LLA (1)

(Tomado de Guía de Referencia Rápida: Leucemia linfoblástica aguda del adulto (Catálogo Maestro de Guías de Práctica Clínica:IMSS-142-08 Consejo de Salubridad. Nacionalhttp://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/142_GPC_LEUCEMIA_LINFOLASTICA/Imss_RR.pdf)

Así mismo en las últimas 5 décadas, los resultados del tratamiento para la leucemia linfoblástica aguda infantil han evolucionado a partir de una supervivencia media de 2 meses a partir del diagnóstico a tasas de supervivencia general a largo plazo de aproximadamente 80 %. No siendo así en adultos ya que aunque ha mejorado en el mismo período, la tasa de supervivencia general a largo plazo para los adultos es de sólo el 30 % a 40 % para los menores de 60 años y menos de 10 % para los mayores de 60 años, estimándose con esto que cerca de la mitad de los adultos con LLA no logran curación de la enfermedad y mueren finalmente a causa de esta. (2)

Aunado a lo anterior a pesar que después de la terapia de primera línea, las tasas de remisión completa oscilan entre el 78 % y el 93 % en los ensayos clínicos recientes, un tercio de los pacientes con LLA de riesgo estándar y dos tercios de los pacientes de alto riesgo recaen. Y aunque se logre una segunda remisión posterior a ello, la supervivencia a largo plazo rara vez aumenta. (2)

Es por esto que se han generado múltiples estrategias para encontrar puntos de alarma en los primeros días de tratamiento para así individualizar el manejo y tener mayores tasas de remisión. Entre ellos se encuentran: **la expresión de genes de multiresistencia a drogas (primer punto), respuesta a esteroide en los primeros 8 días de**

tratamiento (segundo punto) y presencia de blastos en el aspirado de medula ósea en el día 15 de tratamiento (tercer punto)

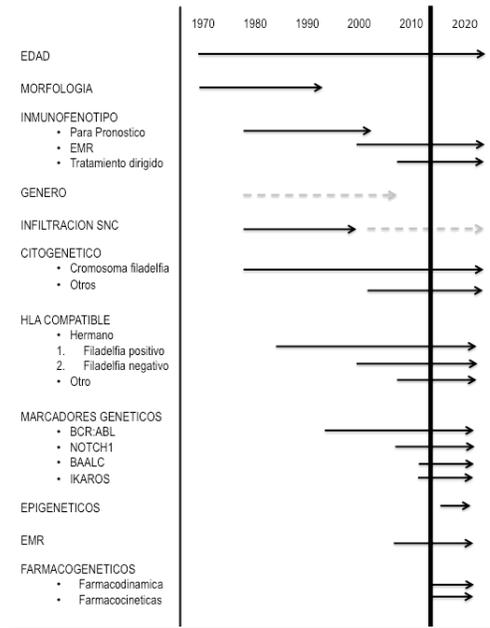


Fig. 1: Evolución de factores pronósticos de leucemia linfocítica aguda (3)

GENES DE MULTIRRESISTENCIA A DROGAS

Los transportadores de fármacos son proteínas de membrana que median el flujo de salida y la absorción de amplias gamas de agentes terapéuticos. A través de los años, ha sido cada vez más evidente que estas proteínas son importantes en la adsorción, distribución, metabolismo y excreción de diversos fármacos. Dichos transportadores son factores determinantes en la acumulación del medicamento dentro de las células y sus actividades son a menudo directamente relacionados con la eficacia terapéutica, toxicidad de los fármacos y las interacciones fármaco-fármaco. Así mismo estos transportadores se consideran como nuevas dianas para el diseño de fármacos y factores importantes para la interpretación de la diferencia interindividual en la respuesta a los mismos. (3)

Dentro de estos transportadores se encuentran los ABC (ATP-binding cassette), mismos que se encargan del transporte activo primario requiriendo para esto la hidrólisis de ATP para el transporte del sustrato y regulan principalmente el flujo de salida, y en nuestro caso en específico la transferencia de fármacos fuera de las células. (3) Los miembros de la familia ABC incluyendo la Glicoproteína P (P-gp / ABCB1), la proteína 1 asociada a resistencia a múltiples fármacos (MRP1 / ABCC1) y la proteína de resistencia al cáncer de mama (BCRP / ABCG2) se han identificado como determinantes clave para la farmacocinética y la Farmacodinamica de diversos medicamentos. (4) Demostrándose en varias ocasiones mediante líneas celulares que la sobre expresión de P-gp, MRP1 y / o BCRP es uno de los principales mecanismos responsables de la resistencia a múltiples fármacos. (5)

La resistencia de las células tumorales a medicamentos citotóxicos, son un gran obstáculo en el tratamiento exitoso en neoplasias de origen hematológico. Y como ya se menciona antes uno de los mas importantes determinantes de la respuesta al tratamiento.

En cuanto a la experiencia en el hospital en relación a la expresión de MDR. Balderas, C, en su tesis, Impacto clínico de los niveles de expresión de los genes de resistencia a multidroga (ABC-B1 Y ABC-G2) en pacientes con leucemia linfoblástica aguda del Hospital General de México encontró una relación estadísticamente significativa con la expresión del gen ABCB1 y el logro de remisión completa a las 4 semanas ($p=0.32$); con un peor comportamiento clínico ($p=0.18$); y la refractariedad al tratamiento ($p=0.032$); y muerte ($p=0.003$), no siendo así con La expresión del gen ABC G2 con el cual no se encontró asociación significativa con ninguno de los parámetros clínicos de la evolución de la enfermedad. (6)

PROTEINA ABCB1 (GLICOPROTEINA 1/PgP/MDR1)

ABCB1 (Glicoproteína P o MDR1) es una proteína glicosilada codificada por el gen ABCB1, que se encuentra en el cromosoma 7q21.12. Esta proteína actúa como una bomba de flujo para fármacos dependiente de ATP y pertenece a la superfamilia de los transportadores ABC que incluye proteínas responsables del transporte de una amplia gama de sustratos, tales como azúcares, aminoácidos, péptidos, iones orgánicos, y varios compuestos hidrófobos y metabólicos. Es una estructura en dos mitades homólogas y simétricas, cada una compuesta por una región transmembrana que tiene un dominio N-terminal, y una citoplasmática que contiene dos sitios de unión a ATP, el dominio principal y el C – terminal (fig. 1). La hidrólisis de ATP, da la energía necesaria para la translocación de los sustratos a través de la membrana. (7)

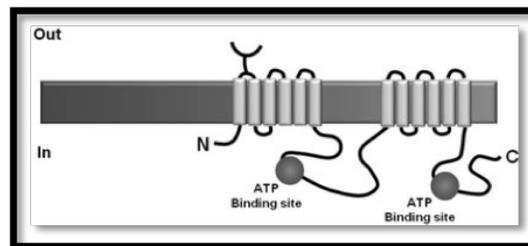


Fig. 2: Representación esquemática de la proteína ABCB1 (4)

La proteína ABCB1 puede ser detectada en las células de los tejidos normales que participan en la absorción fisiológica y la excreción de varios compuestos, tales como hígado, riñones, placenta, barrera hematoencefálica y testículos. También se relaciona con procesos que implican la regulación de la diferenciación celular, la proliferación, y la apoptosis, bloqueando la activación de la caspasa 8 y caspasa 3. Así mismo está implicada en la respuesta inflamatoria, corroborado por estudios que muestran que algunas células del sistema inmune expresan constitutivamente ABCB1, siendo relacionada con el transporte de citoquinas, tales como interleucina-2, interleucina-4, y el interferón- γ . (7)

El gen de multiresistencia a drogas 1 (MDR1 o ABCB1), el cual codifica una glicoproteína transmembrana P (P-gp), que tiene como principal acción la reducción de la acumulación del medicamento dentro de la célula mediante el transporte

activo fuera de ella, alterando el flujo de varios quimioterapéuticos utilizados de primera línea de tratamiento en LLA, esta asociado frecuentemente a aquellas que son derivados naturales con compuestos hidrofobicos y anfipáticos como los alcaloides de la vinca (vinorelbina, vincristina, vinblastina), antraciclinas (doxorubicina, daunorubicina, epirubicina), epipodofilotoxinas (etoposido, teniposido), topotecan, dactinomicina y mitomicina C. (7)

PROTEINA DE RESISTENCIA AL CANCER DE MAMA (BCRP/ABCG2)

Es una proteína de 655 aminoácidos, codificada por el gen ABCG2 que es codificado en el cromosoma 4 (4q22). Es también conocida como el transportador de la placenta o proteína de resistencia a mitoxantrona. ABCG2 es un transportador con un segmento transmembrana C-terminal y un sitio de unión a ATP N-terminal. La formación de homo o heterodímeros con puentes de enlaces disulfuro es esencial para su función como un transportador activo. Esta proteína se expresa en el tracto gastrointestinal, hígado, placenta, riñón y barrera hematoencefálica.

El ABCG2 fue identificado por primera vez como el mediador de la resistencia adquirida a la adriamicina (doxorubicina) mediante una línea celular seleccionada de cáncer de mama. Es capaz de transportar una amplia gama de sustratos, incluyendo importantes agentes quimioterapéuticos tales como mitoxantrona, metotrexato, el topotecan e irinotecan, epipodofilotoxinas, y la doxorubicina (aunque se requiere una forma mutada de ABCG2 para el transporte de antraciclina). Además de los agentes citotóxicos convencionales, varios agentes dirigidos también son sustratos ABCG2, incluyendo los inhibidores de tirosina quinasa imatinib, y nilotinib. Por lo anterior se ha observado que la expresión de ABCG2 se ha asociado con pobres respuestas en la leucemia mieloide aguda (AML), así como una variedad de otros tipos de cáncer, incluyendo leucemia linfoblástica aguda (LLA), el cáncer de mama y el de pulmón.

En muchos casos, sin embargo, estas asociaciones son evidentes a pesar del uso limitado o incluso la ausencia de las drogas que son sustrato del ABCG2 en el tratamiento de estos pacientes, que lleva a pensar que ABCG2 puede ser un marcador de la quimiorresistencia en lugar de un contribuyente directo a este fenotipo. En este sentido, la expresión ABCG2 se observa con frecuencia en las poblaciones de células tumorales con mayor capacidad de auto-renovación y con potencial tumorigénico, lo que sugiere que la inhibición de ABCG2 puede ser un blanco terapéutico para las células madres hematopoyéticas. (9)

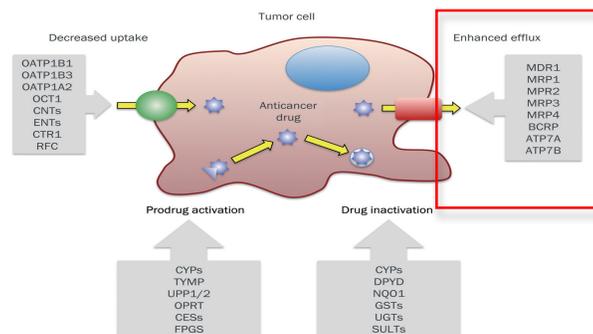


Fig. 3: Representación esquemática de los genes implicados en la quimiorresistencia debido a una reducción en las concentraciones intracelulares de los medicamentos (9)

Varios estudios han demostrado que la multidrogoresistencia (MDR) intrínseca puede surgir como resultado de perfiles específicos de expresión génica. Por ejemplo, el aumento de la expresión de MDR (ABCB1 y ABCG2) se asoció con peores tasas de supervivencia global (OS) en un estudio de perfiles de expresión génica en adultos con leucemia mieloide aguda (LMA). La expresión elevada de P-gp se identificó con más frecuencia entre los pacientes mayores con LMA, lo que refleja la mayor resistencia a la terapia y el peor pronóstico observado en dichos pacientes. (10)

Otro ejemplo de ello se observa en el estudio realizado en el Hospital General de México acerca de la expresión de los genes multidrogoresistentes en la población atendida en la institución en el cual no se encontró asociación entre los niveles de expresión de ABCG2 y los parámetros de mal pronóstico al diagnóstico. Por el contrario la alta expresión del gen ABCB1, demostró un descenso en la supervivencia de 40 meses, en comparación con aquellos que tenían expresión baja, 21.8% Vs. 100%, siendo esto gracias a la respuesta al tratamiento. (11)

Lo anterior es corroborado por estudios previos como el realizado por M. Kourti y cols. Quienes encontraron en su estudio que la expresión de ABCB1, tiene una influencia significativa en los resultados del tratamiento, con una supervivencia libre de enfermedad del 86.67% para aquellos con baja expresión y 55.56% para aquellos con alta expresión. Así mismo demostraron que la alta expresión al diagnóstico de dicho gen se asociaba a recaída o a la incapacidad de integrar remisión a los 30 días de tratamiento. (12)

Estudios previos de Jamroziak et al. y Stanulla et al. reportaron mejor supervivencia libre de enfermedad y menor tasa de recaída a sistema nervioso central asociada con el alelo ABCB1 T 3435 en LLA infantil. No siendo así en los pacientes adultos que presentaban dicho polimorfismo demostrado por Efferth et al. y Jamroziak et al. Respectivamente en sus publicaciones. Por otro lado Ceppi y cols. observaron que el genotipo ABCB1 3435TT tenía menor supervivencia libre de enfermedad en la cohorte estudiada, mediante un análisis uni y multivariado. Sin embargo, el fracaso de replicar posteriormente este hallazgo en un conjunto de pacientes ha generado argumentos en contra del papel de este polimorfismo en la modulación de todos los resultados. Erdélyi et al. examinaron la asociación de los polimorfismos funcionales de ABCB con los efectos secundarios agudos de la quimioterapia en 138 niños Húngaros tratados con el protocolo ALL-BFM-95. Una mayor proporción de pacientes que expresaban el genotipo ABCB1 3435TT presentaron complicaciones infecciosas. (13,14,15,16,17,18)

En un estudio reciente en 522 niños con LLA, Gregers et al. exploraron el impacto de los polimorfismos ABCB1 sobre los riesgos de recaída y toxicidad, demostrando que las variantes genéticas de este, se asociaron con el resultado en la LLA infantil. En los pacientes de alto riesgo que eran portadores de la variante GA 1199, se observó una tasa de recaída mayor al 60%, llegando a la conclusión que la presencia de dicho polimorfismo podría ser un marcador predictivo del resultado en la LLA infantil, y deberían ser controlados con mayor frecuencia. (19)

Como ya se menciona antes el gen ABCB1 participa en el transporte de la vincristina, siendo estudiado por Ceppi y colaboradores, demostrando que las variantes en ABCB1 se asocian no solo con neurotoxicidad durante el tratamiento,

sino que también se informó que expresión de ABCB1 estaba asociadas con un mayor riesgo de recaída en los pacientes con LLA infantil. (17)

RESPUESTA A ESTEROIDE

La pronta reducción de la carga tumoral es de gran importancia para la predicción del resultado del tratamiento en tumores sólidos y hematológicos. En 1983, el Grupo de estudio Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) inició a evaluar la respuesta temprana a la prednisona como un factor predictivo de los resultados del tratamiento mediante la medición del recuento de blastos periféricos en el día 8 de tratamiento, siendo este uno de los factores pronósticos independientes mas importantes de respuesta. (20)

Los glucocorticoides (GCS) causan la muerte celular masiva y la detención del ciclo celular en células malignas de estirpe linfoide por lo que están incluidas en casi todos los protocolos de tratamiento para neoplasias linfoides, especialmente la leucemia linfoblástica aguda. Su efecto se ejerce a través de su receptor afín, el receptor GC (GR, codificada por el gen NR3C1), que es un factor de transcripción de la familia del receptor nuclear, activado por un ligando de dedos de zinc, el cual rápidamente se trasloca dentro del núcleo y modula la expresión del gen objetivo ya sea mediante la unión a los elementos de respuesta a glucocorticoides que son elementos de los genes promotores/potencializadores o bien mediante factores de transcripción que interactúan proteína/proteína. (2). Además de lo anterior, después de la unión a glucocorticoides en el citoplasma, pueden permanecer en forma monomérica y reprimir la actividad de factores de transcripción tales como activación de la proteína-1 (AP-1) o factor nuclear kappa B (NF-κB), ambos procesos inhiben la producción de citoquinas, alteran la expresión de diferentes oncogenes, e inducen arresto del ciclo celular y la apoptosis. (21)

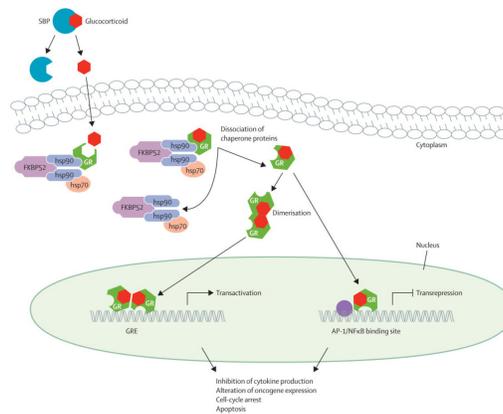


Fig. 4: Representación de la señal de activación de los Glucocorticoides (20)

In vivo e in vitro la resistencia a glucocorticoides es un factor pronóstico adverso en la LLA, y varios mecanismos han sido reportados. La exposición de glucocorticoides induce sobre regulación de sus receptores en las células de la LLA y aproximadamente la mitad de los 51 genes de respuesta han sido vinculados funcionalmente a 3 vías principales: la

proliferación celular y la supervivencia (vías de MAPK), la vía de señalización de factor nuclear kappa B y el metabolismo de la glucosa. La resistencia a glucocorticoides se ha asociado con la regulación de genes implicados en el metabolismo y el aumento del consumo. Los glucocorticoides también producen la liberación de calcio desde el retículo endoplásmico en el citoplasma, llevando al aumento de calcio mitocondrial mismo que induce la liberación de citocromo c y desencadena la apoptosis. La expresión elevada de proteínas de unión a calcio S100A8 y S100A9 y del Bcl-2 inhiben las señales del calcio en el citoplasma y en la mitocondria, respectivamente, generando con esto la resistencia a glucocorticoides. (22)

El tratamiento de la LLA, incluye el uso de glucocorticoides sintéticos, casi siempre prednisolona (metabolito activo de la prednisona), pero también dexametasona, durante varias fases del tratamiento en combinación con la quimioterapia, resultando en una tasa de curación en niños de hasta el 90%, sin tener datos aun en protocolo en adultos.

De la experiencia del Hospital en cuanto a la respuesta a esteroides, cuando se valoro la respuesta al esquema institucional HGMLAL 2007, se encontró una respuesta favorable a esteroides en 19 pacientes (27% de los casos) (tabla. 2), y al analizar el valor pronóstico de la respuesta sobre la supervivencia de los pacientes no se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.923$). (23)

» **Tabla 2.** Tasa de respuesta temprana a esteroides (RTE) y acorde con la cifra inicial de leucocitos

Cuenta inicial de leucocitos (x 10 ⁹ /l)	Porcentaje de respuestas
Respuesta global	27%
1.0 - 30.0 x 10 ⁹ /L	48%
30.0 - 100.0 x 10 ⁹ /L	8.6%
> 100.0 x 10 ⁹ /L	15.0%

RESPUESTA AL DIA 8 DE TRATAMIENTO

Ya desde 1970, el Cáncer Study Group Infantil (CCG) comenzó a evaluar la respuesta temprana de la médula ósea durante el tratamiento de inducción con múltiples agentes y demostró el valor predictivo de dicha respuesta en términos remisión y resultado final. (20)

Esto se confirma en el estudio **Risk and response based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG) (12)**, realizado por Kirk R. Schultz. Y colaboradores, donde analizaron la respuesta de los pacientes con LLA de precursores B (la mayoría de nuestros pacientes), de riesgo estandar y de riesgo alto, por medio de la evaluación de la medula osea en el día 7 o en el día 14 si no habia habido respuesta en el día 7 (casi la ½ de los pacientes). Evidenciando que los pacientes de alto riesgo mostraron una respuesta temprana lenta tanto en el día 7 como en el día 14, con reporte de mas de 25% de blastos (M3) al día 7 o de 5% a mas del 25% (M2/M3) al día

14, a pesar que los pacientes que no habian tenido respuesta al día 7 se habian cambiado a tratamiento intensivo. Siendo similar la respuesta en los pacientes de riesgo estandar que tuvieron respuesta temprana lenta (M3) al día 14, con peores resultados que aquellos que tuvieron respuesta temprana, con una supervivencia libre de enfermedad a 5 años de 66.5% Vs 84.8% respectivamente. (20)

El Grupo St Jude total Therapy Study mostro que aunque fueran porcentajes pequeños de blastos (1 – 4%) en el día 15 y en el día 22 a 25 de la inducción esto se asociaba a una pobre respuesta para la supervivencia libre de enfermedad a 5 años en comparación con aquellos con blastos no detectable (40+/-6% vs 78 +/-2%) (20)

ESQUEMAS DE TRATAMIENTO

El esquema inicial utilizado en la institución desde el 2007 ha sido el HGM LAL07, el cual se explica en la tabla 3 (14). Mismo con el cual iniciarían los pacientes al momento del diagnostico.

			HGM LAL07	HGM LAL09
INDUCCION A LA REMISION (FASE I)				
DAUNORRUBICINA	60 mg/m ²	IV	1, 8, 15	1, 2, 3
VINCRIPTINA	1.5 mg/m ²	IV	1, 18, 15, 22	1, 18, 15, 22
PREDNISONA	60 mg/m ²	IV	1 al 28	1 al 28
CITARABINA	40 mg	IT	1, 18, 15, 22	1, 18, 15, 22
DEXAMETASONA	8 mg	IT	1, 18, 15, 22	1, 18, 15, 22
METOTREXATE	15 mg	IT	1, 18, 15, 22	1, 18, 15, 22

Tabla 3: Protocolo institucional HGM para el tratamiento de la leucemia linfoide del adulto

En cuanto al esquema de alta intensidad se utilizaría, como esquema de salvamento al encontrar los tres puntos de alarma en los primeros 15 días seria el HyperCVAD el cual se compone de 8 ciclos distribuidos de la siguiente manera: Ciclos 1, 3, 5 y 7 con Ciclofosfamida 300 mg/m² cada 12 horas por 6 dosis + Mesna 600 mg/m² por 3 días. Vincristina 2 mg los días 4 y 11 de tratamiento. Doxorubicina 50 mg/m² en el día 4 Y dexametasona 40 mg los días 1 al 4 y 11 al 14 de tratamiento. En los ciclos 2, 4, 6 y 8, Metotrexate 1 gr en el primer día y Citarabina a 3 gr/m² cada 12 horas los días 2 y 3 de tratamiento. Metilprednisolona 50 mg cada 12 horas durante los 3 días. Teniendo en cuenta que se debe realizar en este ciclo los rescates con acido fólnico a las 12 horas de terminada la infusión de Metotrexate a razón de 15 mg. Los ciclos se darán cada 3 a 4 semanas (24)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En 2015, se registraron 6.250 nuevos casos de LLA y 1450 muertes en los Estados Unidos, teniendo una incidencia de 1,5 casos por cada 100.000 personas, con 2 picos de edad, el primero de los 2 a los 5 años y el segundo a los 65 años, con una razón hombre / mujer de 1,2: 1.0. Las tasas globales de curación para la enfermedad en adultos han sido del 30% al 40% en los países desarrollados, disminuyendo a menos del 20% en pacientes mayores de 45 años. Esto contrasta con la supervivencia global a 5 años del 90% para los pacientes pediátricos con LLA. Por lo que el tratamiento de la LLA en los adultos en gran medida se ha basado en la adaptación de los regímenes utilizados en dicha población. Sin embargo, las tasas de éxito han sido considerablemente más bajas que en los niños. Esto podría ser debido a la variabilidad biológica inherente de los clones leucémicos y los factores clínicos relacionados con la edad. (25)

Esta resistencia también se debe a la expresión de genes multidrogoresistentes los cuales contribuyen al fracaso terapéutico en varias neoplasias hematológicas principalmente cuando son tratadas con regímenes que contienen antracíclicos, alcaloides de la vinca o epipodofilinas los cuales son modulados en su concentración intracelular por la glucoproteína p 170 producto del gen MDR-1. Las células leucémicas resistentes a la quimioterapia de inducción conducen a refractariedad de la enfermedad o recaída y en última instancia a la muerte temprana del paciente. (26) Siendo esto relevante ya que nuestro esquema de primera línea utiliza tanto antracíclicos como alcaloides de la vinca.

Una respuesta lenta o retardada a la quimioterapia de inducción se ha definido en 3 formas: como la persistencia de los blastos periféricos después de 7 días de tratamiento, es decir la resistencia a los esteroides; persistencia de blastos en la médula ósea después de 7, 14, o 21 días de quimioterapia de inducción, o quimiorresistencia; y enfermedad mínima residual (EMR) positiva, determinado por técnicas sofisticadas después de la finalización del tratamiento de inducción. La determinación de la persistencia de blastos en sangre periférica es simple, es mínimamente invasivo, y se ha correlacionado con el resultado de la enfermedad en varios estudios. La mayoría de los estudios han establecido puntos de corte a 1.000 / mcl en el recuento de blastos. Sin embargo, este punto de corte no es útil para los pacientes con recuentos periféricos de menos de 1000 / mcl al momento del diagnóstico. Además, el conteo de blastos en la sangre periférica puede no estar correlacionado con los porcentajes de blastos en la médula, especialmente en las leucemias de linaje B. Por el contrario, la detección de EMR mediante marcadores inmunológicos de la superficie celular o marcadores moleculares es muy sensible, pero puede ser problemática debido a que faltan marcadores y técnicas complejas y costosas. Por otra parte, la evaluación de los blastos de la médula ósea es mucho más fácil y refleja eficazmente la respuesta temprana a distintas combinaciones de fármacos citorreductores. Sin embargo, este procedimiento depende de la calidad de la médula muestreada, la heterogeneidad de los sitios de la enfermedad activa en la médula, y la experiencia de los examinadores y no refleja correctamente la actividad de la enfermedad si existe una carga tumoral extramedular. (27)

Por lo anterior se ha decidido diseñar un esquema en el cual se combinen todos los factores de riesgo antes mencionados: Presencia de genes multidrogoresistentes, respuesta a esteroides y la desaparición de blastos posterior a 15 días de

tratamiento, para así poder establecer cuales de los pacientes se beneficiarían en el cambio de esquema antes de terminar las 5 semanas del esquema institucional ya establecido LAL 2007, de inducción a la remisión, ya que la experiencia registrada en el Hospital, donde Ramos y cols. Al evaluar la respuesta obtenida con el dicho esquema en 72 pacientes con leucemia linfoblástica aguda de novo, el porcentaje de remisiones completas fue del 68% con una mortalidad temprana del 22%, y una supervivencia a 430 días del 58%. Y alrededor del 30-50% de los pacientes mostraron recaída a nivel de médula ósea. (22)

Se espera que al combinar no solo los factores de riesgo ya establecido al diagnostico como son edad, conteo de leucocitos iniciales, presencia de infiltración a sistema nervioso central o alteraciones genéticas, a estos tres puntos de alarma, se podrá llegar a tasas mas altas de remisión y supervivencia libre de enfermedad, similares a los encontrados en esquemas pediátricos, mismos que cuentan con mas estudios, ya que la literatura en población adulta es escasa.

JUSTIFICACION

La estratificación temprana de los pacientes con diferentes pronósticos desde el inicio del tratamiento provee la oportunidad de diseñar un esquema de acuerdo a las características de cada paciente, no solo para intensificar el enfoque terapéutico en aquellos con alto riesgo de recaída, sin también evitar la exposición excesiva a citotoxicidad cuando la remisión se puede lograr con tratamientos menos intensivos. (2)

La actividad del (P-gp) ha demostrado tener una significancia pronostica en los pacientes con leucemia mieloide aguda en adultos y de menor relevancia en niños, sin embargo esta relación no ha sido bien demostrada en pacientes con LLA. (1). Sin embargo el estudio realizado por Stuart S. Winter y colaboradores en el cual se desarrollo una línea celular resistente a la vincristina se encontró que las LLA de estirpe T adquieren resistencia a través de MRP1 y que dicha resistencia es diferente a la generada por MDR1. Así mismo encontraron que la sobre expresión intrínseca de estos dos genes era predictivo de fracaso para la inducción a la remisión. (6)

Evidencia indica que la expresión del gen MDR1 contribuye a la resistencia de las células de leucemia frente a los agentes antineoplásicos. En este contexto, los estudios han demostrado que los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) y leucemia linfoblástica aguda (LLA) que no sobre expresan la proteína MDR1 en sus células tienen una tasa de remisión completa después del tratamiento de inducción de 89% y 93 %, respectivamente. Por otro lado, esta tasa se redujo a 53% y el 56% en los pacientes con LMA y LLA, respectivamente, que sobre expresaban dicha proteína. (6)

Es por esto su identificación sería importante para la individualización de dichos pacientes y cambio en el esquema de inducción a la remisión ya que el esquema institucional (LAL 2007) se basa en la aplicación semanal de Vincristina.

En cuanto a la respuesta a prednisona definida como la disminución de blastos en sangre periférica menor a 1000 por micro litro, se puede ver su importancia en el estudio realizado por A. Möricke y cols. En el cual la respuesta fue evaluada en 1431 pacientes de los en la que se vio que el 90.2% (1280) tenían buena respuesta y 9.8% (139) tenían pobre respuesta, y durante su seguimiento la supervivencia libre de enfermedad a 8 años fue de 81.3 +/- 0.9% para aquellos con buena respuesta y de 55.1 +/- 3.7% para los de pobre respuesta con una $p < 0.001$. Así mismo en este estudio se evaluo la respuesta con el resultado de aspirado de medula osea en el día 15 de tratamiento encontrando que 61.5% (880), tenían un M1, 25.5% (365), tenían un M2 y 13% (186), tenían un M3, con una supervivencia libre de enfermedad a 8 años de 86.1 +/- 1.2%, 74.5 +/- 2.3% y 46.6 +/-3.7% respectivamente. (20) Demostrando con esto que estos dos puntos también son importantes en cuanto a la decisión terapéutica de los pacientes.

Es entonces relevante tener varios puntos para predecir la respuesta a largo plazo de los paciente, ya que con esto no solo se disminuye la citotoxicidad secundaria a la quimioterapia al dar tratamiento menos intensivo a aquellos que no tienen ninguno de ellos y por el contrario cambiar a esquemas mas fuertes en aquellos en los que se tengan estas

características, ya que así se aumentaría la tasa de remisión y se optimizarían recursos al no utilizar medicamentos que sabríamos no harían efecto como sería en el caso de encontrar genes multidrogoresistentes.

HIPOTESIS

Si se encuentran 3 puntos de alerta en los primeros 15 días para refractariedad al esquema de inducción a la remisión en pacientes diagnosticados con leucemia linfocítica aguda (respuesta a esteroide, presencia de gen MDR y disminución de los blastos al día +8 en aspirado de médula ósea), entonces se podrá predecir cuáles de ellos se beneficiarían de terapia de alta intensidad desde el inicio (HyperCVAD).

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la expresión de los genes ABCB1 y ABCG2, respuesta a esteroides y la disminución del conteo de blastos como factores de riesgo de mal pronóstico en los pacientes adultos diagnosticados con leucemia linfocítica aguda y la probabilidad de refractariedad a tratamiento diagnosticados en el Servicio de Hematología del Hospital general de México, desde octubre del 2016 hasta febrero del 2017

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la presencia de los ABCB1 y ABCG2 en pacientes con diagnóstico de Novo de Leucemia Linfocítica Aguda en el aspirado de médula ósea inicial
- Determinar la respuesta al tratamiento inicial de esteroides a los 7 días de iniciado el tratamiento mediante la ausencia de blastos en sangre periférica.
- Determinar la respuesta al manejo quimioterapéutico inicial durante los primeros 15 días mediante la disminución del conteo de blastos en médula ósea de control

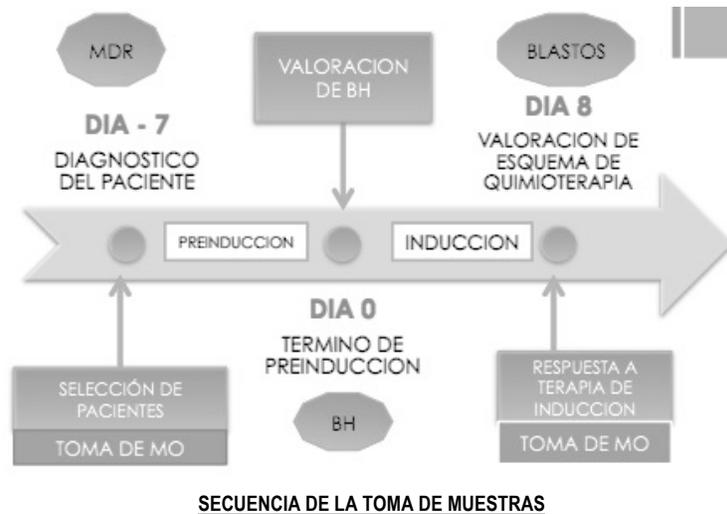
- ✓ **Tipo y diseño del estudio.** Estudio de prospectivo, longitudinal, experimental y analítico.
- ✓ **Población.** Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de novo de leucemia linfocítica aguda en el servicio de Hematología del Hospital General de México durante octubre del 2016 hasta marzo del 2017, que acepten participar mediante consentimiento informado.
- ✓ **Periodo.** Octubre 2016 a Febrero del 2017
- ✓ **Tamaño de la muestra.** No requerido se analizaran los datos de todos los pacientes diagnosticados durante el periodo de tiempo establecido
- ✓ **Criterios de inclusión.**
 - Mayores de 18 años
 - Que cumplan con la totalidad del tratamiento establecido
 - Diagnostico de leucemia confirmado por medio de aspirado de médula ósea, de acuerdo a la definición dada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), es decir 20% de blastos en aspirado de médula ósea o extendido de sangre periférica, diferenciando entre mielocítica y linfocítica de acuerdo al linaje de célula encontrada.
- ✓ **Criterios de exclusión.**
 - Defunción previo a la toma de las 3 muestras
 - Expediente clínico incompleto
- ✓ **Criterios de eliminación.**
 - Comorbilidades asociadas
 - No tener la toma de las 3 muestras requeridas para establecer los puntos de riesgo
 - Abandono de tratamiento
 - Incumplimiento al tratamiento
- ✓ **Definición de las variables a evaluar y forma de medirlas.**
 - **VARIABLE DEPENDIENTE:** Respuesta al tratamiento
 - **VARIABLES INDEPENDIENTES:**
 1. Expresión de los genes ABCB1 y ABCG2 al diagnóstico
 2. Respuesta a esteroide en los primeros 7 días de tratamiento
 3. Respuesta a quimioterapia durante los primeros 15 días de tratamiento

VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE	UNIDADES DE MEDICIÓN
RESPUESTA A ESTEROIDE	PRESENCIA DE MENOS DE 1000 BLASTOS EN SANGRE PERIFÉRICA EN EL DÍA 0	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presente Ausente
PRESENCIA DE GENES MULTIDROGORESISTENCIA (ABCB1 Y ABCG2)	EXPRESIÓN DE MDR DEFINIDA POR PCR EN TIEMPO REAL	Cuantitativa Continua	Negativo Expresión baja Expresión alta
PRESENCIA DE BLASTOS EN MEDULA ÓSEA	DISMINUCIÓN DEL CONTEO DE BLASTOS EN EL DÍA +8 A	Cualitativa	Presente

AL DIA +8	MENOS DEL 50% DEL DIAGNOSTICO	Nominal Dicotomica	Ausente
RIESGO	SI CUENTA CON LOS 3 FACTORES DE RIESGO ANTES MENCIONADO	Cualitativa Nominal Dicotomica	Presente Ausente
RESPUESTA AL TRATAMIENTO	PACIENTES QUE AL FINAL DEL TRATAMIENTO TIENES MENOS DE 5% DE BLASTOS EN MEDULA OSEA	Cualitativa Nominal Dicotomica	Presente Ausente
INFILTRACION A SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	PRESENCIA DE MAS DE 5 BLASTOS EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO	Cualitativa Nominal dicotomica	Presente Ausente
EDAD	EDAD CUMPLIDA EN AÑOS AL DIAGNOSTICO	Cualitativa Nominal dicotomica	Menor de 35 años Mayor a 35 años
PRESENCIA DE ROMPIMIENTO MENOR	TRASLOCACION 9:22	Cualitativa Nominal Dicotomica	Presente Ausente

Tabla 4: Definición de Variables

✓ Procedimiento.



✓ Análisis de expresión de los genes ABC por tiempo real

- a) Separación de células mononucleares: Se colectaron muestras de medula ósea de los pacientes diagnosticados con leucemia linfocítica aguda, usando una jeringa previamente heparinizada para evitar la coagulación. Las muestras obtenidas se mezclaron a una proporción 1:1 suavemente con solución de fosfatos (PBS 1X). Una vez homogenizada se empleó Ficoll-Hypaque (Lymphoprep, Nycomed Pharmacia AS Oslo, Norway) utilizando aproximadamente 1/3 del volumen total de sangre. Las muestras se centrifugaron a 1500 g por 30 minutos a una temperatura de 4°C. Posteriormente se observaron las interfases de sangre, ficoll, mononucleares y plasma y se separaron las células mononucleares con pipeta Pasteur. Se centrifugarán a 2500 g durante 10 minutos. Las células fueron almacenadas a -85 °C hasta su uso.
- b) Extracción de RNA: El RNA total se aisló de las células mononucleares obtenidas de los pacientes con leucemia linfocítica aguda así como de las líneas celulares mediante el uso de Trizol® (Invitrogen, Life Technologies Carlsbad, CA) de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. Se homogenizó el paquete celular con 1ml de Trizol® y se incubó la muestra durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se le adiciono 0.2 ml de cloroformo y se agitó durante 15 segundos centrifugando a 12,000 g durante 15 minutos a 4° C. Después de la centrifugación se observaron tres fases: En la parte inferior rojo (Trizol); en la intermedia blanco (DNA y proteínas) y en la superior (RNA). Se recuperó esta última y se procedió a la

precipitación con isopropanol incubando a -20°C durante 15 minutos, repitiendo las condiciones de centrifugación. El pellet se lavó con etanol al 75% y se re suspendió en agua con DPEC. Para linealizar el RNA se incubó a 70°C durante 10 minutos.

- c) Síntesis de cDNA: El cDNA de los pacientes, se sintetizó a partir de 2500 ng de RNA total a su volumen final de 25 μl . El RNA se mezcló con 1 μl de Oligo dT (PROMEGA, Madison WI, USA) y el volumen correspondiente de Agua Inyectable; se incubó a $70^{\circ}\text{C}/10'$. Luego se añadió 6 μl de buffer 5x (250 mM Trish – HCL, pH 8.4, 500 mM kcl, 25 mM MgCl_2 , 10 mM DTT) (PROMEGA, Madison WI, USA), 3 MCL DE dNTPs 10 mM (Invitrogen, Life Technologies Carlsbad, CA) 1 μl de transcriptasa reversa MML-V (200 U/ μl) (PROMEGA, Madison WI, USA). Incubando a $37^{\circ}\text{C}/50'$. La enzima MML-V se inactivó incubando la muestra a $70^{\circ}\text{C}/10'$.
- d) Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real : Se midieron los niveles de expresión de mRNA de los genes ABCB1 (Hs01069047), ABCG2 (Hs0105379) y gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH; Hs00985689) usando el ensayo de expresión génica TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). El gen GAPDH se usó como un control endógeno, y cada muestra se analizó por triplicado. Los niveles de expresión relativa se calcularon utilizando el método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ con médula ósea como calibrador. Los puntos de corte de alta y baja expresión se determinaron por los valores medios observados en donantes sanos. (11)
- ✓ **Análisis estadístico.** Estadística: No paramétrica Xi cuadrada, análisis de regresión de Cox, curva de supervivencia de kaplan meyer, con log Rank test. Análisis de riesgo relativo y estadística no paramétrica Significancia estadística: Prefijada en $p < 0.05$ con un intervalo de confianza del 95%.

RESULTADOS

Se estudiaron un total de 58 pacientes, en su mayoría del género masculino (n=36, 62%). La media de edad de todos los pacientes fue de 33 años (rango 17- 68 años) siendo ligeramente mayor en el género femenino (35 años v 31 años) pero sin mostrarse una diferencia significativa (p= 0.234, 95% IC). De manera inicial todos los pacientes se les administró la terapia de inducción a la remisión en conjunto con un pre-tratamiento con dosis progresivas de esteroides para valorar la respuesta favorable a estos. Para considerar el tipo de riesgo clínico se evaluó tanto el corte de edad (mayor de 35 años), la cuenta de leucocitos (>30 x 10³/mcl), la presencia de BCR:ABL1 y la infiltración al SNC al momento del diagnóstico. La expresión del oncogen BCR:ABL1 fue del 3.4% (n=2), semejante a la infiltración al SNC al momento del diagnóstico (n=2). La frecuencia de los diferentes factores se describen en la TABLA 4. En cuanto a los puntos de riesgo se evaluó inicialmente la expresión de la Glicoproteína-p (ABCB1) dividiendo a los pacientes acorde a los diferentes tipos de expresión. En su mayoría la expresión fue clasificada como baja (n=20, 34.5%), seguido de la expresión ausente (n=20, 34.5%) y la expresión alta (n=18, 31%). También se midió la expresión de ABCG2 clasificando a los pacientes semejante a lo realizado para ABCB1, pero a diferencia de este la mayoría se clasificó como de expresión negativa (n=33, 56.9%), seguido de la expresión elevada (n=13, 22.4%). En caso de mostrar una expresión elevada de cualquiera de los dos transportadores (ABCB1 o ABCG2) se consideró como un factor de riesgo. La respuesta favorable a los esteroides (< 1000 x 10³/mcl Blastos al final del Pre-tratamiento) se consideró como el segundo punto de riesgo, esta se presentó en un 58.6% de los casos (n=34) y su ausencia se consideró como un factor de riesgo (n=24, 41.4%). El resultado de la presencia de Blastos en Médula ósea en el día +8 de tratamiento (posterior a la dosis de Daunorrubicina y Vincristina) se consideró como el último punto de riesgo, alrededor de un 58.6% (n=34) persistía con Blastos posterior al primer ciclo de tratamiento, considerándose este como un factor de riesgo de falla al esquema de inducción a la remisión. (TABLA 5)

VARIABLES CLÍNICAS		n = (%)
VARIABLES CLÁSICAS DE RIESGO		
Género		
Masculino		36 (62%)
Femenino		22 (38%)
Leucocitos (x 10³/mcl)		
> 30 x 10 ³ /mcl		24 (41.4%)
< 30 x 10 ³ /mcl		34 (58.6%)
Edad (años)		
>35 años		24 (41.4%)
<35 años		34 (58.6%)
Infiltración al SNC al diagnóstico		
Presente		2 (3.4)
Ausente		56 (96.6)
Expresión del oncogen BCR:ABL1		
Presente		2 (3.4)
Ausente		56 (96.6)
Alteraciones citogenéticas		
Cariotipo normal		48 (82.8)
Cariotipo no valorable		09 (15.5)
Hiperdiploidia		01 (1.7)

VARIABLES INCLUIDAS EN EL NUEVO MODELO	
ABCB1 (Punto Número 1)	
Expresión baja	20 (34.5)
Expresión alta (1 punto)	18 (31.0)
Negativo	20 (34.5)
ABCG2(Punto Número 1)	
Expresión baja	12 (20.6)
Expresión alta (1 punto)	13 (22.4)
Negativo	33 (56.8)
Respuesta Favorable a esteroides (Punto Número 2)	
Presente	34 (58.6)
Ausente (1 punto)	24 (41.4)
Presencia de Blastos en MO al día +8 (Punto Número 3)	
Ausencia de Blastos	30 (51.7)
Falla terapéutica (1 punto)	34 (58.6)
GRUPOS DE RIESGO ACORDE AL PUNTAJE	
0 Puntos	04 (6.9)
1 punto	13 (22.4)
2 puntos	13 (22.4)
3 puntos	28 (48.3)

Tabla 5: Frecuencia de las diferentes variables clínicas

En cuanto a los factores de riesgo tradicionales, se encontraron 24 pacientes mayores de 35 años de los cuales el 50% (n=12) alcanzaron remisión completa, en cuanto a los leucocitos mayores a 30.000 se encontraron 22 pacientes, de estos el 50% (n=11) de la misma manera alcanzaron remisión completa. De los 2 pacientes que tenían positiva la t 9;22 ambos alcanzaron remisión completa. Solo 2 pacientes contaban con infiltración a sistema nervioso central, solo 1 alcanzó remisión completa. En total 37 pacientes contaban con criterios de alto riesgo alcanzando remisión completa el 57% (n= 21) de estos, siendo estos porcentajes ninguno estadísticamente significativo.

Por otro lado en cuanto los puntos de riesgo evaluados para este estudio se encontró que 4 pacientes no contaban con puntos de riesgo alcanzando estos el 100% remisión. Trece pacientes contaban con 1 solo punto de riesgo, de estos el 87% (n=11) alcanzaron remisión. En cuanto a los que contaban con 2 puntos, se encontraron 13 pacientes, de estos el 54%, (n=7) alcanzaron remisión. Y aquellos que contaban con los 3 puntos de riesgo fueron 28 pacientes integrando remisión el 39% (n=11), observándose un descenso en el porcentaje de remisión, inversamente proporcional al número de factores de riesgo encontrados, aunque ninguno de ellos estadísticamente significativo. Pero al estratificar el riesgo de acuerdo al número de puntos como alto a aquellos que solo contaban con 2 o 3 puntos si se encontró una relación directa con el porcentaje de remisión disminuyendo este a 39% (n=11) con una p de 0.010.

Al analizar por separado cada uno de los puntos de riesgo 28 pacientes contaban con blastos en el aspirado de médula ósea al día 8 de tratamiento integrando remisión completa solo el 36% (n=10) de estos con siendo este un factor pronóstico importante con una p de 0.0002. En cuanto a la expresión elevada de genes multidrogoresistentes al diagnóstico se encontraron 38 pacientes con expresión elevada de ABCB1, 50 % (n=19) de ellos alcanzando remisión completa. 46 pacientes contaban con expresión elevada de ABCG2, 54% (n=25) alcanzaron remisión completa, ninguno

de estos teniendo una relacion significativa en el resultado final. Por último la ausencia de respuesta favorable a esteroides se encontro en 24 pacientes, de estos solo el 37% (n=9) alcanzaron remision completa, siendo esta igualmente una asociacion desfavorable para alcanzar respuesta al tratamiento con una p de 0.014. (TABLA 6)

VARIABLES	INDUCCIÓN A LA REMISIÓN			
	RC	Falla	OR	Valor de p
Edad >35 años	12 (50%)	12 (50%)	1.6154 (0.56-4.65)	0.374
Leucocitos > 30 x 103/mcl	11 (50%)	11 (50%)	1.5714 (0.53-4.58)	0.408
BCR:ABL1	02 (100%)	00	0.2471 (0.01-5.38)	0.373
LCR	01 (50%)	01 (50%)	0.7500 (0.04 -12.60)	0.841
RIESGO ALTO	21 (57%)	16 (43%)	1.0159 (0.34- 2.99)	0.977
WARNING SCORE				
a. 0 puntos	04 (100)	00		
b. 1 punto	11 (87%)	02 (13%)	01.95 (0.077- 49.266)	0.683
c. 2 puntos	07 (54%)	06 (46%)	07.80 (0.349- 173.98)	0.194
d. 3 puntos	11 (39%)	17 (61%)	13.69 (0.671-279.25)	0.088
PUNTAJE				
Riesgo bajo (0-1)	22 (73%)	08 (27%)		
Riesgo elevado (2-3)	11 (39%)	17 (61%)	4.2500 (1.401- 12.88)	0.010*
VALOR DE UNA DE LAS VARIABLES				
Blastos en MO al día +8	10 (36%)	18 (64%)	5.9143 (1.881-18.6046)	0.0002*
ABCB1 expresión elevada	19 (50%)	19 (50%)	2.3333(0.739-7.3581)	0.1482
ABCG2 expresión elevada	25 (54%)	21 (46%)	1.6800(0.442-6.3720)	0.445
Ausencia de RFE	9 (37%)	15 (63%)	4.0000 (1.3212-12.11)	0.014*

Tabla 6: Porcentaje de asociacion de los factores de riesgo y la presencia de remision completa a las 4 semanas

En cuanto a los pacientes que presentaron recaída durante el seguimiento posterior a integrar remision durante el primer mes de tratamiento se observo en los pacientes mayores de 35 años, 4 de los 12 pacientes que habian integrado remision presentaron recaída. En cuanto a los que tenian mas de 30.000 leucocitos al diagnostico de los 11 que integraron remision 5 presentaron recaída. Así mismo de los pacientes con positividad para BCR: ABL1, los 2 presentaron recaída. Sin haber cambios en aquellos con infiltracion a sistema nervioso central al diagnostico.

En cuanto a los puntos de riesgo se encontro que aquellos que contaban con 1 punto de riesgo 5 de ellos presentaron recaída, al igual que los pacientes que contaban con 3 puntos de riesgo 4 presentaron recaída, siendo igual este numero en los pacientes que se catalogaron como riesgo elevado. De los pacientes que tenian blastos en la médula ósea al día +8, 3 de los pacientes que habian alcanzado remision presentaron recaída, nuevamente con una asociacion directa con una p de 0.016. Para aquellos con expresion elevada de genes multidrogosistentes (ABCB1, ABCG2), igual 3 pacientes presentaron recaída en cada uno de estos grupos. De los pacientes que tenian ausencia favorable a esteroides 3 presentaron recaída, siendo nuevamente una asociacion directa con una p de 0.001. (TABLA 7)

VARIABLES	RECAÍDA			
	Continúan En RC	Recaída	OR	Valor de p
Edad >35 años	08 (33%)	16 (67%)	1.7778 (0.60- 5.25)	0.297
Leucocitos > 30 x 103/mcl	06 (27%)	16 (73%)	2.6667 (0.85 -8.36)	0.092
BCR:ABL1	00	02 (100%)	3.7692 (0.173-82.12)	0.398
LCR	01 (50%)	01 (50%)	0.6970 (0.041-11.72)	0.802
RIESGO ALTO	13 (36%)	24 (65%)	2.0308 (0.682-6.042)	0.202
WARNING SCORE				
a.0 puntos	03 (75%)	01 (25%)		
b.1 punto	06 (46%)	07 (54%)	3.5000(0.2838-43.16)	0.328
c.2 puntos	08 (61%)	05 (39%)	1.8750(0.1503-23.39)	0.625
d.3 puntos	07 (25%)	21 (75%)	9.0000(0.807-101.15)	0.075
PUNTAJE				
Riesgo bajo (0-1)	17 (57%)	13 (43%)		
Riesgo elevado (2-3)	07 (25%)	21 (75%)	3.9231(1.280-12.01)	0.016**
VALOR DE UNA DE LAS VARIABLES				
Blastos en MO al día +8	7(25%)	21 (75%)	3.9231 (1.280-12.01)	0.016**
ABCB1 expresión elevada	16 (42%)	22 (58%)	0.8777 (0.304-2.761)	0.877
ABCG2 expresión elevada	18 (40%)	28 (60%)	1.5556 (0.4337-5.57)	0.678
Ausencia de RFE	06 (25%)	18 (75%)	9.000 (2.436-33.244)	0.001**

Tabla 7: Porcentaje de asociación de los factores de riesgo y la presencia de recaída

En este estudio, presentamos el resultado de 58 pacientes con diagnóstico de LLA tratados en un solo centro. El objetivo principal de este análisis prospectivo fue encontrar la correlación de 3 puntos de riesgo en la terapia de inducción a la remisión como predictores de falla al tratamiento. También se evaluó la influencia de factores de riesgo tradicionales como la edad, el cariotipo, el recuento de glóbulos blancos, el tiempo de tratamiento y, en consecuencia, el protocolo de quimioterapia utilizado durante el periodo de inducción.

La LLA tiene un buen pronóstico en los niños, pero mucho menos favorable en los adultos. La remisión completa (CR) se puede esperar en > 95% de los pacientes pediátricos, y aproximadamente el 80% de los niños parecen estar curados. Las tasas de respuesta inicial a la quimioterapia combinada moderna en adultos son casi tan altas como las observadas en niños, sin embargo, la posibilidad de recaída y el riesgo de mortalidad relacionada con el tratamiento son ambos considerablemente más altos en los adultos. La cuestión acuciante es si los diferentes resultados en la LLA para la infancia y el adulto están determinados por diferencias en la biología de la enfermedad o resultan de un enfoque o tolerancia diferente de la terapia. Hay cambios evidentes en la biología de la enfermedad con la edad; En particular, la incidencia de las categorías citogenéticas de "alto riesgo", como la LLA positiva para el cromosoma Filadelfia, la cual representa el 20-30% de los casos de LLA en adultos, mientras que es poco frecuente (3-4%) en niños. Por el contrario, existe una acumulación de evidencia que sugiere que un enfoque pediátrico a la terapia podría dar supervivencia superior a un enfoque de adultos en adolescentes y adultos jóvenes con LLA.

Es por ello que a pesar de la incidencia relativamente baja de LLA en adultos, se han logrado progresos sustanciales en los resultados a finales del siglo XX y principios del siglo XXI, en gran parte debido a las grandes colaboraciones nacionales e internacionales. Los informes recientes indican tendencias positivas en la supervivencia con un aumento dependiente de la edad de 14-20% en los años 2000-2004 en comparación con 1980-1984. Al mejorar la estratificación de riesgo inicial, la intensificación de la fase de inducción de los protocolos de tratamiento, manejo agresivo de la enfermedad del sistema nervioso central (SNC), derivación temprana para el trasplante alogénico de células hematopoyéticas (TCH) para LLA de alto riesgo, mejoras en el tratamiento de soporte e introducción de la nueva terapia dirigida ha contribuido a un progreso continuo en pacientes adultos con LLA. Siendo así que la evaluación cuidadosa del riesgo de recaída en pacientes con LLA individuales asegura que los tratamientos muy intensivos y, por lo tanto, potencialmente perjudiciales sólo se administran a los casos de alto riesgo, evitando así excesivas toxicidades y mortalidad relacionada con el tratamiento, por lo que cobra relevancia los puntos de riesgo que se plantean en este estudio. (28)

La importancia de un factor de riesgo individual debe considerarse dentro del contexto del régimen de tratamiento particular, ya que los cambios en la terapia pueden alterar la importancia pronóstica de los factores. Varias características relacionadas con el paciente y la leucemia se han identificado como predictores significativos del resultado y se utilizan para determinar el "grupo de riesgo" de un paciente con el fin de estratificar la intensidad de la

terapia administrada. Estos factores pronósticos son: El aumento de la edad, el mayor recuento de glóbulos blancos, la respuesta lenta a la terapia inicial, la presencia de una enfermedad residual mínima y, lo que es más importante, la presencia de aberraciones citogenéticas adversas están todos asociados con malos resultados. La presencia de enfermedad del SNC en el momento del diagnóstico también se asocia con un resultado adverso y requiere terapia específica.

De lo anteriormente mencionado uno de los más importantes es el conteo de los glóbulos blancos (WBC) al momento del diagnóstico teniendo un efecto pronóstico significativo. Aunque el WBC es un continuo, para propósitos de estratificación estadística, se han calculado límites de mal pronóstico de 30.000/L para los pacientes con LLA de estirpe B y 100.000/L para aquellos de estirpe T. El aumento del WBC por encima de estos umbrales tiene un impacto pronóstico en todos los resultados clínicos, incluyendo respuesta inicial, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global. Los pacientes con leucocitosis extrema/blastemia ($> 400.000/L$) tienen alto riesgo de complicaciones precoces y mortalidad por hemorragia del SNC, eventos pulmonares y neurológicos debidos a leucostasis; además del riesgo de desarrollo de síndrome de lisis tumoral. Este ítem también toma relevancia ya que el WBC elevado se asocia frecuentemente con otras características de alto riesgo, especialmente aberraciones citogenéticas desfavorables como t (4; 11) y t (9; 22).

En nuestro estudio se evidenció que aquellos pacientes que contaban con un conteo de glóbulos blancos mayor a 30.000/L al momento del diagnóstico no tenían desenlace diferente de aquellos que tenían un conteo menor a dicha cifra, encontrándose que la mitad de ellos integraban remisión y la otra mitad no ($p:0.408$).

La edad es una variable pronóstica continua, con resultados cada vez peores con el avance de la edad. Este efecto se observa en toda la gama pediátrica, adolescente, adultos y ancianos. Varias observaciones podrían explicar esta correlación. Los cuales incluyen cambios evidentes en la biología de la enfermedad, es decir, la incidencia de anomalías citogenéticas de alto riesgo (LLA cromosoma Filadelfia positivo); además de las diferencias claras en la tolerancia del tratamiento entre pacientes jóvenes y mayores, lo que resulta en una mayor tasa de reacciones adversas medicamentosas (particularmente durante la inducción de la remisión) y frecuentes compromisos en la intensidad del tratamiento debido a esto. (29)

Lo encontrado en este estudio al igual que las cifras de glóbulos blancos, no se veía influenciada la tasa de remisión al aumentar la edad, ya que la mitad de los pacientes mayores de 35 años, integraron remisión a las 4 semanas, aunque sí influenciaba en la probabilidad de recaída durante la consolidación con un porcentaje de recaídas durante esta etapa del 67%, aunque sin ser significativamente estadístico ($p: 0.297$).

En cuanto a la t(9;22) que produce el gen de fusión BCR (región de agrupamiento de punto de corte) en el cromosoma 22 al gen ABL (Abelson) en el cromosoma 9, es decir, el cromosoma de Filadelfia (Ph), es en una proteína quinasa constitutiva que altera múltiples vías de señalización, el control de la proliferación, la supervivencia y la auto-renovación de las células madre hematopoyéticas. Asociándose con las características clínicas de alto riesgo de la edad avanzada y mayor WBC, prediciendo resultados de tratamiento pobres, incluyendo menor probabilidad de respuesta inicial al

tratamiento (68,4% versus 84,6%) (18). A pesar de ello en nuestros resultados se encontró que los 2 pacientes que presentaban positividad a al mismo integraron remisión, pero ambos presentaron recaída.

La respuesta al tratamiento está determinada por toda la constelación de características biológicas de células leucémicas, farmacodinámica y farmacogenómica del huésped, la intensidad de los regímenes administrados y el cumplimiento del tratamiento. Por lo tanto, no es sorprendente que la rapidez y el grado de reducción de la carga de células leucémicas durante la terapia inicial sean predictores independientes y poderosos del resultado tanto en pacientes de riesgo bajo como de alto riesgo, definidos por las características clínicas y biológicas en el momento del diagnóstico . (28)

La respuesta temprana a la terapia inicial ha sido demostrada consistentemente como un predictor importante del resultado. Los pacientes que no alcanzan la remisión morfológica después del primer mes de tratamiento tienen un peor pronóstico. Se ha demostrado que otros medios para evaluar la rapidez de la respuesta a la terapia inicial, como la respuesta de la sangre periférica después de una profase de esteroide, la respuesta de sangre periférica temprana en la terapia de inducción y la respuesta de médula ósea en los primeros tiempos de inducción. Una respuesta lenta o tardía a la quimioterapia de inducción se ha definido de 3 maneras: persistencia de las blastos en sangre periférica después de 7 días de terapia con esteroide, se define como resistencia a los mismos; la persistencia de blastos de médula ósea después de 7, 14 o 21 días de quimioterapia de inducción, o quimioresistencia; y la enfermedad residual mínima (MRD) determinada por técnicas sofisticadas después de la finalización del tratamiento de inducción. (30)

Varios grupos de estudio han evaluado una variedad de estimaciones de respuesta temprana como factores pronósticos para la estratificación del tratamiento en la LLA. Esto incluye la respuesta de prednisona, el conteo de blastos de la médula ósea del Día +8 y los niveles de enfermedad residual mínima. Desde 1986, los ensayos clínicos alemanes Berlin-Frankfurt-Munster (BFM) han demostrado de forma consistente que la respuesta temprana del paciente a la prednisona es uno de los factores pronósticos más importantes. En los protocolos BFM, la terapia para todos los pacientes comienza con 7 días de prednisona como monoterapia al igual que la utilizada en nuestro protocolo institucional. El número absoluto de blastos leucémicos en la sangre periférica en el día 8 se determina entonces. Los pobres respondedores de prednisona en el protocolo del BFM tuvieron un conteo total de blastos de 31.000/L el día 0. Mismos que comprendían el 10% de todos los pacientes, y que tenían un resultado significativamente más pobre. Más importante, esto sugirió que la resistencia a la terapia ya está presente en el diagnóstico inicial y la detección de la resistencia temprana a la terapia que permite estratificar de manera fiable a los pacientes para mejorar el resultado final. (31)

Así mismo el protocolo italiano GIMEMA LAL 0288, muestra que la respuesta favorable a esteroides representa un factor independiente para el pronóstico. Encontrando que la supervivencia a 8 años es de 33% (95% CI, 28%-38%) para aquellos que responden a prednisona y del 17% (95% CI, 12%-23%) para aquellos que no tuvieron respuesta (*P* .0001). (32, 33)

Siendo esto también demostrado en nuestros resultados en los que se evidencio la correlación directa entre la pobre

respuesta al esteroide y la incapacidad de integrar remisión en el tratamiento de inducción a la remisión (p: 0.014), además del porcentaje de recaídas durante el tratamiento de consolidación.

Por otro lado la presencia de blastos en el aspirado de médula ósea en el día +8 de tratamiento al igual que lo ya mencionado en estudios previos, se muestra que tiene un impacto significativo en la tasa de respuesta al tratamiento de inducción a las 4 semanas, sin presencia de remisión en el 64% de los pacientes con una p de 0.002, mostrando esto una correlación directa.

Esto también fue demostrado por John T. Sandlund y cols. Del St Jude Children's Research Hospital en el que se evidencia que La supervivencia libre de eventos a 5 años fue significativamente peor en los pacientes con blastos en el día 15 (AMO +8) (40% +/- 6%) o en los días 22 a 25 (4% +/- 3%) en comparación con aquellos sin blastos en estas fechas (78% +/- 2% y 76% +/- 2%, respectivamente, P <0,001 para ambas comparaciones). Un peor pronóstico se observó incluso en pacientes con un bajo porcentaje de blastos al día 15 (AMO +8), con una supervivencia libre de enfermedad a 5 años de 56% +/- 8%. (34)

De la misma manera Melchior Lauten y cols. en su artículo **Prediction of outcome by early bone marrow response in childhood acute lymphoblastic leukemia treated in the ALL-BFM 95 trial: differential effects in precursor B-cell and T-cell leukemia** encontraron que las probabilidades de supervivencia libre de eventos a 8 años fueron del 86,1% para aquellos que tenían menos de 5% de blastos, 74,5% para los que tenían de 5 a 25% de blastos y 46,4% en los que tenían mas de 25% de blastos en el aspirado de médula ósea del día +8. En comparación con la respuesta a la prednisona, la respuesta de la médula del día +8 fue superior en la predicción de los resultados en la leucemia de estirpe B. No siendo así en aquellas de estirpe T con respuesta pobre a la prednisona independiente de la respuesta de la médula del Día 15, ya que estos tenían presentaban menor tasa de remisión. (35)

La pobre respuesta a esteroides también es confirmada como factor adverso para alcanzar remisión por Wei Wei y cols de la Academia China de Ciencias Medicas y la Unión Medica de Peking quienes describen la fuerte asociación con la mayor probabilidad de fracaso de inducción (14,8%) y disminución de la tasa de supervivencia (5 años EFS tasa, 51,1% (SE, 10,5). También reportando en dicho estudio que los pacientes con blastos \geq 25% en la médula ósea al día +8 tenían más probabilidad de tener un resultado inferior. Con una supervivencia libre de enfermedad a 5 años de 73.7% para los que tenían 5% de blastos, 61.3% para los que tenían de 5 a 25% y de 50% para aquellos que tenían mas de 25%. (36)

La caracterización genética y molecular de cohortes de pacientes con LLA sólo puede proporcionar información sobre grupos enteros. Los resultados para individuos dentro de tales grupos dependerán de múltiples factores, incluyendo farmacocinética de fármaco, que se relaciona con el metabolismo y la excreción de los mismos, y la farmacodinámica, que se ven afectados por la eficacia directa en la célula leucémica y la toxicidad para las células normales. Existe una enorme variación entre los pacientes individuales, que está influenciada por el metabolismo de los fármacos, los niveles de enzimas y diversos mecanismos de transporte.

Respecto a las leucemias agudas los estudios han demostrado que los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) y leucemia linfoblástica aguda (LLA) que no sobreexpresan a ABCB1 en sus células tienen una tasa de remisión completa después del tratamiento de inducción de 89% y 93 %, descendiendo al 53% y al 56% respectivamente en aquellos con sobreexpresión (37, 38). En LMA, se ha estimado que la incidencia de la sobreexpresión de Pgp por métodos inmunohistoquímicos oscila entre 30% y 40% al momento del diagnóstico, esta proporción aumenta hasta un 70% en el momento de la recaída, correlacionando en este caso con la refractariedad al tratamiento. Varios estudios han demostrado claramente la expresión de Pgp en especímenes de LMA en el diagnóstico con posibilidades significativamente más bajas de lograr la remisión durante la inducción. La tasa de remisión completa para el tratamiento de inducción fue del 89% en los casos Pgp (-) y 53% en los casos Pgp (+), siendo mayor su expresión en los subtipos M4 y M5. Así mismo se ha correlacionado significativamente con una supervivencia libre de enfermedad y una supervivencia global más corta. También se ha comprobado una mayor expresión de esta proteína y la expresión de CD34 en los blastos, dando mal pronóstico la presencia de estos marcadores al momento del diagnóstico. (39 , 40)

En cuanto a la expresión de genes multidrogoresistente al diagnóstico se evidenció que la presencia de los mismos no cuenta con una correlación directa en cuanto a la capacidad de integrar remisión al finalizar el tratamiento de inducción, aquellos pacientes con expresión elevada de las mismos presentaron el mismo porcentaje de remisión y de refractariedad, con una p de 0.148 para ABCB1 y de 0.445 para ABCG2.

Lo anterior podría ser explicado por los polimorfismos que pueden presentar en cada uno de los genes de multidrogoresistencia, siendo estos responsables de las diferencias interindividuales en la farmacocinética y la respuesta clínica de determinados fármacos antileucémicos, por lo tanto los datos obtenidos en diferentes series no son reproducibles y aún no son lo suficientemente concluyentes como para traducir las pruebas farmacogenéticas a la práctica clínica. En este contexto, los polimorfismos en los transportadores ABCB1 y ABCG2 no son todavía adecuados para ser utilizados como biomarcadores para predecir la respuesta terapéutica en leucemias.

Para una comprensión completa de la contribución de la variabilidad genética en los genes MDR, la respuesta al tratamiento y la toxicidad en leucemias, estudios adicionales que impliquen mayor tamaño de la muestras y la estratificación de acuerdo con el haplotipo de cada uno de los genes deben llevarse a cabo. Debido a las diferentes respuestas a los tratamientos en cada población, sería importante considerar uniformidad en los sujetos seleccionados, en cuanto edad, tamaño de la muestra, factores ambientales, y técnicas de medición utilizada en estudios realizados previamente. Por lo anterior se debería considerar no solo la detección de la expresión de los genes sino también los polimorfismos específicos encontrados, siendo reportados en la literatura mas de 1200 polimorfismos de cadena simple (SNPs), encontrándose entre los mas investigados 1236C>T, 2677G>T, y 3435C>T, en ABCB1, localizados en los exones 12, 21 y 26, respectivamente. Siendo el último de ellos el que esta mejor caracterizado e identificado en la resistencia a medicamentos e infecciones asociadas a tratamiento (41)

De lo anterior se establece que los genes de multidrogoresistencia, la respuesta favorable a esteroides (RFE) y la presencia de blastos en el aspirado del día+8, tienen un impacto en el primer mes de tratamiento, pero son la RFE y principalmente el AMO del día +8 los que se comportan como un mayor OR de falla y recaída. Siendo esto acorde con literatura previa en la que se toman estos dos puntos como clave al momento de determinar aquellos que fallaran en integrar remisión al finalizar las 4 semanas de tratamiento de inducción. Estos dos, aunado a la expresión elevada de genes multidrogoresistencia aumenta la probabilidad de determinar cuales pacientes no tendrán respuesta al tratamiento convencional, y aquellos con un puntaje más elevado son los que presentaron finalmente el OR más alto e inclusive mayor que lo que establecían las variables clínicas clásicas.

La importancia de estos tres puntos de riesgo es que no solo se toman características propias de la célula leucémica, sino también la farmacocinética y farmacodinámica de los medicamentos que se utilizan en el esquema de tratamiento, con lo cual se puede ajustar de manera más apropiada dosis y medicamentos de acuerdo a cada individuo en particular, y así disminuir el porcentaje de refractariedad y recaídas tempranas, aumentando así la supervivencia libre de enfermedad.

CONCLUSIONES

Si bien los resultados globales han mejorado en los últimos tres decenios, la supervivencia a largo plazo de los pacientes de menos de 60 años es sólo del 30-40%, del 10-15% si entre 60 y 70 años y <5% Los mayores de 70 años. La falta histórica de factores pronósticos biológicos claros ha llevado a sobre o bajo tratamiento de algunos pacientes.

La respuesta a la terapia inicial es el factor pronostico mas importante del resultado basado en la biología de la enfermedad, así como la farmacogenética, que incluyen la respuesta del paciente a los fármacos administrados. Igualmente importante al considerar factores pronósticos, es el grado de significancia de cada uno de ellos, de tal manera que dos factores que pueden ser verdaderamente independientes pueden tener una influencia bastante desigual en el resultado. Además del grado de significación, el tamaño del efecto, determinado por la razón de riesgo, también es importante. Siendo esto relevante en nuestro estudio ya que se demostró que el factor de riesgo mas importante es la persistencia de blastos al día +8 de tratamiento, siendo esto acorde con estudios realizados previamente. Pero al encontrar los 3 factores de riesgo en un mismo paciente este riesgo se incrementaba.

En conclusion, se deberia analizar con estudios dinamicos, la posibilidad de cambio de tratamiento de manera temprana a aquellos pacientes que cumplan los 3 criterios de riesgo durante los primeros 15 dias, ya que asi se podrá disminuir la tasa de refractariedad y recaída, además de disminuir la positividad de enfermedad mínima residual al finalizar la inducción, siendo este demostrado como el factor pronostico actual mas importante para determinar la necesidad de trasplante de células madres hematopoyéticas.

BIBLIOGRAFIA

1. Guía de Referencia Rápida: Leucemia linfoblástica aguda del adulto (Catalogo Maestro de Guías de Práctica Clínica: IMSS-142-08 Consejo de Salubridad Nacional)http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/142_GPC_LEUCEMIA_LINFOBLASTICA/Imss_RR.pdf
2. Jacob M. Rowe, Georgina Buck, Alan K. Burnett, et al. Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ECOG E2993. *BLOOD*; Diciembre 2005. (104), 3760-3767.
3. M. Hong. Biochemical studies on the structure–function relationship of major drug transporters in the ATP-binding cassette family and solute carrier family. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.003>
4. X.Q. Yu, C.C. Xue, G. Wang, S.F. Zhou. Multidrug resistance associated proteins as determining factors of pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs, *Curr. Drug Metab.* 8 (2007) 787–802.
5. W. Mo, J.T. Zhang, Human ABCG2: structure, function, and its role in multidrug resistance *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* 2012. (3). 1–27.
6. Balderas, C. Impacto clínico de los niveles de expresión de los genes de resistencia a multidrogas (ABC-B1 Y ABC-G2) en pacientes con leucemia linfoblástica aguda del Hospital General de México. Tesis de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. 2013.
7. Rabello de Moraes A, Klein Maranhão C, Schneider Rauber C, Santos-Silva C. Importance of Detecting Multidrug Resistance Proteins in Acute Leukemia Prognosis and Therapy. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 2013. (27) 62–71
8. Cindy Q. Xia and Peter G. Smith. Drug Efflux Transporters and Multidrug Resistance in Acute Leukemia: Therapeutic Impact and Novel Approaches to Mediation. *Mol Pharmacol.* 2012.(82):1008–1021.
9. Copsel, S., Bruzzone, A., May, M., et al. Multidrug resistance protein 4/ATP binding cassette transporter 4: a new potential therapeutic target for acute myeloid leukemia. *Oncotarget*, 2014. (5) 9308–9321
10. H Janiszewska, J Styczynski, B Kolodziej et al. Changes in the MDR1 gene expression after short-term ex vivo therapy with prednisolone have prognostic impact in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol* (2009) 88:1193–1198
11. I. Olarte Carrillo, C. Ramos Peñafiel, E. Miranda Peralta. et al. Clinical significance of the ABCB1 and ABCG2 gene expression levels in acute lymphoblastic leukemia. *HEMATOLOGY*, 2016. 2-6
12. Kourti M, Vavatsi N, Gombakis N, et al. Expression of multidrugresistance 1 (MDR1), multidrugresistance-related protein 1 (MRP1), lungresistanceprotein (LRP), and breastcancerresistanceprotein (BCRP) genes and clinical outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol.* 2007;86(2):166–173.
13. Jamroziak K, Mlynarski W, Balcerzak E, et al. Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol.* 2004;72(5):314–321.

14. Stanulla M, Schäffeler E, Arens S, et al. GSTP1 and MDR1 genotypes and central nervous system relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol.* 2005;81(1):39–44.
15. Efferth T, Sauerbrey A, Steinbach D, et al. Analysis of single nucleotide polymorphism C3435T of the multi-drug resistance gene MDR1 in acute lymphoblastic leukemia. *Int Journal Oncol.* 2003;23(2): 509–518.
16. Jamroziak K, Balcerczak E, Cebula B, et al. Multi-drug transporter MDR1 gene polymorphism and prognosis in adult acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacol Rep.* 2005;57(6):882–888.
17. Ceppi F, Langlois-Pelletier C, Gagné V, et al. Polymorphisms of the vincristine pathway and response to treatment in children with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics.* 2014;15(8): 1105–1116.
18. Erdélyi DJ, Kamory E, Zalka A, et al. The role of ABC-transporter gene polymorphisms in chemotherapy induced immunosuppression, retrospective study in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cellular Immunol.* 2016;244:121–124.
19. Gregers J, Christensen IJ, Dalhoff K, et al. The association of reduced folate carrier 80G> A polymorphism to outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia interacts with chromosome 21 copy number. *Blood.* 2010;115(23):4671–4677.
20. Lauten, M; Möricke, A; Beier, R, et al. Prediction of outcome by early bone marrow response in childhood acute lymphoblastic leukemia treated in the ALL-BFM 95 trial: differential effects in precursor B-cell and T-cell leukemia. *Klin Padiatr* 2013; 225 (Suppl. 1): S50–S56.
21. Hiroto I, Ching-Hon P. Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukemia: comparison of prednisone and dexamethasone. *Lancet Oncol.* 2010 November ; (11):
22. Ramos C, Castellanos H, Martínez C, et al. Respuesta Favorable a Esteroides en pacientes con Leucemia Aguda Linfoblástica: Frecuencia e Impacto pronóstico. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 2010 Vol. 73, Núm. 4,
23. Schultz, K, Pullen, J, Sather H, et al. Risk and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG). *BLOOD*, 2007. (3).
24. Ramos C, Rozen E, Leon M, et al. Tratamiento de la leucemia linfocítica aguda del adulto. Experiencia de un hospital en la Ciudad de México. *Rev Med Chile* 2011; 139: 1135-1142
25. Kantarjian H, Thomas D, O'Brien S, et al. Long-Term Follow-Up Results of Hyperfractionated Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicin, and Dexamethasone (Hyper-CVAD), a Dose-Intensive Regimen, in Adult Acute Lymphocytic Leukemia. *CANCER*; December 15, 2004. 101 (12). 2788–2801
26. Morimoto A, Kuriyama K, Hibi S, et al. Prognostic Value of Early Response to Treatment Combined with Conventional Risk Factors in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Hematol.* 2005; (81): 228-234.
27. Tawa A, Inoue M, Ishihara S, et al. Increased expression of the multidrug-resistance gene in undifferentiated sarcoma. *Cancer.* 1990; (66): 1980-1983.
28. Shustov A.R. (2012) The Treatment of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): Risk Stratification and Strategies. In: Estey E., Appelbaum F. (eds) *Leukemia and Related Disorders.* Contemporary Hematology. Springer, New York, NY

29. Vrooman, L.M. & Silverman, L.B. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Prognostic Factors and Clinical Advances. *Curr Hematol Malig Rep.* 2016. (11): 385.
30. J Wook Lee, B Cho. Prognostic Value of Early Response to Treatment Combined with Conventional Risk Factors in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Korean J Pediatr* 2017;60(5):129-137
31. Hajizamani, S., Shahjahani, M., Shahrabi, S. et al. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: Role of BIM Protein in Prednisolone-Induced Apoptosis. *Clin Transl Oncol.* 2017. (4) 113 – 120
32. L Annino, M Vegna, A Camera, et, al. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): long-term follow-up of the GIMEMA ALL 0288 randomized study. *Blood.* 2002 volume 99, 863 - 871
33. Vignetti M, Fazi P, Cimino G, Martinelli G, Di Raimondo F, Ferrara F, et al. Imatinib plus steroids induces complete remissions and prolonged survival in elderly philadelphia chromo- some-positive patients with acute lymphoblastic leukemia without additional chemotherapy: results of the gruppo italiano malattie ematologiche dell'Adulto (GIMEMA) LAL0201-B protocol. *Blood.* 2007;109(9):3676–8.
34. T. Sandlund, L. Harrison, G. Rivera, et, al. Persistence of lymphoblasts in bone marrow on day 15 and days 22 to 25 of remission induction predicts a dismal treatment outcome in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood,* 2002. (100), 43 – 47
35. M, Lauten. A, Moricke. R, Beier, et al. Prediction of outcome by early bone marrow response in childhood acute lymphoblastic leukemia treated in the ALL-BFM 95 trial: differential effects in precursor B-cell and T-cell leukemia. *Haematologica,* 2012; 97(7) 1048 – 1056.
36. Wei Wei, Xiaojuan Chen, Yao Zou. Prediction of outcomes by early treatment responses in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study in China. *BMC Pediatrics* (2015) 15:80. 1 – 11
37. J. Goasguen, J. Dossot, O. Fardel. Et al. Expression of the Multidrug Resistance-Associated P-Glycoprotein (P-170) in 59 Cases of De Novo Acute Lymphoblastic Leukemia/ Prognostic Implications. *Blood,* 1993; (81). 2394-2398
38. J.A.Holmes, R.R.West. The effect of MDR-1 gene expression on outcome in acute myeloblastic leukaemia. *Br. J. Cancer.* 1994. (69) 382 - 387
39. Hunault M, Zhou D, Delmer A, Ramond S, et al. Multidrug resistance gene expression in acute myeloid leukemia/ Major prognosis significance for in vivo drug resistance to induction treatment. *Ann Hematol.* 1997 (2):65-71.
40. Shustik C¹, Dalton W, Gros P. P - glycoprotein - mediated multidrug resistance in tumor cells/ biochemistry, clinical relevance and modulation. *Mol Aspects Med.* 1995;16(1):1-78.
41. Gregers J, Green H, Christensen IJ, et al. Polymorphisms in the ABCB1 gene and effect on outcome and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J.* 2015;15(4):372–379.