



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Medikuntza Gradua / Grado en Medicina

# **Impacto pronóstico del índice proliferativo Ki-67 y el Índice Pronóstico Internacional en el linfoma de células del manto en la población de la provincia de Álava.**

Egilea /Autor:  
**Alberto Muñiz Abecia**  
Zuzendaria / Director/a:  
**Virginia Moreno Nieto**

© 2017, Alberto Muñiz Abecia

# IMPACTO PRONÓSTICO DEL INDICE PROLIFERATIVO KI-67 Y EL INDICE PRONÓSTICO INTERNACIONAL EN EL LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO EN LA POBLACIÓN DE LA PROVINCIA DE ÁLAVA.

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1-10</b>
1.1 EPIDEMIOLOGÍA.....	1
1.2 GENÉTICA.....	1-2
1.2.1 Citogenética.....	1-2
1.2.2 Inmunofenotipo.....	2
1.3 CLÍNICA.....	2-3
1.4 DIAGNÓSTICO.....	3-6
1.4.1 Ganglios.....	3
1.4.2 Médula ósea.....	4
1.4.3 Sangre periférica.....	5
1.4.4 Bazo.....	5-6
1.4.5 Tracto gastrointestinal.....	6
1.5 ESTADIAJE.....	6-10
1.5.1 Ann Arbor.....	6-7
1.5.2 Estadiaje MIPI.....	7-8
1.5.3 Ki67.....	8-10
1.5.3.1 MIPIb.....	9
1.5.3.2 Metodo de recuento de Ki67.....	9-10
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>10-11</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>11-12</b>
a. PACIENTES.....	11
b. INMUNOHISTOQUÍMICA.....	11
c. ANALISIS CUANTITATIVO.....	12
d. DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE.....	12
e. ANALISIS ESTADÍSTICO.....	12
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>13-17</b>

<b>4.1 POBLACIÓN DE LA MUESTRA.....</b>	<b>13</b>
<b>4.2 ASOCIACIÓN ENTRE KI67 Y DATOS CLÍNICOS (TIEMPO LIBRE DE ENFERMEDAD/ TIEMPO DE SUPERVIVENCIA.....</b>	<b>13-15</b>
<b>4.3 ASOCIACIÓN ENTRE GRADO DE EXPRESIÓN DE KI67 Y ESTADIO ANN ARBOR AL DIAGNÓSTICO.....</b>	<b>16</b>
<b>4.4 ASOCIACION ENTRE GRADO DE EXPRESIÓN DE KI67 Y ESTADIO MIPI AL DIAGNÓSTICO.....</b>	<b>16-17</b>
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>17-19</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>19-20</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>21</b>

## **1. INTRODUCCIÓN**

El Linfoma de células del manto (LCM) es un linfoma no Hodgkin de células B que se origina en las células del manto del folículo linfoide. Se trata de un proceso linfoproliferativo derivado de una población de células B que no han pasado por el centro germinal y que expresan CD5. Las células CD5+ están presentes en tejidos linfoides fetales, pero en adultos solo se encuentran en el folículo primario y en el manto de los folículos secundarios.

### **1.1. EPIDEMIOLOGÍA**

Representa el 7-9% (1) de linfomas no Hodgkin en Europa así como el 4% (1) en Estados Unidos. En términos globales hablamos de entre el 3-10% (2) de LNH en adultos en todo el mundo. La edad media del diagnóstico es entre los 60-80 (1,2) años, siendo un tumor predominante en el sexo masculino con una proporción 3:1 (3) y se estima que el 70% de los pacientes son diagnosticados con un estadiaje IV de Ann Arbor (4) con adenopatías generalizadas. Un estudio de 1389 pacientes (2) constató que la mediana de edad al diagnóstico era de 71 años, así como que el 70,9% de los pacientes se encontraba en un estadio IV de Ann Arbor al diagnóstico inicial, además se detectó que el 67% de los pacientes eran mayores de 65 años al diagnóstico (2). Entre sus localizaciones extra nodales más frecuentes destacan el compromiso de la médula ósea, bazo, hígado, tracto gastrointestinal y el anillo de Waldeyer. La afectación del anillo de Waldeyer está íntimamente relacionada a la poliposis múltiple, ya que aumenta su incidencia. (4) La presencia de enfermedad también es frecuente debido al grado de extensión que tiene generalmente la enfermedad al diagnóstico inicial.

### **1.2. GENÉTICA**

#### **1.2.1. Citogenética**

El linfoma de células del manto se ha asociado a diferentes mecanismos genéticos que explican su agresividad, siendo los más típicos: la translocación (11; 14) (q13; 32) en la que el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas situado a nivel de

14q32 se yuxtapone con la región 11q13, donde se sitúa el gen ciclina D1 (3). Así se produce un aumento de la producción de ciclina D1 por la proteína aberrante resultante. Esta proteína participa en la proliferación celular a nivel del paso de G1 a S y por tanto su acción afecta a la proliferación tumoral y el consecuente empeoramiento clínico. (3)

### **1.2.1. Inmunofenotipo**

Las células del linfoma de células del manto se definen como CD20+, CD5+, CD10-, Ciclina D1+, Bcl-2- .

El LCM se asocia también a la expresión aberrante de la proteína SOX11 codificado por el gen SOX11, un factor de transcripción que está involucrado en la neurogénesis embrionaria y en el remodelado tisular (3). Aun no se ha demostrado sus implicaciones genéticas y epigenéticas, aunque se ha demostrado su presencia en un 90% de los casos. Asimismo su no expresión está relacionada con LCM de características indolentes.

El índice proliferativo ki67 así como la mutación p53 están relacionados con mayor agresividad del tumor y un peor pronóstico.

### **1.3. CLÍNICA**

Clínicamente se caracteriza por cursar con esplenomegalia y hepatomegalia frecuentemente, estando la hepatomegalia relacionada a la presencia de la enfermedad en sangre periférica, que tiene una expresión muy variable (20-58% de los casos) (5). La afectación extranodal también es frecuente, pero solo en un 4-15% de los casos está presente en ausencia de afectación nodal. La afectación intestinal existe en un 15-25% de los casos y es frecuente que esté presente en el diagnóstico inicial de la enfermedad. El sistema nervioso central por otra parte, está comprometido en un 10-20% de los casos, pero no está presente al diagnóstico generalmente, siendo una afectación de procesos más avanzados.

La expresión en sangre periférica está presente en un 20-58% de los casos (5) y puede presentarse en forma de pancitopenia y leucocitosis(1), también se han descrito casos que presentan una forma leucémica muy agresiva, simulando una

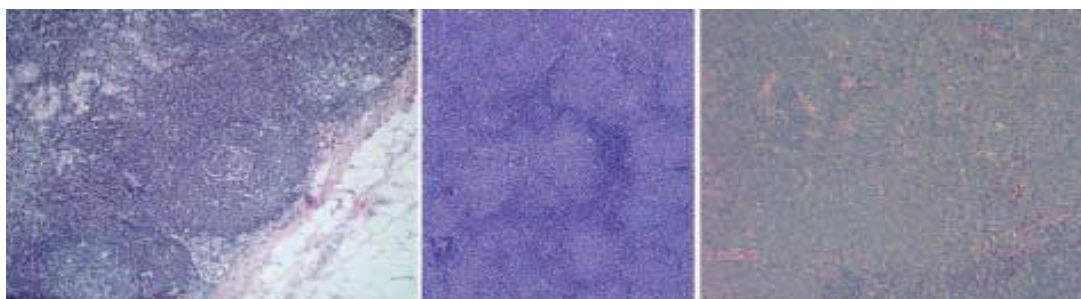
leucemia aguda asociada a una cifra elevada de blastos en sangre periférica y a una evolución muy agresiva (5).

El pronóstico de los afectados por este tipo de linfoma es generalmente malo, debido fundamentalmente a dos factores: el tardío diagnóstico y el poco conocimiento que teníamos de la enfermedad. No obstante gracias a los avances, a día de hoy existe una mayor diversidad biológica, que se traduce en diferencias en la clínica, el tratamiento y el pronóstico de la enfermedad. (4) El diagnóstico de un segundo tumor previo, concomitante o posterior al diagnóstico del linfoma de células del manto se ha descrito en un 12-21% de los pacientes (5).

## 1.4. DIAGNÓSTICO

### 1.4.1. Ganglios

El diagnóstico histopatológico viene definido por un crecimiento anormal en las células del manto del folículo linfoide, pudiendo ser el patrón arquitectural de crecimiento de tres tipos **Figura 1**: área del manto, nodular o difuso.



**Figura 1. Patrones de crecimiento del LCM en folículo linfoide:** Patrón área del manto, patrón nodular, patrón difuso (5)

En la variante del área del manto la corona de células del manto se expande hasta rodear los centros germinales reactivos (5). La variante nodular, son los nódulos los que están llenos de células tumorales sin evidencia de centros germinales residuales (5). En el patrón difuso el ganglio linfático está infiltrado por células tumorales de manera difusa. (5)

En cuanto a la citología podemos clasificar el linfoma de células del manto en dos variantes: la forma típica **Figura 2** y la blastoide **Figura 3**. Siendo las células

pequeñas con citoplasma escaso, núcleo irregular, cromatina condensada y nucléolo deformado típicas de la primera. (5)

Por otro lado la variante blastoide presenta células parecidas a los linfoblastos, de tamaño intermedio y escaso citoplasma, núcleos redondeados y cromatina fina dispersa. Además presenta un alto índice mitótico con 2-3 mitosis por campo. (5)

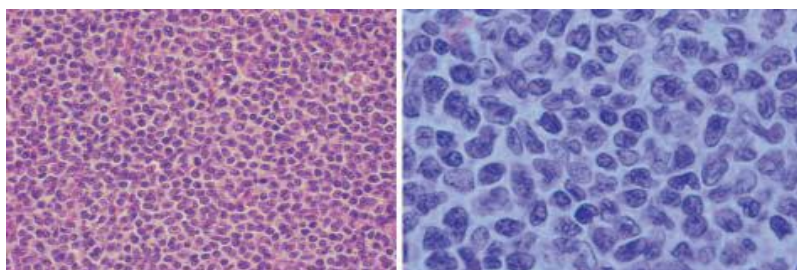


Figura 2: Variante típica del LCM (5)

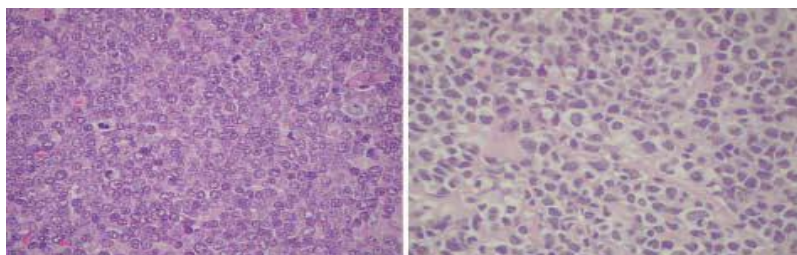
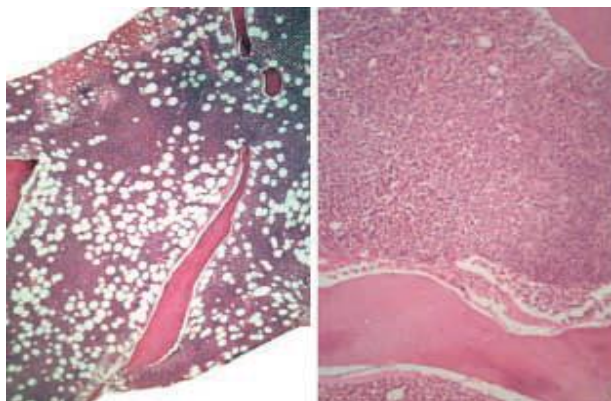


Figura 3: Variante blastoide del LCM (5)

#### 1.4.2. Médula ósea

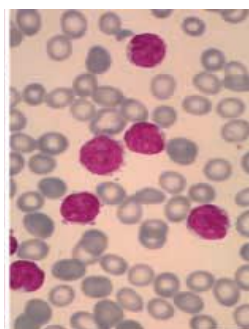
El linfoma de células del manto infiltra la médula en un 50-91% de los casos y esta expresión no va correlacionada con la presencia de la enfermedad en sangre periférica. Esta afectación también puede presentar distintos patrones **Figura 4**, aunque lo más frecuente es que se muestren de forma heterogénea. Hablamos de patrón nodular (A), intersticial (B) o paratrabecular. El tipo de patrón que muestre el infiltrado medular no parece correlacionarse con características clínicas del tumor y no tiene a priori efectos a nivel pronóstico. (5)



**Figura 4. Patrones de infiltración de médula ósea (5):** Patrón nodular, patrón difuso.

### 1.4.3. Sangre periférica

A nivel de sangre periférica, con una citología **Figura5** podemos ver células con características similares a las que encontramos en las biopsias ganglionar es en forma de linfocitos pequeños con escaso citoplasma y cromatina reticular (C). En casos de LCM blástico estas células serian de características más similares a los de una citología de sangre de una leucemia aguda con células grandes, aumento de la relación núcleo-citoplasma, cromatina dispersa y nucléolo pequeño.



**Figura 5: citología de LCM en sangre periférica (5).**

### 1.4.4. Bazo

A la exploración veremos esplenomegalia de manera frecuente. Anatomopatológicamente **Figura 6** veremos un patrón micronodular siendo posible la infiltración perivascular. La pulpa blanca puede tener nódulos macrosómicos. La morfología de las células es la misma que en otros órganos, además veremos células con citoplasma hipocrómico y abundante en la periferia nodular. (5)



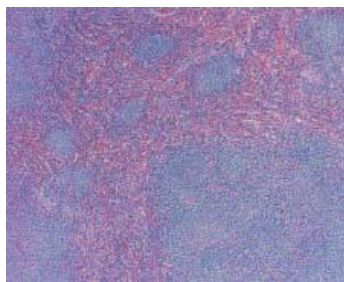


Figura 6: Infiltración esplénica del LCM

#### 1.4.5. Tracto gastrointestinal

Es típica aunque no patognomónica de la enfermedad la presencia de poliposis linfomatoide. Caracterizada por presencia de pólipos linfoides **Figura 7** en intestino delgado y grueso. Esta presentación también puede darse en otros tipos de linfomas no Hodgkin como el linfoma folicular o el linfoma marginal tipo MALT, con los que habría que plantearse un diagnóstico diferencial en caso de dudas. También se ha demostrado la presencia de infiltración linfocitaria microscópica por el LCM sin llegar a producir poliposis macroscópica. (5)

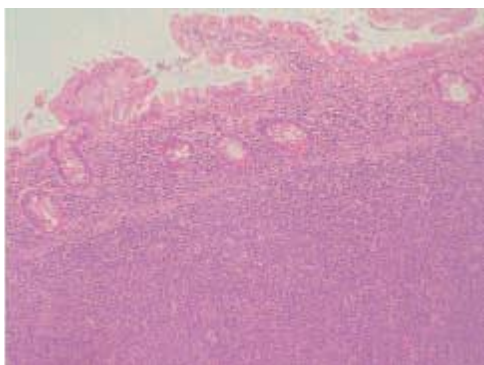


Figura 7: Afectación intestinal en LCM

### 1.5. ESTADIAJE

#### 1.5.1. Ann Arbor

El estadiaje de Ann Arbor se utiliza para conocer el grado de propagación del linfoma en base a una serie de criterios clínicos y de imagen para dar un grado de extensión entre I-IV. Se basa en los siguientes criterios (6):

- Estadio I: Enfermedad presente en solo un ganglio linfático o bazo
- Estadio II: Enfermedad en 2 ó mas ganglios linfáticos en un solo lado del diafragma
- Estadio III: Enfermedad en 2 ó mas gánglios en los dos lados del diafragma
- Estadio IV: Enfermedad en un órgano no adyacente al sistema linfático; o presencia de la enfermedad en médula ósea o pleura.

Se le añadirá un sufijo al estadio si cumple una seri de características

- X (bulky): Si un linfoma en localizado en el tórax ocupa 1/3 de la cavidad o si la masa es mayor de 10 cm.
- B: Si presenta sintomas B (cualquiera de ellos)
  - Fiebre de larga evolución no explicada por otras causas
  - Sudoración nocturna
  - Anorexia del 10% de su peso en los 6 meses previos al diagnósticos

### 1.5.2. Estadiaje MIPI

En 2008 Hooster et al diseñaron un índice pronóstico específico para el linfoma de células del manto en base a evidencia científica que demostraba las relaciones directas e independientes entre características clínico-patológicas de la entidad tumoral y el pronóstico (7). El Índice pronóstico internacional del linfoma de células del manto (MIPI) incluye 4 factores: la edad al diagnóstico, índice ECOG al diagnóstico, cifras de LDH al diagnóstico (ajustadas según laboratorio de referencia en cuestión), y cifra de leucocitos al diagnóstico, se resume en la **Tabla1**:

CRITERIOS MIPI	INTERPRETACIÓN
<b>EDAD</b> <b>0 puntos:</b> si menor de 50 años <b>1 punto:</b> entre 50 y 59 años <b>2 puntos:</b> ente 60 y 69 años <b>3 puntos:</b> si igual o mayor de 70 años	Se definen 3 grupos según la puntuación obtenida: <b>Riesgo bajo :</b> entre 0 y 3 puntos <b>Riesgo intermedio :</b> entre 4 y 5 puntos <b>Riesgo alto :</b> entre 6 y 11 puntos
<b>LDH</b> <b>0 puntos:</b> ratio menor de 0.67 <b>1 punto:</b> ratio entre 0.67 y 0.99 <b>2 puntos:</b> ratio entre 1.00 y 1.49 <b>3 puntos:</b> ratio igual o mayor de 1.50	<b>SUPERVIVENCIA GLOBAL</b> <b>Bajo riesgo:</b> mediana no alcanzada y SG a 5 años del 60% (seguimiento 32 meses) <b>Riesgo intermedio:</b> mediana de supervivencia de 51 meses <b>Riesgo alto:</b> mediana de supervivencia de 29 meses
<b>ECOG</b> <b>0 puntos:</b> si ECOG 0-1 <b>1 puntos si ECOG 2-4</b>	
<b>CIFRA DE LEUCOCITOS</b> <b>0 puntos:</b> menor de $6.700 \times 10^9/L$ <b>1 punto:</b> entre $6.700$ y $9.999 \times 10^9/L$ <b>2 puntos:</b> entre $1.000$ y $14.999 \times 10^9/L$ <b>3 puntos:</b> igual o mayor de $15.000 \times 10^9/L$	

**Tabla 1. Estadiaje MIPI**

Se demostró una relación inversa estadísticamente significativa ( $p=0,0013$ ) entre el grado de estadiaje MIPI y la supervivencia a largo plazo. Siendo la supervivencia media en los grupos de bajo, medio y alto grado de 9,89, 3,85 y 2,81 años respectivamente. (7)

Por otro lado, se ha determinado que el estadiaje MIPI puede tener utilidad de cara a individualizar el tratamiento de modo que este fuera adaptativo al riesgo vital del paciente en estadios avanzados. Los pacientes con grados de MIPI altos y un ECOG bajos podrían ser tratados de forma más agresiva dado que su estado funcional basal lo toleraría, contrariamente a los grados MIPI altos con ECOG basal deteriorado. Asimismo, los tumores con estadijes bajos no se benefician de esta característica a priori dado que la heterogeneidad de tratamiento en grados bajos no permite este tipo de comparaciones. (6)

### **1.5.3. Ki67**

La proteína Ki67 es una proteína codificada por un gen situado en el cromosoma 10q25-ter. La cantidad de proteína está regulada de forma precisa debido a su corta vida media de 1-1,5 horas (8). Se presenta en todas las fases activas del ciclo celular

(G1, S, G2 y M). Su grado de expresión no se relaciona con la fracción de crecimiento, que es un valor numérico para el número de células proliferativas. Más bien indica la magnitud de tiempo que estas necesitan para completar una fase intermitótica (9).

Se ha establecido una relación de esta proteína con la patología tumoral, siendo útil para el estadiaje de tumores y el grado de metástasis (8). Se asocia a tejidos malignos y celularmente indiferenciados.

El índice de proliferación ki67, está basado en la expresión de la proteína en la muestra tumoral a estudio, y, ha demostrado en ensayos clínicos tener una repercusión pronóstica estadísticamente significativa en el Linfoma de células del manto. Siendo la relación entre la intensidad con la que se expresa inversamente proporcional a la supervivencia de los pacientes. (10)

Se ha estudiado la expresión de Ki67 por sí mismo como un factor pronóstico independiente del estadiaje MIPI y otras formas de estadiar los linfomas de células del manto. Se ha asociado una mayor expresión de Ki67 y una menor supervivencia a largo plazo así como una mayor tasa de recaídas (2, 6, 7, 10)

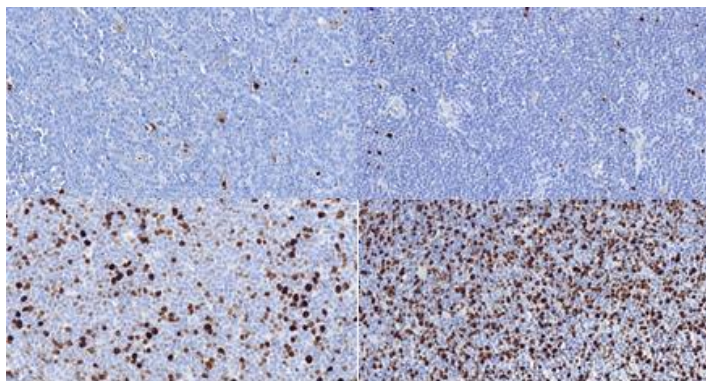
#### 1.5.3.1. MIPIb

El MIPIb incorpora el ki67 como variable biológica asociada formando parte de una fórmula compleja. (4). Aunque se ha visto que la sobreexpresión del factor de proliferación celular Ki67 se asocia con una menor supervivencia a largo plazo y una mayor tasa de recaídas, su recuento no está estandarizado en la práctica clínica y por ende no está disponible en todos los estudios realizados. Es por ello que a día de hoy no se puede aplicar el estadiaje MIPIb fuera de estudios experimentales. (6)

#### 1.5.3.2. Método de recuento de Ki67

El recuento de la expresión del Ki67 **Figura 8** es una prueba que no está estandarizada a día de hoy, siendo esto un problema a la hora de realizar estudios sobre su implicación como factor pronóstico tanto de forma independiente como para incluirlo en un logaritmo pronóstico (6, 10). Una opción para el recuento es hacerlo “a ojo” llevado a cabo por el anatomopatólogo, con el problema de ser una prueba

observador dependiente. La otra es utilizar un sistema informático que analice el ki67 pudiendo darnos una estimación más representativa ya que puede analizar biopsias de mayor tamaño que la observación del anatomopatologo. No obstante el problema que presenta el análisis informático que tiene limitaciones para distinguir entre células tumorales y células normales, por lo que tiende a sobreestimar el ki67, es por ello que se deben seleccionar áreas representativas del linfoma. (10)



**Figura 8: Biopsias de LCM, recuento de Ki67.** Biopsias de casos de nuestro estudio

## 2. OBJETIVOS

Valorar las implicaciones pronósticas del factor de proliferación Ki67 en los tumores de células del manto y determinar si estas son independientes de otros factores o están correlacionadas con otras características clínicas de los pacientes que padecen esta enfermedad podría dar lugar a nuevas formas de estadiaje de cara a un tratamiento más personalizado tanto en la elección del tratamiento como en la pauta. De la misma manera que el estadiaje MIPI puede predecir en cierto modo el grado de respuesta al tratamiento así como la pérdida o preservación de situación funcional, conocer las implicaciones pronósticas de este valor, fácil de medir tanto con cuantificación de visu por el anatomopatologo, y el recuento electrónico como en nuestro caso; se podría hacer una estimación más precisa con la elaboración de una fórmula y un método de estadiaje MIPIb que incluyera el Ki67 en la fórmula.

Como objetivo principal de este estudio, se analizará la repercusión que tiene el índice de proliferación Ki67 en pacientes afectados por el linfoma de células del manto tanto en el tiempo libre de progresión de la enfermedad como el tiempo de

supervivencia. Se analizará por tanto el valor pronóstico que este marcador citogenético tiene de manera independiente a otras variables.

Se estudiará también la implicación del Ki67 en el curso clínico de los pacientes con linfoma de células del manto. Se asociará su grado de expresión con el estadiaje Ann Arbor y MIPI por un lado, planteando la implicación que este marcador puede tener tanto en la extensión de la enfermedad como en las características analíticas y funcionales respectivamente. Por tanto se analizará también las implicaciones pronósticas del Ki67 en relación a las escalas diagnósticas utilizadas para el estadiaje del LCM.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. PACIENTES**

Entre los 1552 casos diagnosticados de linfoma extraídos de la base de datos del Hospital Universitario de Araba entre 1.990 y 2.016, se seleccionaron 20 casos diagnosticados de LCM.

Se revisaron las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, así como las técnicas de inmunohistoquímica disponibles en cada caso.

Uno de ellos quedó excluido del estudio debido al diagnóstico de otro síndrome linfoproliferativo concomitante y otros dos por imposibilidad de acceder a los datos en la historia clínica.

#### **3.2. INMUNOHISTOQUÍMICA**

En todos los casos se disponía de tejido fijado en formol e incluido en parafina para realización de inmunohistoquímica con la tinción Ki-67 usando un anticuerpo monoclonal de conejo (IgG) dirigido contra la porción C-terminal del antígeno Ki-67 en secciones de 4µm (CONFIRM anti-Ki-67, Ventana Medical Systems).

Este anticuerpo se ha optimizado para su uso en un módulo de tinción automatizado de Ventana, junto al kit de detección VIEW DAB. No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución o titulación.

### **3.3. ANÁLISIS CUANTITATIVO**

Los portaobjetos teñidos con Ki-67 se escanearon en el escáner panorámico 3D HISTECH de Sysmex. Se seleccionaron las áreas que mostraron mayor índice proliferativo y se realizó una captura de la imagen con el objetivo de 40 aumentos. Los núcleos marrones se cuantificaron como positivos y los azules como negativos utilizando el software Image J.

### **3.4. DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE**

El punto de corte elegido para valorar el impacto del índice proliferativo en la supervivencia fue el 10%.

### **3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se ha realizado un análisis descriptivo de las características de los pacientes y de las lesiones mediante la determinación de la media y desviación estándar para las variables cuantitativas y la distribución de frecuencias para las variables cualitativas. La potencial asociación entre las diferentes variables cuantitativas se ha determinado mediante la aplicación de un ANOVA tras la determinación de la normalidad de las variables mediante la prueba de Saphiro Wilk. Por último se realizó un análisis de supervivencia, determinándose las diferencias entre las distintas curvas de supervivencia mediante la aplicación del test de log Rank. El análisis estadístico fue realizado empleando el software SPSS Statistics versión 21 (IBM) con un valor de significación de  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1. POBLACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra de casos a estudio fue de 17, su distribución, así como características analíticas y clínicas al diagnóstico así como las variables pronósticas a estudio se resumen en la **Tabla 2**.

PARÁMETROS	VALORES	n
Edad-años, media ( $\sigma$ )	62,65 (18,745)	17
Sexo, num. varón (%)	13 (76,5)	17
Ki67 (<= 10%), núm. (%)	7 (41,2)	17
Ki67 (> 10%), núm. (%)	10 (58,8)	17
ECOG (0-1), núm. (%)	12 (70,6)	17
ECOG (2-4), núm. (%)	5 (29,4)	17
LDH, media ( $\sigma$ )	338,235 (150,4475)	17
Leucocitos 10 <sup>9</sup> /L, media ( $\sigma$ )	12352,94 (14402,045)	17
Ann Arbor (IIIa), núm. (%)	4 (23,5)	17
Ann Arbor (IIIb), núm. (%)	1 (5,9)	17
Ann Arbor (IVa), núm. (%)	10 (58,8)	17
Ann Arbor (IVb), núm. (%)	2 (11,8)	17
Recaída, SI (%)	9 (52,9)	17
Muerto, SI (%)	6 (35,3)	17
Tiempo supervivencia- meses, media ( $\sigma$ )	84,82 (71,804)	17
Tiempo libre de progresión-meses, media ( $\sigma$ )	58,24 (58,472)	17

**Tabla 2. Población de la muestra:** distribución de la muestra según sexo, edad, valores analíticos y variables clínicas al diagnóstico y variables pronósticas

### 4.2 . ASOCIACIÓN ENTRE KI67 Y DATOS CLÍNICOS (TIEMPO LIBRE DE ENFERMEDAD/ TIEMPO DE SUPERVIVENCIA)

El grupo con una expresión de Ki67 menor o igual al 10% (grupo A) estaba formado por 7 pacientes (41,2%). En él, se observó una media de meses libres de progresión de la enfermedad de  $94,71 \pm 67,166$  meses, siendo el tiempo medio de supervivencia



de  $99,43 \pm 62,976$  meses. El análisis de la varianza ANOVA de estos dos factores se recoge en la **Tabla 3**.

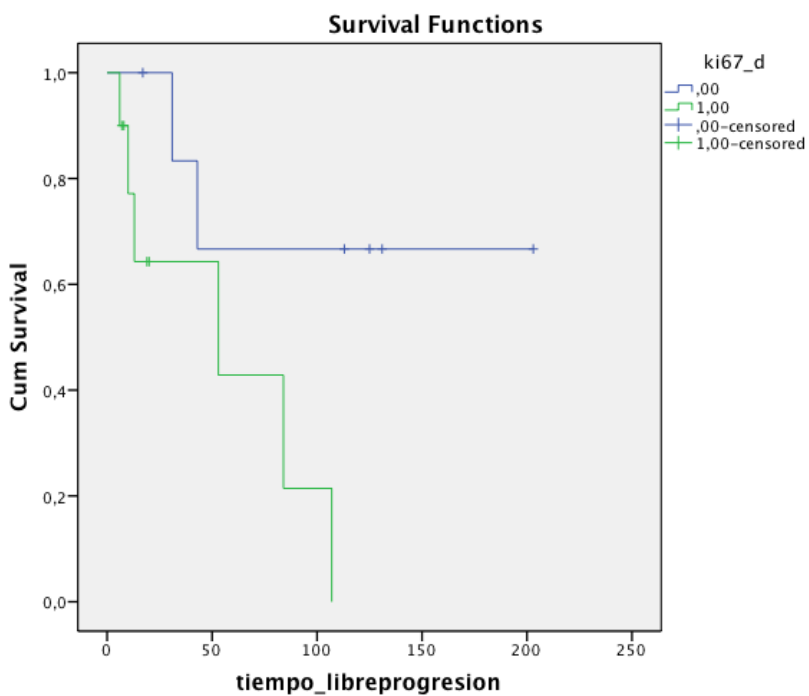
Por otro lado el grupo con expresión de Ki67 mayor o igual al 10% (grupo B), constituido por 10 pacientes (58,8%) se constató una media de  $32,7 \pm 36,206$  meses libres de progresión de la enfermedad. Asimismo, en este grupo se observó una supervivencia media de  $74,60 \pm 78,993$  meses. El análisis de la varianza ANOVA de estos dos factores se recoge en la **Tabla 3**.

Tabla ANOVA		Suma de cuadrados	df	Media <sup>2</sup>	F	Sig.
	Intergrupos	15835,530	1	15835,530	6,111	0,026
Tiempo libre de progresión/ Ki67	Intragrupos	38867,529	15	2591,169		
	Total	54703,059	16			
	Intergrupos	2538,356	1	2538,356	0,476	0,501
Tiempo de supervivencia/ Ki67	Intragrupos	79954,114	15	5330,274		
	Total	82492,471	16			

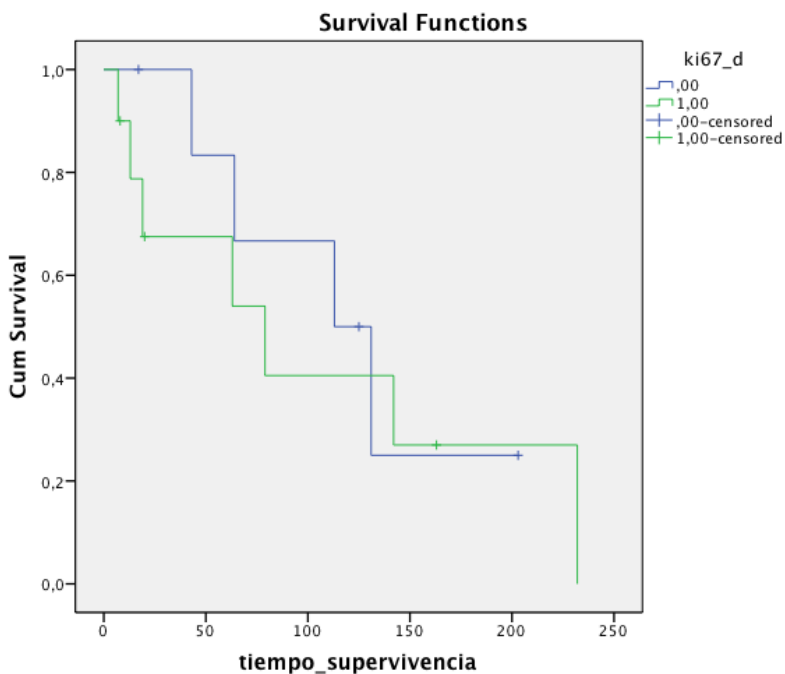
**Tabla 3. Análisis de la varianza ANOVA:** relación entre expresión de ki67 y el tiempo libre de progresión, y tiempo de supervivencia.

Se realizó un análisis de supervivencia para cada una de las dos variables expresadas mediante curvas de Kaplan Meier:

- Tiempo libre de progresión (test de Log-Rank: sig. = 0,04). **Figura 9**
- Tiempo de supervivencia (test de Log-Rank sig. = 0,669) **Figura 10**



**Figura 9. Curva de Kaplan Meier:** análisis de supervivencia del grado de asociación entre la expresión de Ki67 como factor de riesgo y el tiempo libre de enfermedad.



**Figura 10. Curva de Kaplan Meier:** análisis de supervivencia del grado de asociación entre la expresión de Ki67 como factor de riesgo y el tiempo de supervivencia

### 4.3. ASOCIACIÓN ENTRE EL GRADO DE EXPRESIÓN DE KI67 Y EL ESTADIO ANN ARBOR AL DIAGNÓSTICO

De los siete casos del grupo A hubieron: un caso (14,28%) en estadio IIIa de Ann Arbor, otro caso (14,28%) en estadio IIIb, cuatro casos (57,14%) en estadio IVa y un caso (14,2%) en estadio IVb en el momento del diagnóstico.

Por otro lado en los diez pacientes del grupo B se observaron tres casos (30%) en estadio IIIa, ningún caso en estadio IIIb, seis casos (60%) en estadio IVa, y un caso (10%) en estadio IVb al diagnóstico.

Se realizó la prueba de chi cuadrado de independencia, cuyos resultados se muestran en la **Tabla 4**.

Chi-Cuadrado	Valor	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-cuadrado	1,931	3	0,587
Índice de probabilidad	2,303	3	0,512
Asociación lineal por lineal	0,188	1	0,65
N de casos validos	17		

**Tabla 4. Prueba de chi cuadrado:** análisis de independencia de grado de expresión de Ki67 y estadio Ann Arbor al diagnóstico.

### 4.4. ASOCIACIÓN ENTRE GRADO DE EXPRESIÓN DE KI67 Y ESTADIO MIPI AL DIAGNÓSTICO

En los 7 pacientes del grupo A se vio que dos casos (28,57%) presentaban un estadiaje MIPI bajo al diagnóstico mientras que tres de ellos (42,85%) se encontraban en un estadio intermedio y otros dos casos (28,57%) tenían un estadio alto en el momento del diagnóstico.

En lo que respecta al grupo B, no hubo ningún paciente en estadio MIPI bajo mientras que cuatro casos (40%) presentaron un estadio MIPI intermedio y seis casos (60%) estaban en un estadio MIPI alto en el momento del diagnóstico.

La **Tabla 5** presenta el análisis de independencia de chi cuadrado para estas dos variables.

Chi-Cuadrado	Valor	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-cuadrado	3,730	2	0,155
Índice de probabilidad	4,477	2	0,107
Asociación lineal por lineal	3,009	1	0,083
N de casos validos	17		

**Tabla 5. Prueba de chi cuadrado:** análisis de independencia de grado de expresión de Ki67 y estadio MIPI al diagnóstico.

## 5. DISCUSIÓN

En nuestra muestra, constituida por 17 pacientes diagnosticados de linfoma de células del manto en la ciudad de Vitoria se determinó una media de edad al diagnóstico de 62,65, siendo todos ellos estadios III y IV de Ann Arbor, y un 70,6% de los casos estando en estadio IV. Estos datos se corresponden con la literatura (1, 2) que describe el LCM como un tumor diagnosticado a una edad media de 65 años así como un estadiaje Ann Arbor alto al diagnóstico. Además se observó que el 76,5% de los pacientes a estudio eran varones, variable que coincide con la literatura (3) no pudiéndose sacar conclusiones ya que la muestra no es representativa a nivel de la población general.

Pese a tener estadiajes Ann Arbor altos al diagnóstico el grado de capacidad funcional ECOG fue de grados 0-1 en un 70,6% de los casos. Podría verse una relación de estos datos de con las características epidemiológicas de la patología ya que se conoce que es un tumor cuya clínica no es muy florida si no debuta de forma agresiva como en el caso de la variante blastoide, o en forma de poliposis linfoide; ambas de pronóstico muy malo. Siendo estas dos formas de presentación especialmente agresivas raras, fuera de estas variantes, no se observa que el LCM no sea incapacitante para las actividades básicas de la vida diaria (ABVD) pudiendo atribuir su diagnóstico más tardío a que las manifestaciones extranodales no se presentan con tanta frecuencia hasta una mayor progresión del tumor.

En el estudio de la repercusión clínica del grado de expresión de Ki67 en forma de tiempo libre de progresión en meses y tiempo de supervivencia en meses se observaron resultados diferentes en los distintos grupos. El tiempo libre de

progresión medio independiente del Ki67 fue de 58,24 meses, mientras que el tiempo de supervivencia medio de la muestra fue de 84,82 meses.

Tal y como esperábamos en relación a lo descrito en la literatura (2, 6, 7,10), el grupo con menor grado de expresión Ki67 (A) demostró un mayor tiempo libre de progresión, 94,43 meses, frente a los 32,7 meses del grupo con mayor grado de expresión Ki67 (B). Estos resultados no solo fueron los esperados sino que demostraron ser estadísticamente significativos ( $p=0,026$ ). Es por ello por lo que se puede afirmar que una menor expresión de Ki67 se corresponde con un descenso en la progresión en forma de recidivas o metástasis. El índice proliferativo Ki67 se asocia a mayor atipia celular, siendo esta característica conocida como criterio de malignidad y agresividad de un tumor, por ello se puede afirmar que son resultados que se correlacionan con la literatura (2, 6, 7,10) médica y son coherentes con la anatomía patológica tumoral en general y en concreto con la del LCM.

En lo que respecta a la supervivencia, se esperarían resultados similares ya que se entiende que el tiempo libre de progresión es un factor de buen pronóstico de cara a la supervivencia. No obstante, se determinó que la supervivencia media en el grupo A fue de 99,43 meses por 74,60 meses en el grupo B, no llegando a la significación estadística, probablemente debido al pequeño tamaño muestral. Se entiende que la supervivencia no depende solo de la progresión de la enfermedad, sino que se podría deber a otras variables a estudiar como el tratamiento recibido, algo que no se ha contemplado en este estudio.

A la hora de analizar la relación entre el grado de expresión de Ki67 se esperaba encontrar una asociación de una mayor expresión de este con un mayor estadiaje Ann Arbor al diagnóstico, ya que al tratarse Ki67 de un marcador de agresividad e indiferenciación tumoral era esperable que los tumores que lo expresaran en mayor cuantía se manifestaran con un mayor estadiaje. Se observó que en el grupo B el estadiaje Ann Arbor tendía a ser IVa y IVb, siendo así en un siete de los diez (70%) casos de este grupo. Por otro lado, se observó que la distribución en el grupo A fue similar e incluso en un porcentaje superior presentó tumores en estadio IVa y IVb de Ann Arbor, concretamente cinco de los siete casos (71,4%) cumplían estas características. Estos resultados se corroboran con la bibliografía por una parte, ya

que se conoce que la distribución del índice de proliferación Ki67 es muy dispar y se expresa de manera muy heterogénea en los pacientes con esta enfermedad. Asimismo se puede deducir que la característica propia del LCM de indolencia hasta una notable extensión de la enfermedad sigue presente independientemente del Ki67. Se puede afirmar conforme a los resultados obtenidos, pese a no ser estadísticamente significativos, que, en nuestra muestra el índice proliferativo Ki67 no ha influido en el estadio de Ann Arbor al diagnóstico.

El otro método de estadiaje evaluado fue el MIPI, que es una forma de estadiaje que incluye no solo datos objetivos, sino también otros subjetivos como es el grado funcional ECOG al diagnóstico, se esperaba una mayor asociación de una mayor expresión de Ki67 con grados altos de MIPI. En cuanto al grupo A, se observó una distribución heterogénea de estadios MIPI al diagnóstico siendo el grupo intermedio el más representado dentro de este grupo. Por otro lado en el grupo B no vimos ni un solo caso con MIPI de bajo grado y seis de los diez casos (60%) obtuvieron una puntuación alta en este método de estadiaje. Pese a no ser resultados estadísticamente significativos, son resultados que no solo se corresponden con lo conocido sobre la patología sino que también siguen una lógica que así como no se vio confirmada en el estadiaje Ann Arbor, sí se han observado en este apartado. Se presupone un mayor deterioro funcional y analítico que mide el MIPI con respecto al deterioro clínico que mide el Ann Arbor, es por ello que a mayor agresividad histológica del tumor, tendrá una traducción más precoz en forma de cifras de leucocitos, ECOG y LDH que en forma de adenopatías o afectación de órganos no linfoides.

## **6. CONCLUSIONES**

Con respecto a los objetivos que se plantearon al principio del estudio podemos sacar las siguientes conclusiones:

En primer lugar, se ha visto que el grado de expresión del índice proliferativo Ki67 como variable independiente sí tiene un valor pronóstico en lo que respecta al tiempo libre de enfermedad. Indirectamente se puede concluir que el grado de indiferenciación celular que se correlaciona con la expresión de la proteína Ki67 produce un mayor número de recidivas.

Además, el grado de expresión de Ki67 no demuestra tener una repercusión directa en lo que respecta a la supervivencia global de los enfermos de LCM. Este factor es por tanto atribuible a otras variables que no se han definido en este estudio.

Por último, se ha demostrado una clara asociación entre el grado de expresión de Ki67 con los estadios referencia para el LCM. No se ha visto que afecte de manera significativa ni al estadio Ann Arbor (extensión de la enfermedad) ni en el MIPI (datos analíticos y funcionales).

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Vose J. Mantle cell lymphoma: 2012 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management. *American Journal of Hematology*. 2012; 87(6):604-609.
2. Enciso L, Suarez M, Arango M. Resultados del tratamiento del linfoma de células del manto con varios regímenes de inmunoterapia: estudio retrospectivo. *Revista Colombiana de Cancerología*. 2015; 19(2):71-80.
3. Roisman A, Slavutsky I. Expresión del factor de transcripción SOX11 Su implicancia en el linfoma de células del manto. *Revista Hispanoamericana de Tecnologías del Aprendizaje*. 2014; 74 (2).
4. Alfonso G, Flores G, Palmer L, Stemmelin G, Vijnovich A. Linfoma de células del manto. En: *Guías de Diagnóstico y Tratamiento*. Sociedad Argentina de Hematología. 2015. p. 233-250.
5. O.Balagué, L. Colomo, E. Campo. LCEC. Linfoma de células del manto. *Revista Española de Patología*. 2004; 37(2): p. 159-172.
6. Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluin-Nelemans H et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood*. 2008; 111 (2): 558-565.
7. Hancock. The Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index: Does it work in routine practice?. *Oncology Letters*. 2009; 1(1).
8. Li L, Jiang G, Chen Q, Zheng J. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2014.
9. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *Journal of Cellular Physiology*. 2000; 182(3):311-322.
10. Blaker Y, Brodtkorb M, Maddison J, Hveem T, Nesheim J, Mohn H et al. Computerized image analysis of the Ki-67 proliferation index in mantle cell lymphoma. *Histopathology*. 2015; 67 (1):62-69.