



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO

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

“Comparación del estado inmunológico entre pacientes con Linfoma No Hodgkin y donadores sanos mediante la cuantificación en la sangre periférica de las subpoblaciones linfocitarias TCD4+, TCD8+, T $\gamma\delta$, células NK, NKTi, T reguladoras y células dendríticas”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN
HEMATOLOGÍA

PRESENTA

Dra. Helen Dayani Caballero Montes

ASESOR DE TESIS

Dra. Flor del Carmen Pérez Retiguin

México, Distrito Federal 2014.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Dr. Jesús Arenas Osuna

División de Educación en salud

Dr. Jorge Vela Ojeda

Titular del Curso Universitario

Dra. Helen Dayani Caballero Montes

Médico Residente del 4º año de hematología

No. de registro final R-2013-3501-99

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
ANTECEDENTES	6
MATERIAL Y MÉTODO	11
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS	39

RESUMEN

Título: Comparación del estado inmunológico entre pacientes con Linfoma No Hodgkin y donadores sanos mediante la cuantificación en la sangre periférica de las subpoblaciones linfocitarias TCD4+, TCD8+, T $\gamma\delta$, células NK, NKTi, T reguladoras y células dendríticas.

Material y método: Estudio ambispectivo, observacional, descriptivo y comparativo. Incluimos pacientes con linfoma no Hodgkin de novo aleatorizados por edad y genero con un grupo control. Tomamos una muestra de sangre para determinar las subpoblaciones linfocitarias. Se realizo el análisis estadístico utilizando la prueba t de student y prueba de Levene para homogeneidad de varianzas. Comparamos las medias de supervivencia global y supervivencia libre de progresión.

Resultados: admitimos 44 pacientes, la mediana de edad fue 58 años. Se encontró una disminución en las subpoblaciones linfocitarias (CD4, CD8, NK, NKTi) en el grupo con linfoma comparado con el grupo control, mostrando una diferencia estadísticamente significativa (P=.000). Realizamos el análisis de asociación entre la cifra de subpoblaciones y estadio clínico, la presencia o ausencia de tumor voluminoso, no encontrando diferencias, considerándolo sin significancia estadística. La media de supervivencia libre de enfermedad mínima fue de 23 meses y máxima de 33 meses. La media de supervivencia global mínima fue de 31 meses y máximo de 43 meses.

Conclusión: los pacientes con linfoma no Hodgkin tienen disminución en la cifra de subpoblaciones linfocitarias (TCD4+, TCD8+,NK, NKTi) comparado con donadores sanos, lo que favorece un estado de inmunosupresion.

Palabras clave: linfoma no Hodgkin, subpoblaciones linfocitarias.

ABSTRACT

Title: Comparison of immune status in patients with non-Hodgkin lymphoma and healthy donors by quantification in peripheral blood lymphocyte subpopulations TCD4+, TCD8+, T γ δ , NK, NKTi, regulatory T cells and dendritic cells.

Material and Methods: ambispective, observational, descriptive and comparative study. We included patients with de novo non-Hodgkin lymphoma randomized by age and gender with a control group. We take a blood sample to determine lymphocyte subpopulations. Statistical analysis using the Student t test and Levene test for homogeneity of variance was conducted. We compare the mean overall survival and progression-free survival.

Results: admit 44 patients, median age 58 years it was. We found a decrease in lymphocyte subpopulations (CD4, CD8, NK, NKTi) in the group with lymphoma compared with the control group, showing a statistically significant difference (P=.000). We performed association analysis between the number of subpopulations and clinical stage, the presence or absence of bulky tumor, finding no statistically significant differences considering it. The mean minimal disease -free survival of 23 months and maximum 33 months. The average minimum overall survival rate was 31 months and maximum 43 months.

Conclusion: Patients with non-Hodgkin lymphoma have decreased the number of lymphocyte subsets (CD4+, CD8+T, NK, NKTi) compared with healthy donors, which favors the development of lymphoma.

Keywords: non Hodgkin lymphoma, lymphocyte subpopulations.

ANTECEDENTES.

Los linfomas son un grupo heterogéneo de neoplasias clonales de células B, T o NK, que comparten la característica particular de producirse como resultado de una mutación somática en un progenitor de los linfocitos. Bajo el término de linfomas no Hodgkin se agrupan un conjunto de entidades nosológicas con un amplio espectro en cuanto a comportamiento clínico y biológico. Representa el 4% dentro de todos los cánceres y es el responsable del 4% de las muertes asociadas a este¹.

A nivel mundial 280,000 nuevos casos son diagnosticados anualmente y de estos el 70% es representado por los linfomas no Hodgkin. El subtipo histológico de células B representa el 85% y 6% para el de células T. La tasa de incidencia anual para los linfomas no Hodgkin es de 33.65 casos por 100,000 habitantes, siendo más frecuente en el sexo masculino. La distribución característica de la enfermedad sigue una curva bimodal siendo afectados con mayor frecuencia los adultos jóvenes entre 15 y 35 años de edad y una población mayor de 54 años².

Algunas de las entidades incluidas en el grupo de linfomas no Hodgkin tienen una amplia variación geográfica o poblacional lo que soporta el hecho de que esta enfermedad responde a la relación etiológica descrita entre algunos procesos y factores como las radiaciones ionizantes, exposición a ciertos productos químicos (pesticidas, derivados del benceno, organofosforados, clorofenoles, disolventes), infecciones virales (virus de Epstein Barr, virus linfotrópico humano, virus herpes humano 6 y 8, virus de la Inmunodeficiencia humana, virus de la

hepatitis), alteraciones de la inmunidad (inmunosupresión iatrogénica, síndrome de la inmunodeficiencia adquirida, estados primarios de inmunodepresión y enfermedades autoinmunes)³.

En la actualidad el concepto de que el sistema inmune protege al huésped contra el cáncer toma relevancia clínica ya que se cuenta con precedentes bien sustentados que es el sistema inmune quien establece una defensa compleja para cualquier neoplasia mediante la inmunidad innata (fagocitos, células NK, células NKTi, citocinas y proteínas del complemento) o más tarde a través del sistema inmune adaptativo (células B y células T) dicho concepto fue propuesto por Ehrlich desde 1909 y en 1950 Burnet y Tomas apoyaron este concepto considerando al sistema inmune como una herramienta importante en la eliminación de células cancerosas. En los humanos, se ha visto que los pacientes inmunodeprimidos tienen una mayor incidencia de desarrollar cáncer. En las neoplasias hematológicas la mayoría de los pacientes recaen a causa de resistencia a los tratamientos convencionales, considerando esto, se han realizado varios estudios en los que se ha evaluado el papel que juegan las células del sistema inmune innato en estas enfermedades, ya que se les atribuye una función antitumoral, entre otras y pueden tener un papel importante en la eliminación de células malignas y contribuir con esto en la respuesta que se tiene al tratamiento⁴. Las células NK y linfocitos T $\gamma\delta$ son células efectoras del sistema inmune innato capaces de matar células tumorales mientras resguardan las células normales.

Respecto a los linfocitos tienen función antitumoral con lo cual constituyen una barrera para el desarrollo del cáncer.

Se considera que existen 3 fases en la respuesta antitumoral por parte de los linfocitos, que consisten en 1.- el desarrollo de los linfocitos T “naive”, incluyendo activación, proliferación y supervivencia, 2.- migración de los linfocitos T activados al sitio tumoral y 3.- función efectora de los linfocitos T dentro del microambiente tumoral.

En relación a la migración de los linfocitos T al sitio tumoral, esta respuesta generalmente es subóptima debido a que las células tumorales pierden señales inflamatorias y de expresión de quimiocinas, mientras que los linfocitos T también pierden la expresión de receptores de quimiocinas. Finalmente la función efectora y la muerte de la célula tumoral puede disminuir por diversos factores presentes en el microambiente tumoral incluyendo infiltración por linfocitos T reguladores, moléculas coinhibitorias de B7 como PD-L1 y enzimas tales como la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y arginasa que cataliza la degradación de aminoácidos esenciales para los linfocitos T⁵.

Existen agentes potencialmente nocivos para el organismo como son virus, bacterias, patógenos unicelulares, multicelulares y las células cancerosas, ante lo cual el sistema inmune ha producido mecanismos activos de defensa compuesto por una gran diversidad de células como lo son las células NK las cuales tienen la capacidad de eliminar células tumorales y células infectadas por virus. Corresponden del 10 al 15% de los linfocitos de la sangre periférica⁶. Desde el punto de vista funcional, existen 2 subtipos, NK CD56^{bright} y NK CD56^{dim}. Las primeras se consideran con capacidad inmunorreguladoras, mientras que a las últimas se les atribuye capacidad citotóxica.

Las células NK expresan una gran cantidad de receptores en la superficie celular permitiendo la activación ó inhibición de sus señales. Estas células pueden regular la respuesta inmune adaptativa por proveer señales de estimulación a las células dendríticas⁷. Las NKT, linfocitos B, linfocitos T $\alpha\beta$, linfocitos T $\gamma\delta$ constituyen aproximadamente el 5% del total de los linfocitos T y exhiben el inmunofenotipo CD4 y CD8 negativos, representan el 5 a 10% de los linfocitos T en sangre periférica⁸, se han considerado como células de “primera línea de defensa”, “células reguladoras” y “células de función intermedia entre inmunidad innata y adaptativa. La habilidad de las células NK y linfocitos T $\gamma\delta$ para controlar diferentes neoplasias hematológicas ya ha sido demostrada sin embargo los mecanismos de reconocimiento y muerte de células leucémicas, de linfoma y su papel in vivo aun no están bien establecidos, ya que existen pocos estudios al respecto. Un papel muy importante de este grupo de linfocitos, es que se les atribuye un efecto antitumoral. Las células T reguladoras son las principales células reguladoras del sistema inmune, involucradas en mantener la tolerancia periférica. La principal variedad de las Treg CD4+ están representadas por las células T reguladoras CD4+ CD25+ (Treg) y por las células Treg tipo 1 (Tr1) Y por último la células presentadoras de antígenos (CPAs); sin embargo, los linfocitos desempeñan una función esencial al proporcionar la especificidad del reconocimiento inmune⁹. A través de sus diversos componentes, el sistema inmune es capaz de interactuar de forma directa ó indirecta con casi todas las células del organismo.

Las células efectoras citotóxicas suelen activarse por unión de una serie de moléculas receptoras presentes en su superficie a ligandos en la superficie de las células diana.

Entre las células efectoras citotóxicas se encuentran: linfocito T CD8, linfocito T $\gamma\delta$, células NK, células NKT, células dendríticas, macrófagos, monocito CD14+, CD16+⁻¹⁰

En este estudio se pretende evaluar el estado inmune de los pacientes con diagnóstico de linfoma no Hodgkin comparándolo con un grupo sano ya que es común que al diagnóstico se presenten con linfopenia, es por ello que pretendemos caracterizar las distintas subpoblaciones celulares circulantes en la sangre periférica y realizar un análisis comparativo entre estos pacientes con respecto a las células circulantes en la sangre periférica de los donadores sanos con la finalidad de demostrar las alteraciones inmunes que se encuentran presentes en este grupo de pacientes oncológicos, en ausencia de enfermedades inmunes concomitantes que lo justifiquen, así como buscar la asociación que pudiera existir entre el estado inmunológico y el estadio clínico o la presencia y ausencia de tumor voluminoso en los pacientes con linfomas. La importancia del presente estudio se basa ya que en México, en los últimos años se ha observado un incremento de los casos de enfermedades linfoproliferativas siendo en la actualidad de 33.65 casos por 100 000 habitantes así pues es de suma importancia sentar precedentes en cuanto a la participación de los linfocitos con capacidad de respuesta antitumoral y la expresión de sus ligandos en los pacientes con linfoma con la finalidad de desarrollar nuevas estrategias diagnosticas y terapéuticas en este grupo de pacientes basados en la inmunoterapia.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio ambispectivo, observacional, descriptivo y comparativo. Tipo casos y controles en el departamento de Hematología, en la clínica de linfomas y Laboratorio de Hematología Especial del Hospital de Especialidades U.M.A.E. “Dr. Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza.

Se incluyeron pacientes mayores de 16 años de edad, ambos sexos, con diagnóstico de Novo, establecido mediante reporte histopatológico e inmunohistoquímica de Linfoma No Hodgkin sin importar el subtipo, que no hayan recibido tratamiento para su enfermedad, que contaran con panel viral negativo para virus de la hepatitis B, C y virus de la inmunodeficiencia humana. Se excluyeron aquellos pacientes que tuvieran enfermedades infecciosas de tipo bacteriana o viral, enfermedades autoinmunes al diagnóstico, que hubiesen recibido tratamiento quimioterapéutico previo a la toma de la muestra de sangre.

Las muestras obtenidas de grupo de pacientes con Linfoma No Hodgkin fueron comparadas con muestras de un grupo control de donadores sanos del Banco de Sangre del Centro Médico Nacional la Raza. Ambos grupos se les tomó una muestra basal de sangre a través de tubo vacutainer tapón lila 12X75 la cual fue procesada en el equipo de citometría de flujo modelo “FACScalibur” de Becton Dickinson” se determinaron las subpoblaciones linfocitarias, los resultados fueron pareados de acuerdo a edad y género.

Se revisaron los expedientes electrónicos de los pacientes con diagnóstico de linfoma no Hodgkin que fueron diagnosticados del 1 marzo al 1 de diciembre del 2013 en la clínica de linfomas. Cuarenta y cuatro paciente cumplieron con los criterios de inclusión de los cuales se procedió a llenar la hoja de datos (ver anexo 1). Se clasificaron de acuerdo a género, estadio clínico, índice pronóstico, presencia o ausencia de tumor voluminoso e infiltración extra ganglionar, de acuerdo al tratamiento recibido; quimioterapia, radioterapia, trasplante de médula ósea. Se investigo el estado actual de la enfermedad, la cifra de leucocitos al diagnóstico de acuerdo a biometría hemática. Cuyos datos fueron utilizados para obtener la distribución por frecuencia absoluta y relativa medida ésta como proporción.

Se obtuvo dentro de la información; la fecha de diagnóstico, fecha de remisión completa, fecha de recaída o progresión de la enfermedad así como los tratamientos empleados en el grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin. Todo con la finalidad de poder realizar el cálculo de la supervivencia global, la supervivencia libre de progresión. Se realizó un análisis de la cifra de subpoblaciones linfocitarias en ambos grupos.

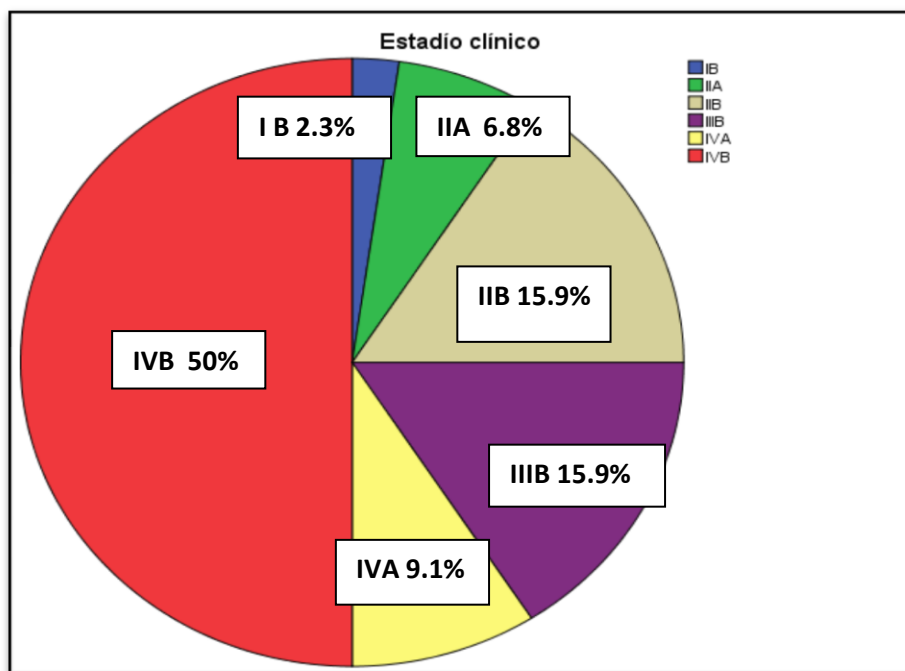
El análisis estadístico realizado fue con el objetivo de evaluar la presencia de diferencias entre las medias de ambos grupos tanto de linfoma no Hodgkin como el grupo control sano de acuerdo a la cifra de subpoblaciones linfocitarias obtenidas. Utilizamos la prueba t de student y prueba de Levene para homogeneidad de varianzas. Se compararon las medias del nivel de supervivencia global y supervivencia libre de progresión (meses) de acuerdo al estadio clínico mediante la prueba de Levene y Kruskal-Wallis para igualdad de medias. Para evaluar si existe una diferencia entre la media de la cifra de leucocitos de acuerdo a la presencia o ausencia de tumor

voluminoso se usó la t de Student. Se consideró como criterio para aceptar una diferencia estadísticamente significativa un valor de $p < 0.05$. Para el procesamiento de la información se elaboró una base de datos en Excel, de Microsoft, y finalmente el análisis estadístico lo realizamos con el paquete computacional Statistical Package for the social Sciences (SPSS) versión 19.

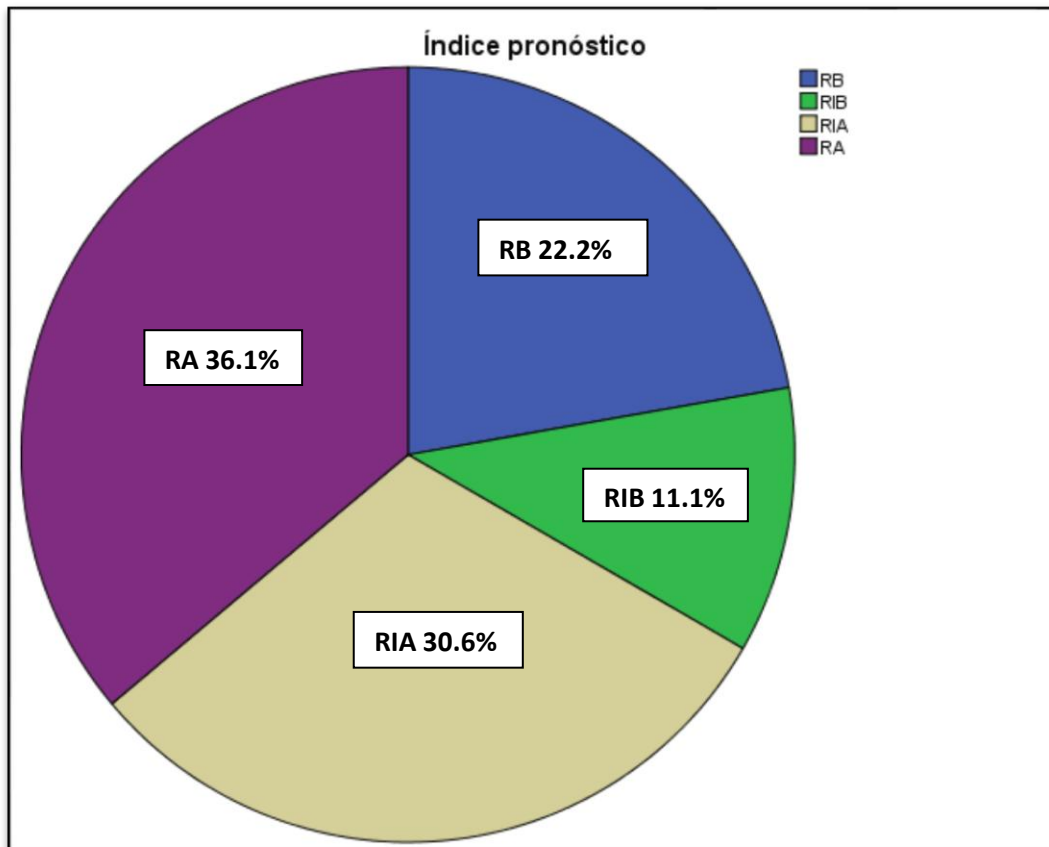
RESULTADOS

Estudiamos cuarenta y cuatro pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin en el periodo comprendido del 1 de marzo al 1 de diciembre del 2013. De los cuales de acuerdo a género fueron 19 (43%) femenino y 25 (57%) masculino. La mediana de edad era de 58.23 ± 15.5 años, (mínima de 23 y máxima de 82). La mediana de tiempo en meses del inicio de la sintomatología al diagnóstico oscila en 23.55 meses ± 34.8 (mínimo 1 mes y máximo de hasta 99 meses). Como datos generales del grupo tenemos que la mediana de peso fue de $66.24 \text{ kg} \pm 13.38 \text{ kg}$ (un mínimo de 39.5 kg y un máximo de 105 kg). La mediana de talla fue de $1.59 \text{ m} \pm .101$ (mínimo 1.36 m máximo 1.83 m), el estado funcional de los pacientes valorados mediante el ECOG se encontró de la siguiente forma; ECOG 0 10 pacientes (23.3%), ECOG 1; 17 pacientes (39.5%) ECOG 2; 13 (30.2%), ECOG de 3 (7%).

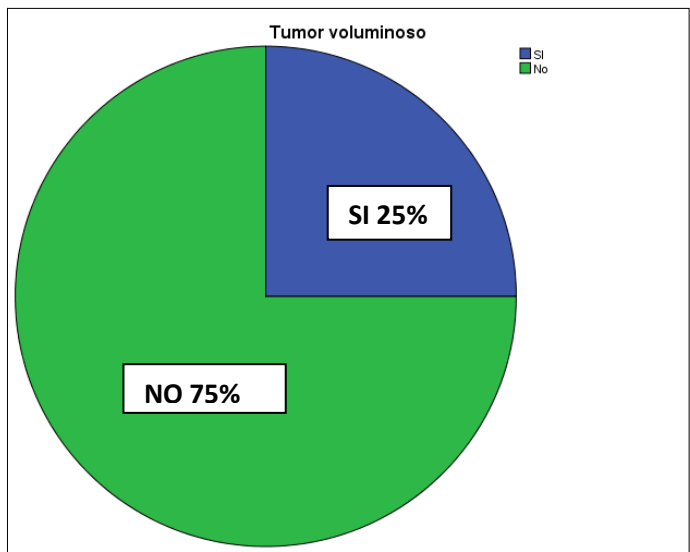
En cuanto al estadio clínico de la enfermedad al diagnóstico de acuerdo a la clasificación Ann Arbor; I-B 1 (2.3%), II-A 3 (6.8%), II-B 7 (15.9%), III-B 7 (15.9%) IV-A 4 (9.1%) IV-B 22 (50%) (Grafico 1).



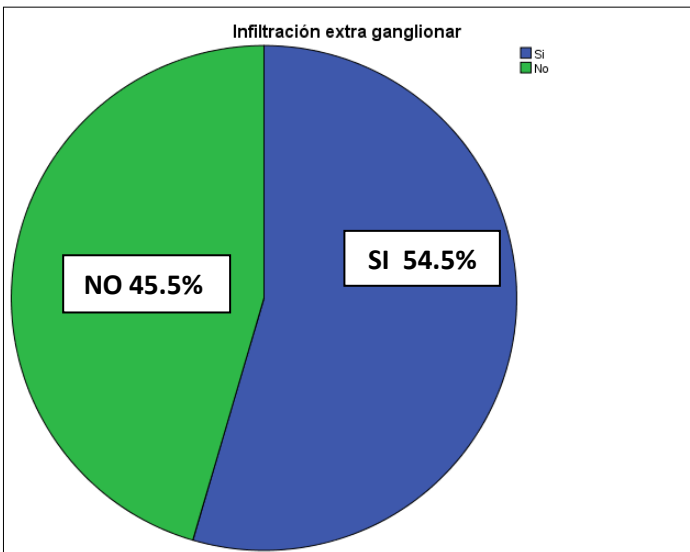
Se realizó cálculo del índice pronóstico en el grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin quedando la distribución de la siguiente forma: 8 pacientes (22.2%) fueron de riesgo bajo, 4 (11.1%) riesgo intermedio bajo, 11 (30.6%) riesgo intermedio alto y 13 (36.1%) riesgo alto (Grafico 2).



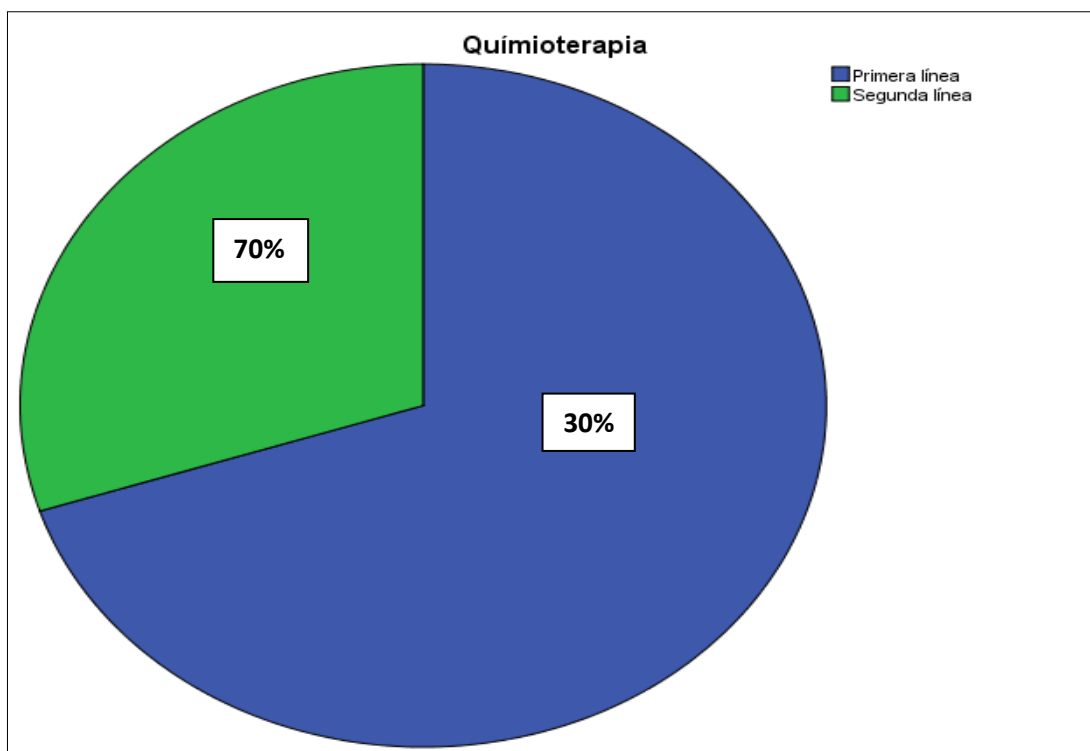
La presencia de tumor voluminoso al diagnostico fue otra variable valorada encontrando que en 11 pacientes (25%) estaba presente y en 33 (75%) no lo estaba (Grafico 3).



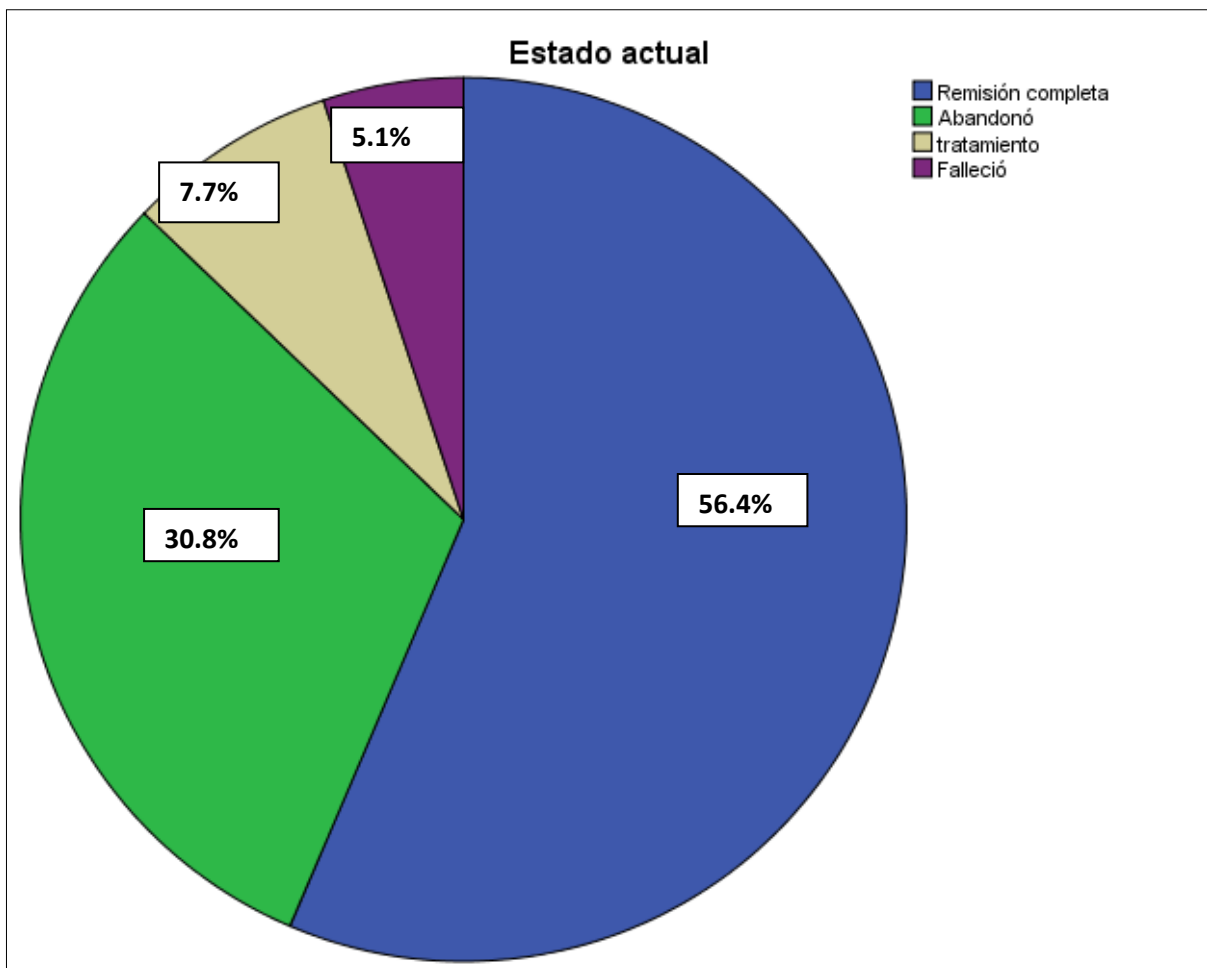
La infiltración extraganglionar se documento en 24 pacientes (54.5%) y en 20 estaba ausente (45.5%) los sitios de infiltración extraganglionar en orden de frecuencia fueron los siguientes: estomago 4 casos, mediastinos 4, colon 2, piel 2, ojo 2, medula ósea 2, amígdala 1, testículo 1, mama 1, ano 1, rodilla 1, glúteo 1 y pleura 1 caso.(Grafico 4).



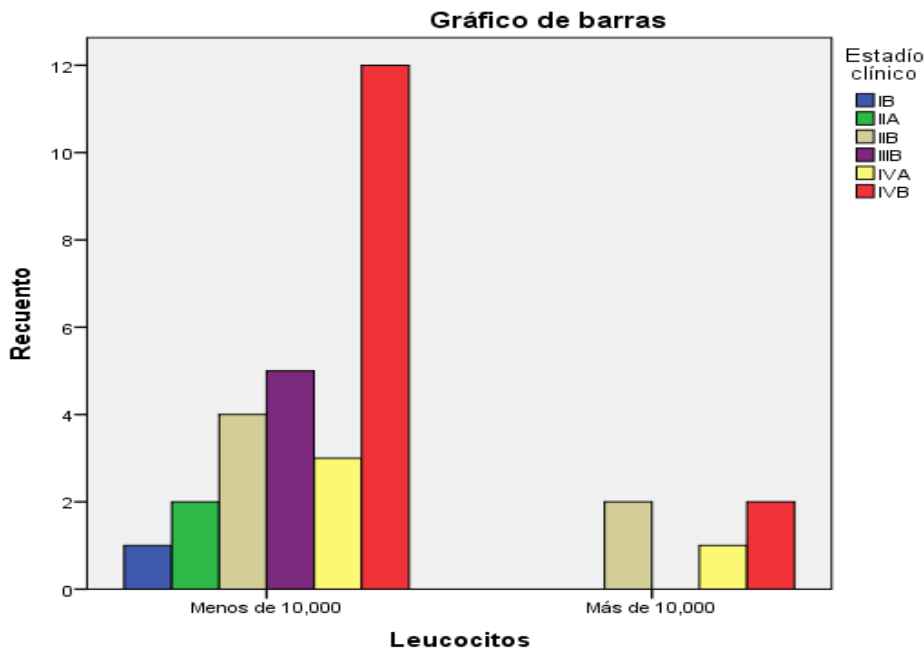
En cuanto a los tratamientos administrados al grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin se encuentra: quimioterapia en 40 pacientes. Dentro de los cuales se utilizó solamente terapia de primera línea (esquema CHOP-R) en 28 pacientes (70%) y en 12 casos (30%) hubo necesidad de utilizar terapia de segunda línea (siendo el esquema MINE el más utilizado) debido a recaída o refractariedad al esquema previamente administrado (Gráfico 5).



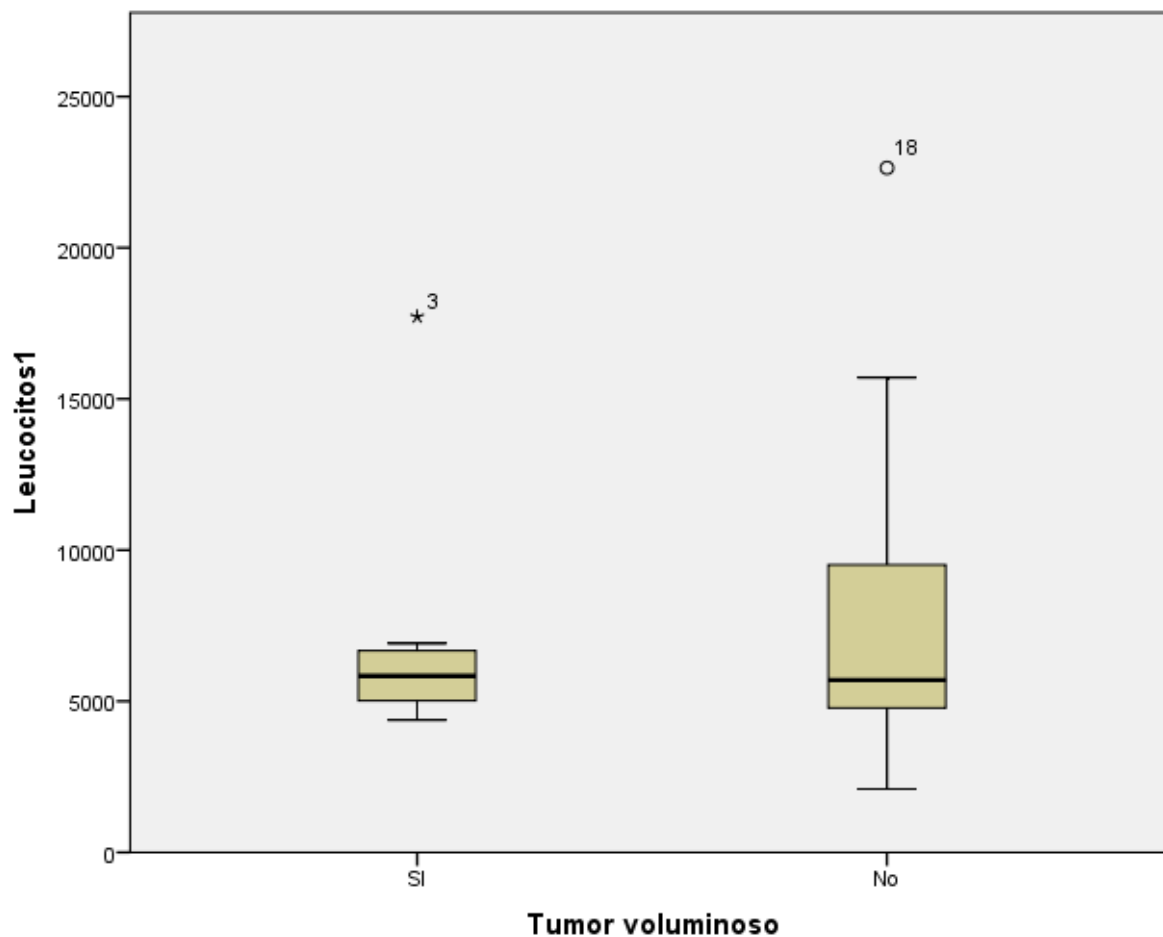
En cuanto al estado actual de los pacientes al cierre del estudio (fecha 1 de diciembre del 2013) encontramos 22 (56.4%) en remisión completa, abandono de tratamiento 12 (30.8%), en tratamiento 3 (7.7%), fallecimiento 2 (5.1%) y de 5 de los analizados se perdió el seguimiento (Grafico 8).



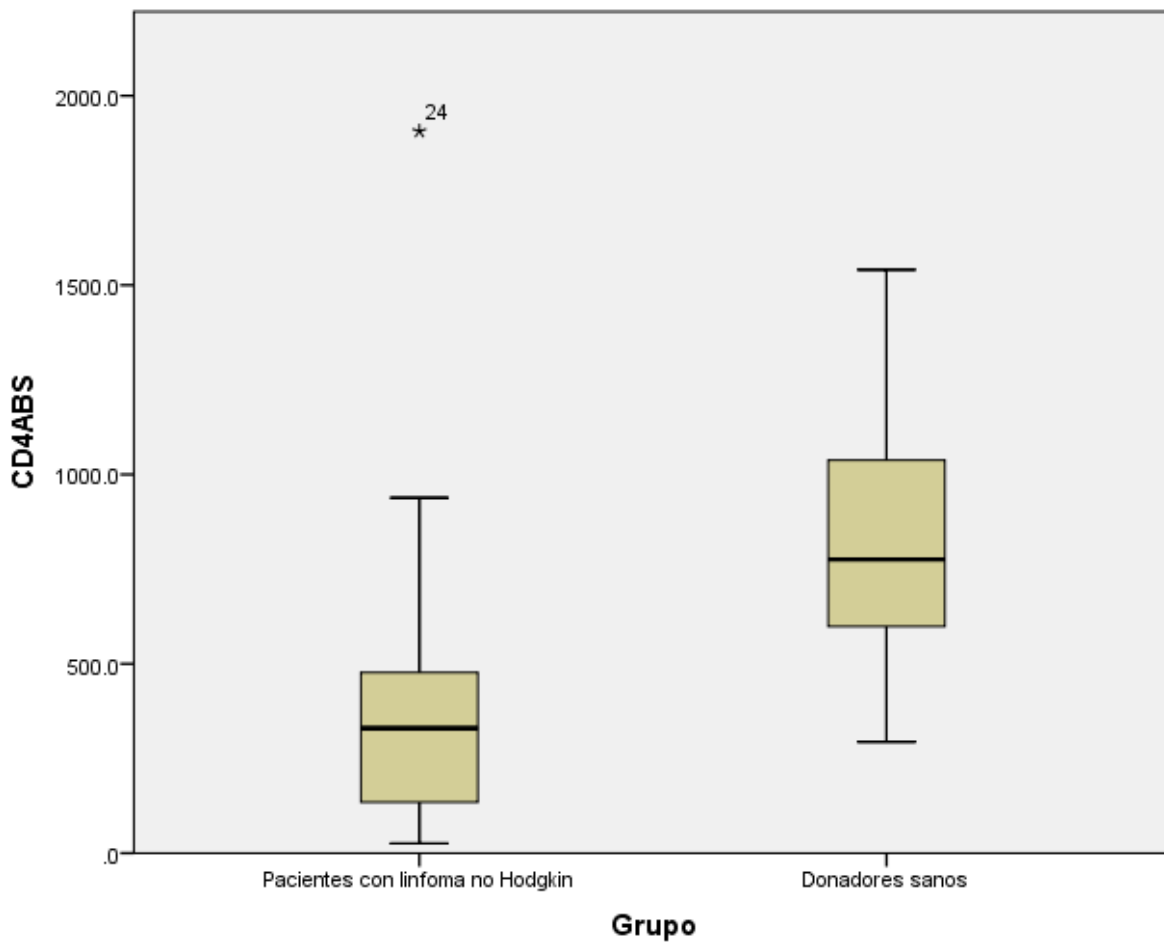
La cifra de leucocitos al diagnóstico en los pacientes con linfomas no Hodgkin fue una variable de suma importancia en el estudio ya que se pretendía valorar el estado inmunológico de los pacientes al compararlos con un grupo sano. Por lo que mostramos lo encontrado en el grupo enfermo de acuerdo al estadio clínico en el momento del diagnóstico (Gráfico 9). No se conto con los resultados de biometría hemática en 12 pacientes por lo que solo se reporta la información de 32 casos. El límite superior tomado en cuanto a la cifra de leucocitos fue de 10,000 encontrando por debajo de esta cifra a 27 casos de los cuales 12 eran estadio IV-B 3 IV-A, 5 III-B, 4 II-B, 2 II-A, 1 I-B, 5 casos debutaron con cifra por encima de 10,000 de los que se señalan 2 estadio II-B, 1 IV-A y 2 IV-B. Se calculo la prueba Chi-cuadrado de Pearson obteniendo un valor de 3.194 con una significancia de .670.



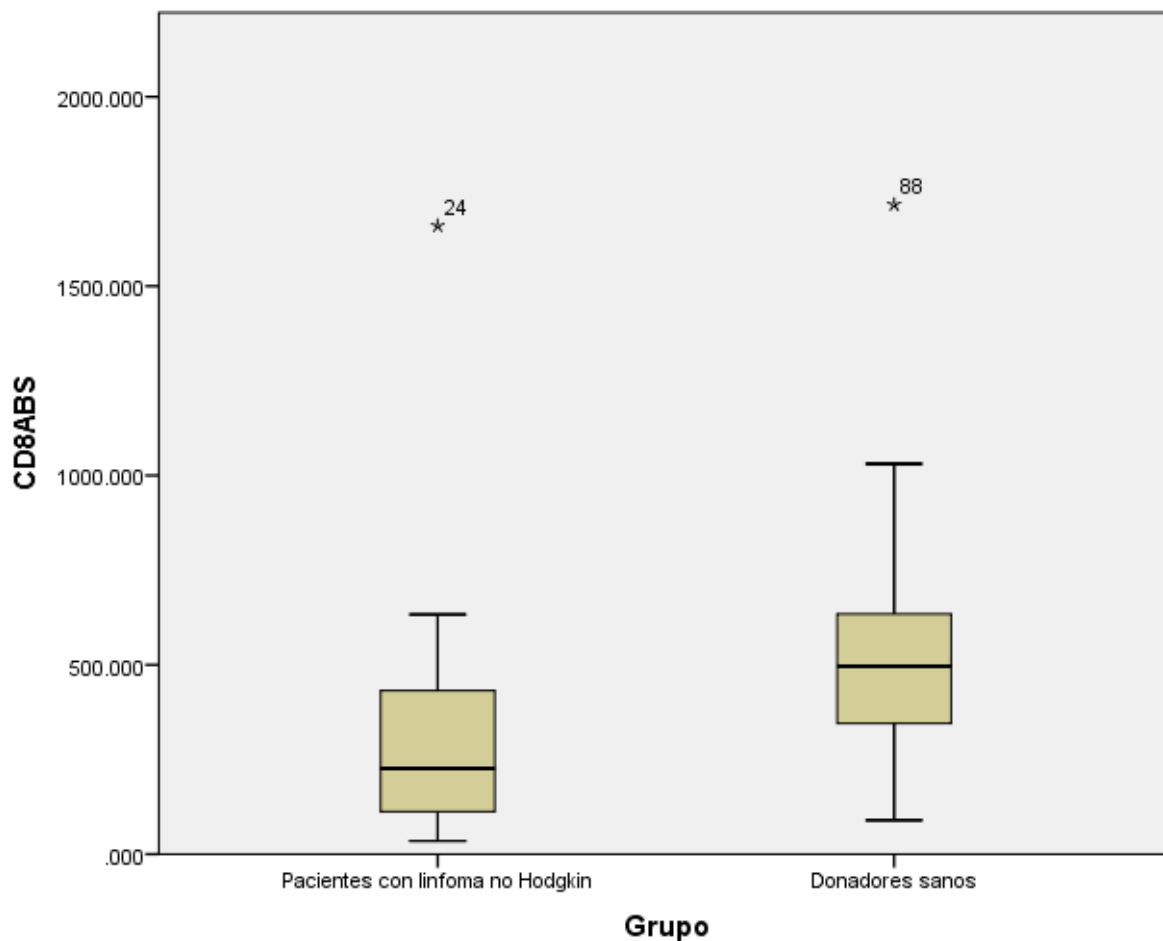
Realizamos un análisis estadístico de grupo de acuerdo a la cifra de leucocitos menor a 10,000 y la presencia o ausencia de tumor voluminoso encontrando que la presencia de este se documento solo en 10 casos y ausencia en 22 con una media de 6862 cel/ μ L y 7405 cel/ μ L, con una desviación estándar de 3907 cel/ μ L y 4645 cel/ μ L respectivamente. Se utilizo la prueba de Levene para la igualdad de varianzas encontrando igualdad y ausencia de significancia (Grafico 10).



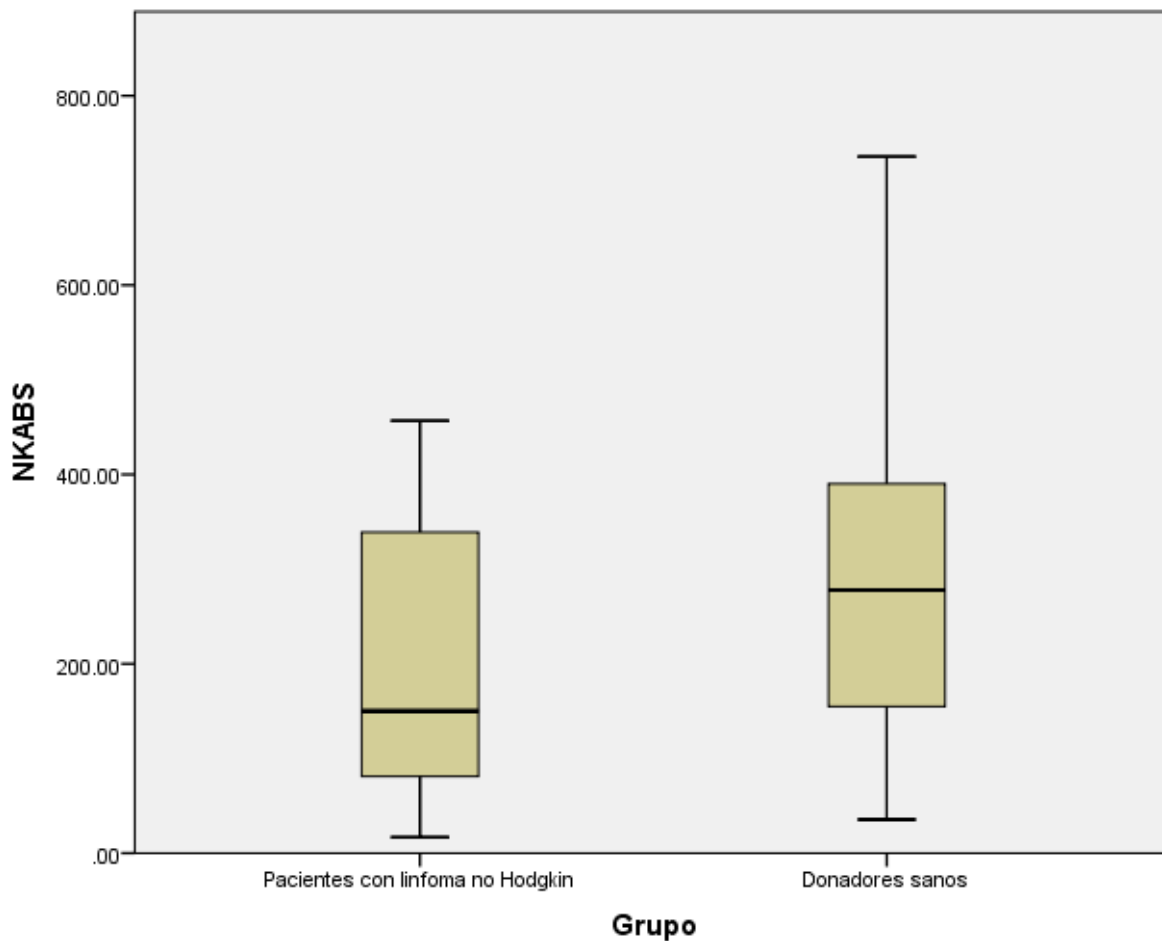
En cuanto a los hallazgos documentados en el análisis de las subpoblaciones linfocitarias podemos decir que los valores absolutos CD4 en el grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin comparándolo con el valor de 57 donadores sanos encontramos que la media en el grupo enfermo fue de 382 cel/ μ L con una desviación estándar de \pm 369, en el grupo sano la media en la determinación sérica fue de 824 cel/ μ L con una desviación estándar \pm 290 cel/ μ L. Se realizo la prueba de Levene para igualdad de varianzas obteniendo un valor de P=.000 altamente significativo, la prueba de T para igualdad de medias con un valor de t=-6 significancia .0001 (intervalo de confianza -589 a -296) (Grafico 11).



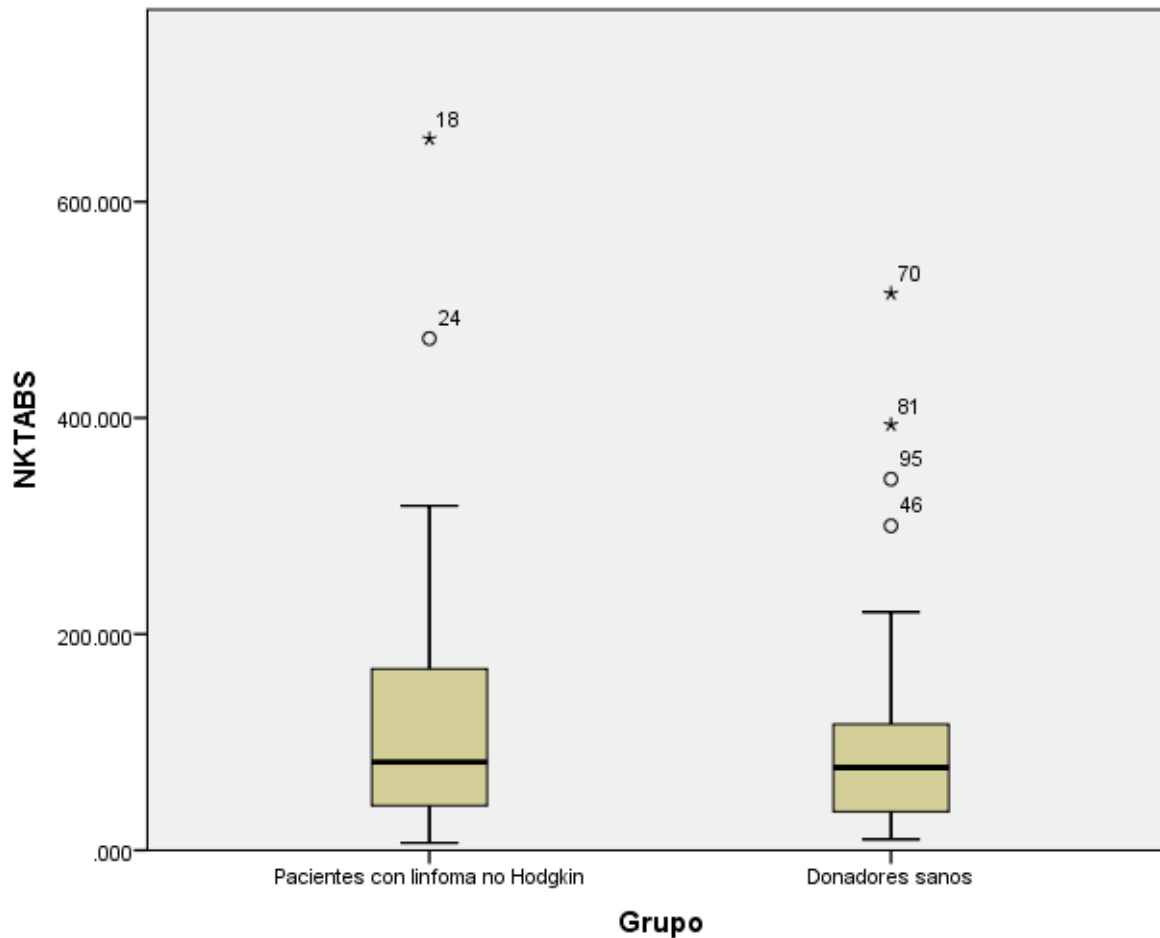
En cuanto a la determinación de CD8 en el grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin se encontró una media en la cifra de valores absolutos de 300 cel/ μ L con una desviación estándar de \pm 317 cel/ μ L mientras en los donadores sanos se obtuvo un valor de 534 cel/ μ L con una desviación estándar de \pm 270 cel/ μ L , se aplico la prueba de Levene encontrando un valor de P=.015 mientras que en la prueba de T para igualdad de medias se reporto un valor en el grupo con linfoma $t=-3.6$ y en el grupo sano $t=-3.3$. significancia .001 (Grafica 12).



En la determinación de subpoblaciones, la media en los niveles de NK en el grupo enfermo fue de 198 cel/ μ L con una desviación estándar de \pm 149 cel/ μ L mientras que el grupo control fue de 290 cel/ μ L con una desviación estándar de 291 cel/ μ L se aplicó la prueba de Levene con un valor de $P=.001$ y mediante la prueba T para igualdad de medias obtuvimos un valor $t=-2.5$ para el grupo con linfoma no Hodgkin, para el grupo sano el valor de $t=-2.6$, con un intervalo de confianza de 95% (valor inferior -166 superior -18.7 para grupo con linfoma) (grupo sano -164 -20.8) (Gráfico 13).



En la determinación de subpoblaciones en el grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin la media en el valor absoluto de NKT fue de 136 cel/ μ L con una desviación estándar de ± 147 cel/ μ L y para el grupo control la media reportada es de 100 cel/ μ L con una desviación estándar de ± 98 cel/ μ L. En la prueba de Levene se encontró una $P=3.4$ y la prueba de T para igualdad de medias con una $t=1.4$ y $t=1.2$ para el grupo enfermo y sano respectivamente (Grafico 14).



Durante el análisis se evaluó la relación existente entre la cifra de valores absolutos de CD4, CD8, NK, NKTi en el grupo de pacientes con linfoma no Hodgkin y el estadio clínico de la enfermedad al diagnóstico. Encontrando que mediante la prueba de medias de muestras independientes para el CD4, CD8, NK, NKTi no se presentaron diferencias entre las categorías en ambos estadios clínicos.

Se evaluó la supervivencia global en meses dependiendo del estadio clínico de la enfermedad encontrando que en el estadio I-B la media fue de 31 meses, en el II-A fue de 37 meses, II-B 43 meses, III-B 38 meses, IV-A 30 meses, IV-B 37 meses con un intervalo de confianza para la media del 95% .

Se realizó cálculo de la supervivencia libre de enfermedad o progresión determinada en meses encontrando que en aquellos pacientes con estadio clínico I-B la media era de 24 meses en el grupo II-B la media es de 33 meses, III-B 30 meses, IV-A 26 meses, IV-B 23 meses. Con un intervalo de confianza para la media del 95%.

DISCUSIÓN

El concepto de que el sistema inmune protege al huésped contra el cáncer fue propuesto por Ehrlich en 1909. En 1950 Burnet y Tomas modificaron este concepto considerando al sistema inmune como una herramienta importante en la eliminación de células cancerosas⁴.

Esto lleva a considerar que las subpoblaciones celulares en la sangre periférica pueden tener una importante función en la defensa del huésped para poder detectar la presencia de células tumorales circulantes y poder eliminarlas, sin embargo en el caso de los pacientes con linfoma es necesario saber si existe una variación en cuanto a la cantidad de cada una de las subpoblaciones celulares en la sangre periférica con respecto a personas sanas, ya que esto reflejaría de forma indirecta un estado de inmunosupresión asociado al linfoma que podría estar favoreciendo el desarrollo del mismo, de ahí la importancia de la realización de este estudio. En el presente estudio tipo casos y controles analizamos los datos clínicos y de laboratorio (subpoblaciones linfocitarias) de 44 pacientes con diagnóstico de linfoma no Hodgkin de novo comparándolo con un grupo sano, Encontrando que la mediana de edad de presentación fue de 58 años siendo más frecuente en el sexo masculino como lo publicado en la literatura. La mediana de tiempo en meses del inicio de la sintomatología al diagnóstico en el grupo oscilo en 23.55 meses. El estado funcional de la mayoría de los pacientes al diagnóstico evaluado por ECOG fue de 1 en 39.5%, el estadio clínico del grupo enfermo al momento del diagnóstico fue IV-B en 50% de los casos, solo el 25% de los pacientes presento tumor voluminoso y 54.5%

de los casos presentó infiltración extra ganglionar. La estadificación pronostica encontrada en la mayoría del grupo fue riesgo alto en 36.1%.

Descubrimos que el estado actual del grupo con linfoma no Hodgkin al cierre del estudio en su mayoría de los pacientes evaluados oscilaba en remisión completa el 56.4%, mientras que un 7.7% de la población está sometida bajo terapéutica de segunda línea como terapia de salvamento. En cuanto a la mortalidad esta se presentó en un 5.1% de los diagnosticados en la clínica de linfomas.

Los hallazgos en los valores de las subpoblaciones linfocitarias en ambos grupos como era lo esperado de acuerdo a la hipótesis planteada encontramos una diferencia estadísticamente significativa tanto en CD4, CD8 y NK disminuidos en comparación con el grupo control sano a excepción del valor absoluto de NKTi en ambos grupos el cual no presentó diferencia. Se realizó un análisis de asociación existente entre la cifra de CD4, CD8, NK, NKTi y el estadio clínico a su vez de la presencia o ausencia de tumor voluminoso al diagnóstico no encontrando diferencias entre ambas categorías por lo que se considero sin significancia estadística para el estudio.

La media de supervivencia libre de enfermedad reportada fue de 88 meses (23-33 meses).

La media de supervivencia global mínima del grupo fue de 87 meses (31-43 meses).

Con los resultados obtenidos en el estudio se demostró la existencia de alteraciones en cuanto a la cantidad de las subpoblaciones linfocitarias en la sangre periférica con respecto a personas sanas con lo cual sentamos un precedente y será necesaria la realización de estudios posteriores para evaluar el estado funcional de las subpoblaciones

linfocitarias. No existen publicaciones en la literatura en cuanto a la cifra de subpoblaciones en los pacientes con cáncer por lo que nuestro estudio sienta un precedente que sin duda favorece a este grupo de enfermos y nos permitirá en un futuro realizar intervenciones tempranas en cuanto al diagnóstico y administración de inmunoterapias.

CONCLUSIONES

1. Con los resultados de nuestro estudio concluimos que los pacientes con linfoma no Hodgkin tienen disminución en la cifra de subpoblaciones linfocitarias (TCD4+, TCD8+, NK) al compararlos con donadores sanos, lo que favorece al un estado de inmunosupresión posiblemente asociada al linfoma.
2. No existe asociación significativa entre la disminución de linfocitos TCD4+, TCD8+, NK, NKTi con el estadio clínico y la presencia o ausencia de tumor voluminoso al diagnostico.
3. No existe asociación estadísticamente significativa entre la supervivencia global y supervivencia libre de progresión en cuanto la cifra de subpoblaciones linfocitarias encontradas en los distintos grupos.

Con los hallazgos reportados en nuestro estudio consideramos será necesario realizar la determinación de subpoblaciones linfocitarias (TCD4+, TCD8+, NK) en los pacientes con sospecha de linfoma o diagnostico de este, para emprender intervenciones oportunas en cuanto al diagnostico temprano o al establecimiento de nuevos agentes terapéuticos.

Otra posible hipótesis que arrojo el presente estudio y seria de suma importancia investigar es la presencia de recuperación en la cantidad absoluta de TCD4+, TCD8+ y NK en los pacientes con linfoma al momento de lograr una remisión completa, no siendo así en aquellos en los que presentan falla al tratamiento.

BIBLIOGRAFIA

1. - Beutler.E, Lichtman.M, Collier.B, et.al. Williams Hematología. Ed MARBAN, sexta edición. 2007;103: 917(34).
- 2.- Gomez.J, et.al. Linfomas B y T Biología, Clínica y tratamiento. Ed nova Sidonia, segunda edición. 2002; 3:19-24
3. - WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, cuarta edition, 2008: pag: 158:166.
4. - Jinushi M, Takehara T, Kanto T, et.al. Critical Role of MHC Class I-Related Chain A and B: Expression on IFN Stimulated Dendritic Cells in NK Cell Activation: Impairment in Chronic Hepatitis C Virus Infection¹.The Journal of Immunology, 2003, 170: 1249–(56).
- 5.- Wilhelm M, Kunzmann V, Eckstein S, Reimer P, et.al. $\gamma\delta$ T-cells for immune therapy of patients with lymphoid malignancies. Blood 2003;102: 200-206
6. - Miyagawa F, Tanaka Y, Yamashita S, et.al. Essential contribution of germlineencoded lysine residues in J γ 1.2 segment to the recognition of nonpeptide antigens by human $\gamma\delta$ T-cells. Journal Immunology. 2001, 167: 6773-(69).
7. - Ferrarini M, Ferrero E, Dagna L, et.al. Human $\gamma\delta$ T cells: a nonredundant system in the immune-surveillance against cancer. Trends Immunology. 2002. 23: 14-18.
8. - Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. Trends in Immunology 2001;22:633–(40).

9.- Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56 (bright) subset. *Blood* 2001.97:3146–51.

10. - Powell JD and Levine B. Adoptive T-cell therapy for malignant disorders. *haematologica* 2008. 93: 1452-(55).

ANEXOS

ANEXO 1 HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NUM FOLIO	FECHA
FECHA	DIAGNOSTICO
EDAD	GENERO
DONADOR LNH	DONADOR SANO
FECHA DE DIAGNOSTICO	VARIEDAD
ESTADIO CLINICO	FACTORES DE RIESGO
TUMOR VOLUMINOSO	AFECTACION EXTRAGANGLIONAR
TAC	PET-CT
BIOPSIA DE HUESO	REPORTE HISTOPATOLOGICO
SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS	SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS
PACIENTE CON LNH	DONADORES SANOS
TCD4+	TCD4+
TCD8+	TCD8+
NK	NK
NKti	NKti