



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**EXPRESIÓN DE CITOCINAS PRO Y ANTI INFLAMATORIAS Y SU
CORRELACIÓN CON MARCADORES BIOQUÍMICOS EN PACIENTES CON
CARCINOMA PULMONAR DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS ETAPAS CLÍNICAS
IIIB Y IV EN TRATAMIENTO CON QUIMIOTERAPIA**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA
URIEL RUMBO NAVA

TUTOR
DR. JOSÉ SULLIVAN LÓPEZ GONZÁLEZ
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX. MARZO 2021



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de
la Salud
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”

DR. CARLOS A. AGUILAR SALINAS

Coordinador de sede
INCMNSZ

DR. JOSÉ SULLIVAN LÓPEZ
GONZÁLEZ

Tutor de tesis

URIEL RUMBO NAVA

Alumno de Maestría en Ciencias

ÍNDICE

Resumen	4
Abstract	6
Introducción	8
Justificación	21
Planteamiento del problema	23
Objetivos	24
Hipótesis	24
Material y métodos	25
Resultados	30
Discusión	35
Conclusiones	39
Bibliografía	40

RESUMEN

Antecedentes

El cáncer de pulmón es un importante problema de salud a nivel mundial debido a la alta tasa de mortalidad. De acuerdo con la OMS ocupa la primera causa de mortalidad en ambos sexos. El tratamiento y el pronóstico depende de la etapa clínica y para los que se clasifican como enfermedad avanzada el manejo es solo quimioterapia. Se ha visto que pacientes con etapas clínicas avanzadas tratados con quimioterapia convencional con factores clínicos y funcionales similares al inicio del tratamiento, presentan una supervivencia distinta. Se menciona que el manejo con quimioterapia modifica las concentraciones de citocinas pro y anti inflamatorias y estas se han asociado con la supervivencia libre de progresión y la global.

Objetivos

Evaluar el efecto del tratamiento con quimioterapia convencional en pacientes con adenocarcinoma pulmonar, sobre la concentración sérica de citocinas pro y anti inflamatorias.

Evaluar si el tratamiento con quimioterapia convencional en pacientes con adenocarcinoma pulmonar modifica la relación neutrófilos/linfocitos (RN/L) y si esta se asocia con la supervivencia.

Material y métodos

Estudio de cohorte, prospectivo de pacientes atendidos en la clínica de neumología oncológica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar en etapas clínicas IIIb y IV. Los pacientes incluidos fueron manejados con quimioterapia convencional a base de taxanos y platinos y fueron seguidos durante su primeros 6 ciclos de aplicación. Fueron

medidas concentraciones séricas de citocinas en 3 tiempos: basales, 3 y 6 meses de tratamiento, así como laboratorios generales. Posterior de concluir los primeros 6 meses, fueron seguidos por otros 6 meses más y al cabo del año se evaluaron los pacientes que continuaron vivos y se compararon con los pacientes que fallecieron en este seguimiento. Las concentraciones séricas de citocinas, así como la RN/L en ambos grupos fueron comparadas.

Resultados

Se incluyeron 41 pacientes, los cuales completaron las 3 mediciones a los 6 meses y el seguimiento al año se logró en 38 pacientes. De las características iniciales, el 61% fueron hombres, la edad promedio fue de 59 años, 48% tenían antecedente de tabaquismo y 39% presentaron derrame pleural. De las 7 citocinas que se midieron no se observaron cambios significativos en el grupo general, pero en el grupo de pacientes que se mantuvieron vivos se observó una tendencia hacia la disminución de la interleucina 6 (IL-6) y una disminución del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en los pacientes que murieron en el seguimiento. De la RN/L se observó una franca disminución en los pacientes que sobreviven y en los que que fallecen se mantiene sin cambios.

Conclusiones

Observamos una asociación de mayor supervivencia con disminución progresiva de la IL-6 y menor supervivencia con disminución de TNF- α . Con la RN/L se corrobora que existe una asociación inversa de que a mejor pronóstico menor valor de ésta.

Palabras clave: cáncer de pulmón, quimioterapia, citocinas, RN/L.

ABSTRACT

Background

Lung cancer is a major health problem worldwide due to the high mortality rate. According to the WHO, it is the leading cause of mortality in both sexes. Treatment and prognosis depend on the clinical stage and for those classified as advanced disease, management is only chemotherapy. It has been seen that patients with advanced clinical stages treated with conventional chemotherapy with similar clinical and functional factors at the beginning of treatment, present a different survival. It is mentioned that chemotherapy management modifies the concentrations of pro and anti inflammatory cytokines and these have been associated with progression-free and overall survival.

Objectives

To evaluate the effect of treatment with conventional chemotherapy in patients with lung adenocarcinoma, on the serum concentration of pro and anti inflammatory cytokines.

To assess whether treatment with conventional chemotherapy in patients with lung adenocarcinoma modifies the neutrophil/lymphocyte ratio (NL/R) and if this is associated with survival.

Methods

A prospective cohort study of patients seen at the INER pneumology oncology clinic with a diagnosis of pulmonary adenocarcinoma in clinical stages IIIb and IV. The included patients were managed with conventional chemotherapy based on taxanes and platinum and were followed during their first 6 application cycles. Serum

cytokine concentrations were measured at 3 times: baseline, 3 and 6 months, as well as general laboratories. After concluding the first 6 months of treatment, they were followed up for another 6 months and at the end of the year the patients who were still alive were evaluated and compared with the patients who died in this follow-up. The serum concentrations of cytokines, as well as the N/LR in both groups were compared.

Results

41 patients were included, who completed the 3 measurements at 6 months and complete follow-up at 1 year was achieved in 38 patients. Of the initial characteristics, 61% were men, the mean age was 59 years, 48% had a history of smoking, and 39% had pleural effusion. Of the 7 cytokines that were measured, no significant changes were observed in the general group, but in the group of patient who remained alive there was a trend towards a decrease in interleukin 6 (IL-6) and a decrease in tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in patients who died at follow-up. The N/LR shows a clear decrease in patients who survive and in those who die, it remains unchanged.

Conclusions

We observed an association of longer survival with a progressive decrease in IL-6 and shorter survival with a decrease in TNF- α . With the RN / L it is corroborated that there is an inverse association that the better the prognosis, the lower its value.

Key words: Lung cancer, chemotherapy, cytokines, N/LR.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, según estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y GLOBOCAN, en el 2020 el cáncer pulmonar representó la primera causa de mortalidad debida a cáncer en ambos sexos y la segunda de incidencia. Se menciona un total de 1,587,642 casos nuevos de cáncer pulmonar que correspondió al 12.7% del total de tipos de cáncer, y en cuanto a mortalidad para ese año un total de 1,235,588 casos que representó el 18.2%.

Dividido por sexo para los hombres se reportaron 1,057,219 casos nuevos (16.5%) y una mortalidad de 842,448 casos (22.5%), quedando en primer lugar en ambos rubros. Para el caso de las mujeres se menciona una incidencia de 530,423 (8.5%) de casos y con una mortalidad de 393,140 (12.8%) posicionándose en cuarto lugar como incidencia y como segundo lugar de mortalidad.¹

En Estados Unidos, según lo estimado para el año 2020, el cáncer pulmonar continuó como la primera causa de muerte por cáncer en ambos sexos y la segunda causa de casos nuevos por cáncer, solo seguido del cáncer de próstata en el hombre y el de mama en la mujer. Se menciona que para ese año se estimaron un total de 146,589 casos nuevos de cáncer pulmonar para ambos sexos, en lo que respecta a hombres son 76,204, que representa el 14% de todos los tipos de cáncer solo por debajo del de próstata que representa el 29%. En cuanto al sexo femenino se mencionan 70,385 casos nuevos representando el 14% de todos los tipos de cáncer, igualmente en segundo lugar y solo por debajo del cáncer de mama que representó el 29% del total. En lo que respecta a las cifras de mortalidad se estimaron 79,648 tan solo para ese año, quedando en primer lugar en ambos sexos,

para hombres son 43,882 muertes, que representó el 29% de muertes por cáncer y para las mujeres un total de 35,766 que equivale al 26% de total para ese sexo.^{1,2}

Para México, la cifras varían un poco, de acuerdo con la OMS, en el 2020 de manera global el cáncer pulmonar ocupó el séptimo lugar en incidencia por debajo de los cánceres de mama, próstata, colon y recto, tiroides, cervico uterino y estómago, pero ocupó el primero en mortalidad. Se reportaron un total de 4,927 casos nuevos (7.8%), con una mortalidad de 4,484 (11.3%) del total de casos de cáncer. Dividido por sexo para lo hombres se reportaron 2,883 casos nuevos (10.2%) y una mortalidad 2,684 casos (15.7%), octavo lugar en incidencia y primer lugar en mortalidad. Para la mujeres se reportaron un total de 2,044 casos nuevos (4.3%) con una mortalidad de 1,800 casos (7.1%), representando el séptimo lugar de casos nuevos y la octava causa de mortalidad.¹

El fenómeno que se ha estado observando que ocurre desde hace más de 30 años es que, a nivel mundial, el cáncer pulmonar ha aumentado tanto la incidencia como la mortalidad hasta llegar a los lugares que ocupa actualmente y esto es principalmente atribuido al incremento en la prevalencia de tabaquismo tanto en hombres como en mujeres, a pesar de los esfuerzos internacionales por las campañas para dejar de fumar. Se ha estimado que el número total de casos de cáncer pulmonar se elevó en 51% desde 1985, siendo un 44% en hombres y 76% en mujeres.³

El cáncer pulmonar se dividido en dos grandes grupos, el cáncer pulmonar de células pequeñas (CPCP) que representa el 20% y el cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) que representan aproximadamente el 80%. Este último

incluye los tipos histológicos: carcinoma pulmonar de células grandes, carcinoma epidermoide y el adenocarcinoma pulmonar, que es el de mayor frecuencia (60-70%). Dentro de los factores de riesgo implicados en el desarrollo del carcinoma pulmonar se encuentran en primer lugar el tabaquismo, se menciona que hasta el 80% de todos los casos de cáncer pulmonar están relacionados a exposición a tabaquismo. Otros factores son el tabaquismo pasivo (laboral y en el hogar), exposición a humo de biomasa, radón, asbesto, entre los de mayor importancia.³

La mortalidad tan elevada de este cáncer se explica, en parte, a que el diagnóstico se hace en la mayoría de los casos en etapas avanzadas de la enfermedad. Más del 85% de los pacientes al momento del diagnóstico se encuentran en etapas clínicas IIIb y IV, y para este grupo de pacientes el tratamiento se basa en quimioterapia paliativa. La supervivencia media de los pacientes con etapa clínica IIIb en manejo con quimioterapia es de 10-13 meses, para los de etapa clínica IVA con metástasis intratorácicas de 6-10 meses y para los que tienen metástasis a distancia (IVb) es de 3-6 meses. El manejo con quimioterapia en estos pacientes intenta mejorar la calidad de vida e incrementar la supervivencia de algunos de ellos, ya que comparado con pacientes que no reciben manejo alguno, la supervivencia disminuye a la mitad o menos tiempo de lo antes comentado.^{4,5}

La respuesta al manejo con quimioterapia se evalúa tanto clínica como radiológicamente de acuerdo con la guía internacional para medir la respuesta a la misma. Esta guía se denomina Criterios para Evaluación de la Respuesta en

Tumores Sólidos (RECIST) por sus siglas en inglés, en 2009 se publicó la actualización versión 1.1. La nomenclatura que se acordó fue de definir la respuesta como completa o parcial, enfermedad estable y progresión de la enfermedad. Se designa respuesta completa cuando hay desaparición de todas las lesiones iniciales, además de que cualquier ganglio linfático patológico muestre una disminución de su tamaño que en el eje menor sea $< 10\text{mm}$. La respuesta parcial se define como la disminución de al menos un 30% de la suma de los diámetros de la lesión principal, tomando como referencia la suma de los diámetros basales. La progresión de la enfermedad es cuando hay al menos un 20% de incremento de la suma de los diámetros de la lesión principal. Adicionalmente a este incremento relativo del 20%, también puede demostrarse con un incremento absoluto de cuando menos 5mm de la lesión. La aparición de una o más lesiones también es considerado como progresión. La enfermedad estable se define como que no hay disminución suficiente para definir como remisión parcial y no hay aumento suficiente para definirlo como progresión de la enfermedad, tomando como referencia la suma de los diámetros inferiores.⁶

SISTEMA INMUNE Y CÁNCER

Actividad Anti-Tumoral

Recientemente se ha demostrado de manera fehaciente que el sistema inmunológico tanto de su rama innata, conformada por células NK, NKT, monocitos/macrófagos y células dendríticas, como las implicadas en la respuesta inmune adaptativa como los linfocitos T CD4+ de ayuda y linfocitos T CD8+ o citotóxicos, protege al huésped de la formación de tumores. Lo anterior se logra

mediante la identificación y eliminación de células que expresen antígenos tumorales, así como moléculas inducidas por estrés celular.^{7, 8} Actualmente se conoce que diversos fármacos citotóxicos inducen estrés en las células tumorales lo que resulta en su muerte.^{9, 10}

La quimioterapia induce la muerte de las células tumorales por apoptosis, esta modalidad de muerte celular se había considerado como no inmunogénica o tolerogénica, actualmente se ha incluido un nuevo concepto: la muerte celular inmunogénica.^{11, 12} La inmunogenicidad de las células en apoptosis se considera que, además del antígeno tumoral, es mediada por una variedad de moléculas denominadas “patrones moleculares asociados a daño” (DAMPs) o también conocidas como alarminas. Estas moléculas se encuentran en el interior de la célula viva y adquieren propiedades inmunoestimuladoras cuando se exponen extracelularmente por células dañadas o muertas.¹³ Se ha demostrado que las células tumorales tratadas con diversos compuestos quimioterapéuticos liberan o expresan en su superficie DAMPs, entre los que se encuentran: calreticulina, proteínas de choque térmico (HSP), fosfatidilserina, ácido úrico, HMGB1, entre otras.¹⁴ La exposición de HSP70, HSP90, calreticulina y fosfatidilserina actúan como señales que facilitan la endocitosis de las células en apoptosis por parte de las células dendríticas que actúan como presentadoras de antígeno profesionales (APCs).¹⁵ Asimismo, la liberación de ácido úrico y HMGB1, que presentan actividad de citocinas pro-inflamatorias, actúan como señales quimiotácticas para macrófagos y células dendríticas.¹⁶ Se ha demostrado que los DAMPs tienen un papel primordial en el reconocimiento de los antígenos tumorales presentes en las

células en apoptosis y en la inducción de la respuesta inmunológica en contra de las células tumorales residuales.

Estudios en modelos animales tratados con algunos fármacos citotóxicos han demostrado que la activación de las células de la respuesta inmune adaptativa erradica aquellas tumorales residuales, lo que conlleva a incremento en la supervivencia de los ratones o bien en la eliminación completa de la masa tumoral. En modelos animales se ha reportado que el tratamiento antitumoral, basado en platinos, estimula la activación de las células inmune innatas y adaptativas y en particular de los linfocitos T citotóxicos que actúan de manera directa reconociendo y eliminando a las células tumorales.¹⁷

Las células de la respuesta inmune adaptativa como los linfocitos T, después de reconocer el antígeno tumoral por medio de los receptores de la célula T (TCR), requieren de la participación de diversas moléculas coestimuladoras. Además de estas dos señales a nivel membrana, es necesaria la captación de una serie de factores solubles llamadas citocinas que funcionan como tercera señal. Estas citocinas son producidas por otras estirpes inmunocelulares como los linfocitos T CD4+ cooperadores, monocitos/macrófagos, APCs para estimular la proliferación y diferenciación a células T citotóxicas efectoras (CTLs) con potencial para la eliminación de las células tumorales.¹⁸

En otro aspecto, se ha reportado que los tumores pueden evadir su reconocimiento por parte de la respuesta inmune del huésped. Son varios los mecanismos implicados en esta evasión que varía desde la pérdida de antigenicidad, la disminución de la expresión de las moléculas de clase I del MHC, sobreexpresión de moléculas con actividad anti-apoptótica, producción de enzimas asociadas con la

inmunosupresión (indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO)), sobreexpresión de check point inmunológicos (PDL1, CTLA-4, etc.), secreción de citocinas que favorecen la angiogénesis (VEGF), citocinas con actividad pro-tumoral, etc.

Estos eventos pueden iniciar desde la etapa de progresión tumoral en la que existe una estrecha colaboración entre las células del tumor, células del sistema inmune y células del estroma.¹⁹ Se considera que el constante crecimiento del tumor, sumado a la muerte de algunas células por la falta de oxígeno y nutrientes genera zonas de hipoxia y un estado anti-inflamatorio generado por un microambiente compuesto principalmente por la IL-10 y TGF-beta. Estas citocinas liberadas principalmente por las células tumorales modifican gradualmente el microambiente tumoral, cambiando el fenotipo de diversas células inmunes como: células mieloides supresoras, cambio del fenotipo Th1 a Th2, generación de células Tregs, las cuales ahora presentan actividad protumoral incrementando la producción de las citocinas liberadas por el tumor u otras citocinas para favorecer la supervivencia celular, angiogénesis, migración e invasión de las células tumorales, eventos característicos del cáncer.

Mediadores solubles en el microambiente tumoral

Como se mencionó anteriormente, en el tumor primario existe una compleja interacción de eventos celulares en los que de manera importante participan factores solubles secretados tanto por células tumorales, células del sistema inmunológico, así como por células epiteliales cercanas al tumor. De este modo, los factores solubles presentes en el microambiente pueden inhibir la progresión del tumor (actividad anti-tumoral) o favorecer el progreso tumoral (actividad pro-

tumoral).²⁰ A continuación, se mencionan algunos mediadores solubles presentes dentro del microambiente tumoral en cáncer de pulmón.

Interferón γ (IFN- γ)

El IFN- γ es secretado por células NK y NKT y linfocitos T (CD4+ y CD 8+).²¹ Durante la etapa de eliminación, el IFN- γ es la principal citocina activadora de macrófagos ya que favorece la presentación de antígenos induciendo la expresión de moléculas de MHC clase I y clase II.^{21 22} El IFN- γ es inhibido por la IL-4, IL-10 y TGF- β producidos por linfocitos Th2, Treg, macrófagos M2 o células tumorales, esta disminución afecta de manera negativa la expresión de las moléculas del MHC, lo que se asocia con la reducida inmunogenicidad del tumor.^{22, 23}

Factor de necrosis tumoral α (TNF- α)

El TNF- α es producido por macrófagos y DCs como respuesta a un estímulo proinflamatorio.²² El TNF- α participa durante la etapa de eliminación activando monocitos y neutrófilos, favorece el reclutamiento de células del sistema inmunológico a sitios de inflamación induciendo la expresión de moléculas de adhesión para neutrófilos, monocitos y linfocitos por parte de las células endoteliales^{22, 24, 25}. La disminución en la concentración de esta citocina se asocia con supresión del sistema inmunológico²⁶. Por otra parte, las células tumorales pueden secretar pequeñas cantidades de TNF- α que genera un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos lo que promueve la formación de derrame pleural en el paciente con cáncer pulmonar.^{22, 27}

Interleucina 1 (IL-1)

La familia de la IL-1 consiste en dos moléculas agonistas (IL-1 α e IL-1 β) y un receptor antagonista (IL-1Ra) que al unirse a la IL-1 preformada no genera ninguna señal de activación ²¹. La expresión de IL-1 β es regulada a través de un proceso de activación mediada por el inflamasoma ²⁸. La IL-1 β tiene un papel similar descrito para TNF- α ²². Por otra parte, el incremento en la concentración de IL-1 β se ha asociado con angiogénesis y metástasis ya que favorece la sobre-expresión de la molécula 1 de adhesión endotelial (ICAM-1), la molécula 1 de adhesión vascular (VCAM-1), VEGF y TGF- β en las células tumorales.^{25, 29}

Interleucina 2 (IL-2)

La IL-2 es secretada principalmente por linfocitos T CD4+ activados y T CD8+ naive, así como por las DCs.^{21, 22} En la etapa de eliminación de las células tumorales por la respuesta inmune del hospedero, la IL-2 actúa como un potente estimulador de la respuesta inmunológica, es un factor de crecimiento para los linfocitos T responsables de la expansión clonal en respuesta al reconocimiento de antígenos tumorales, también estimula la proliferación y diferenciación de las células NK.^{21, 22, 30, 31} En etapas avanzadas del cáncer, la IL-2 puede ser captada por las células Treg que expresan la sub-unidad α del receptor de IL-2, esta sub-unidad presenta alta afinidad por la IL-2 lo que provoca una disminución en la concentración de IL-2 y por consecuencia no se genere una adecuada respuesta inmunológica mediada por linfocitos T.^{22, 32, 33} Además, en nuestro grupo de trabajo hemos detectado células tumorales que expresan la molécula CD25 y éstas podrían captar la IL-2 para su

crecimiento, que favorece la progresión tumoral y por ende un mal pronóstico para los pacientes con CPCNP.

Interleucina 4 (IL-4)

La IL-4 es considerada una citocina anti-inflamatoria, producida por linfocitos T activados (Th2), mastocitos, basófilos, eosinófilos y células NKT.^{21, 34, 35} En cáncer, la IL-4 al unirse a la subunidad α de su receptor (IL-4R α) induce la expresión del factor de transcripción GATA3 lo que favorece la generación de linfocitos Th2, a la vez que suprime la polarización hacia un perfil tipo Th1 (silenciando la expresión de IL-12 e IFN γ).^{21, 34} Además, la IL-4 también participa en la inducción de linfocitos T reguladores (Treg) lo que favorece la progresión tumoral.³⁶

Interleucina 6 (IL-6)

La IL-6 es una citocina producida por macrófagos, linfocitos Th2, células endoteliales y fibroblastos.^{21, 22} La IL-6 favorece el reclutamiento de neutrófilos, promueve la migración, proliferación y activación de linfocitos T y junto con el TNF- α estimula a los linfocitos T CD8+ favoreciendo una potente actividad citolítica, lo que lleva a la eliminación de las células tumorales.^{21, 22, 25} Sin embargo, la IL-6 puede tener un papel negativo en etapa avanzadas del cáncer ya que inhibe la diferenciación de DCs, favorece la inducción de macrófagos tipo M2, es un regulador positivo de las células mieloides supresoras (MDSC) reclutadas en el sitio del tumor, induce la producción de metaloproteasas (MMP) y favorece la angiogénesis y metástasis.^{22, 37}

Interleucina 10 (IL-10)

La IL-10 es una potente citocina anti-inflamatoria, es secretada por linfocitos Th2 y Treg, linfocitos B, monocitos, macrófagos, granulocitos, keratinocitos y DCs.^{21, 22} La IL-10 afecta principalmente a macrófagos y DCs inhibiendo su diferenciación y sus características de células presentadoras de antígenos (APC), disminuyendo la expresión de la molécula del MHC clase II y de las moléculas co-estimuladoras CD80 y CD86.^{21, 22, 38} Además, evita la producción de citocinas de tipo Th1 (IL-2, IFN- γ).^{22, 39} En los pacientes con cáncer se ha reportado que el incremento en la concentración de IL-10 se asocia con mal pronóstico, ya que favorece la sobre-expresión de la molécula BCL-2 en las células tumorales, inhibiendo de esta manera la apoptosis.^{40, 41}

Interleucina 17 (IL-17)

La familia de IL-17 incluye la IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (también llamada IL-25) e IL-17F. La IL-17 es producida principalmente por linfocitos Th17 y en pequeñas cantidades por linfocitos $T\gamma\delta$, células NKT, neutrófilos y monocitos.^{7, 42, 43} La IL-17 induce la producción de factor de crecimiento de granulocitos-monocitos (GM-CSF), factor de crecimiento de granulocitos (G-CSF); quimiocinas como CXCL-1, CXCL-8, lo que favorece el reclutamiento de neutrófilos y macrófagos.^{43, 44} También induce la producción de IL-6, IL-8, TNF- α , IL-1 β , este microambiente pro-inflamatorio favorece la activación de los linfocitos T CD8+. ⁴⁴ De manera paradójica, se ha descrito que la IL-17 induce la producción de MMP y VEGF favoreciendo la invasión y metástasis de las células tumorales.^{43, 44}

Factor de crecimiento transformante β (TGF- β)

El TGF- β es una citocina que presenta tres isoformas distintas TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3, siendo la primera la más abundante. EL TGF- β se secreta en una forma latente, la cual se activa al disociarse del péptido de latencia asociado a TGF- β (LAP-TGF- β).^{45, 46} El TGF- β 1 es un componente estimulador de la quimiotaxis, ya que estimula la migración de monocitos, neutrófilos, fibroblastos y linfocitos.^{47, 48} El TGF- β ha sido considerado como el principal factor inmunosupresor secretado por las células tumorales, favorece la expresión de IL-10 y suprime la producción de IL-2, así como la proliferación de linfocitos T inducida por IL-2, en los linfocitos T CD8+ y células NK inhibe la producción de IFN- γ , granzimas y perforina.^{22, 38} Además, es un factor importante en la diferenciación de linfocitos Th17 y linfocitos T reguladores (Treg).⁴⁹

En lo que respecta a la búsqueda de marcadores inflamatorios como predictores de supervivencia y respuesta al manejo con quimioterapia o cirugía, se han estudiado desde hace tiempo varios de ellos. La inflamación es una característica importante del microambiente tumoral y está asociada con mal pronóstico en muchos tipos de neoplasias. Parámetros hematológicos inflamatorios tales como neutrófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas pueden reflejar el estado inmune y tener un importante valor predictivo para el pronóstico de los tumores. Particularmente la relación neutrófilos/linfocitos (RN/L) y la relación plaquetas/linfocitos se han visto que tienen un papel importante en el pronóstico de los distintos tipos de neoplasias incluida el cáncer de pulmón. El Índice de Inflamación Inmunitaria Sistémica (SII) es otro marcador inflamatorio, el cual combina la relación neutrófilos/linfocitos y las

plaquetas, éste se ha propuesto como marcador pronóstico en algunos estudios de pacientes con cáncer de pulmón tratados con inmunoterapia (nivolumab).⁵⁰ En cuanto a la RN/L, existen muchos más estudios de la asociación de ésta con el pronóstico en pacientes con cáncer de pulmón, como lo reportado en un metaanálisis que incluyó más de 7000 pacientes con cáncer de pulmón en distintas etapas clínicas, algunos tratados con cirugía y otros con quimioterapia, se menciona que dicha relación tiene una capacidad predictiva significativa para estimar la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión en estos pacientes y puede ser un biomarcador significativo en el pronóstico del cáncer de pulmón.⁵¹ Se ha definido que la elevación de la RN/L es un predictor de mal pronóstico en pacientes con cáncer de pulmón, independientemente de la etapa clínica y del manejo que se otorgue.⁵²

JUSTIFICACIÓN

En pacientes con CPCNP, se ha reportado que el manejo con quimioterapia modifica las concentraciones de citocinas pro y anti inflamatorias.^{53,54} La elevación de ciertas citocinas pro inflamatorias (IL-1, TNF- α , IFN- γ) o del receptor soluble para la IL-2 y la disminución de algunas de las citocinas anti inflamatorias como IL-5 se asocian con incremento en la supervivencia de los pacientes.⁵³ Otra citocina documentada en pacientes con cáncer pulmonar es la IL-6, la que se ha propuesto como mediadora de la respuesta inflamatoria, ya que se demostró que pacientes con niveles elevados de IL-6 también presentan incremento de otras sustancias pro inflamatorias como lo es la proteína C reactiva y el fibrinógeno.⁵⁵ De manera contraria, otros grupos han reportado que los niveles de IL-6 son mayores entre los pacientes con CPCNP en etapas clínicas avanzadas y se ha asociado con la progresión de la enfermedad y con la disminución de la supervivencia de los pacientes.⁵⁶ Otras citocinas que han sido estudiadas son la IL-10, IL-17a y la IL-11 las cuales se ha visto que están implicadas en el microambiente del tumor y algunos estudios han demostrado que están asociadas con el crecimiento tumoral y la progresión de la enfermedad.^{57, 58}

Nuestro grupo ha analizando algunas citocinas pro- y anti-inflamatorias, así como la relación de linfocitos Treg/TH17 en pacientes con CPCNP a nivel plasmático. En los pacientes se detectaron incrementos de IL-6, IL-4 IL-10 TGF-beta e IL-2, así como incremento en los linfocitos Treg.⁵⁹

La pregunta de investigación del trabajo fue evaluar si durante el tratamiento con quimioterapia, en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar se modifican los niveles de citocinas pro y anti inflamatorias.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El carcinoma pulmonar es un importante problema de salud a nivel mundial debido a la alta tasa de mortalidad. En la experiencia del INER, pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar bajo tratamiento con quimioterapia convencional, en la misma etapa clínica y con factores clínicos y funcionales similares al inicio del tratamiento, presentan una supervivencia distinta.

Recientemente, se ha reportado que el tratamiento convencional induce, además de la muerte de las células tumorales, la liberación de DAMPs. Estos DAMPs se han implicado como moléculas que participan en la activación de la respuesta inmune adaptativa. En esta respuesta participan de manera importante los linfocitos T CD8+ (citotóxicos) ya que reconocen y eliminan a las células tumorales. Estos linfocitos T CD8, para llegar a ser funcionales, requieren de citocinas pro-inflamatorias liberadas por los linfocitos T CD4+.

En pacientes con CPCNP, se ha reportado que el manejo con quimioterapia modifica las concentraciones de citocinas pro y anti inflamatorias.^{53,54}

Este estudio está orientado a determinar si durante el tratamiento con quimioterapia, en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar se modifican los niveles de citocinas pro y anti inflamatorias.

OBJETIVOS:

Objetivos generales

Evaluar el efecto del tratamiento con quimioterapia convencional en pacientes con adenocarcinoma pulmonar, sobre la concentración sérica de citocinas pro y anti inflamatorias.

Evaluar si el tratamiento con quimioterapia convencional en pacientes con adenocarcinoma pulmonar modifica la RN/L y si esta se asocia con la supervivencia.

Objetivos Particulares

1.- Cuantificar las citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , IL-17 y TGF-beta a nivel plasmático en los pacientes con cáncer pulmonar en tratamiento convencional.

2.- Asociar los resultados de las citocinas analizadas con la RN/L obtenido de la biometría hemática al tiempo 0, 3 y 6 meses de tratamiento.

3.- Evaluar la relación entre las concentraciones séricas de interleucinas con la mortalidad de los pacientes con adenocarcinoma pulmonar al año del diagnóstico.

HIPÓTESIS

1.- En los pacientes con adenocarcinoma pulmonar, el tratamiento quimioterapéutico convencional modificará la concentración sérica de algunas citocinas pro-inflamatorias (IL-2, IL-6, IL17-A, TNF- α , IFN- γ) y/o citocinas anti-inflamatorias (IL-4, IL-10),

2.- En los pacientes con adenocarcinoma pulmonar, el tratamiento quimioterapéutico convencional se asociará con cambios en la RN/L y con la supervivencia de los pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio de cohorte, prospectivo, longitudinal de la población de pacientes del INER diagnosticados con adenocarcinoma pulmonar e ingresados de marzo de 2013 a febrero de 2014.

POBLACIÓN BAJO ESTUDIO

Este estudio se realizó en el INER con pacientes de la clínica de neumología oncológica con diagnóstico de adenocarcinoma primario pulmonar que se encontraban en etapa clínica IIIb y IV de acuerdo con los estándares internacionales de clasificación por TNM (Tumor, Nódulos y Metástasis) 7^a edición, atendidos por los neumólogos adscritos a esta clínica, quienes realizaron los procedimientos para toma de biopsias pleurales o pulmonares y solicitaron los estudios de extensión con el fin de establecer el diagnóstico y estadificación. El seguimiento de estos pacientes habitualmente es dado por el personal adscrito a la clínica, pero en esta población de estudio el seguimiento fue también de mi parte.

TAMAÑO DE MUESTRA

Estuvo integrado por todos los pacientes del INER diagnosticados con adenocarcinoma pulmonar que cumplieron con los criterios de inclusión.

Existe un estudio en el cual se evalúan los valores de citocinas pre y post quimioterapia, sin embargo los resultados que presentan son confusos, ya que los expresan en medianas combinadas con desviaciones estándar. Tomando como referencia esas medianas y convirtiéndolas a medias se hizo un cálculo de muestra,

que entendemos no es la mejor opción por lo antes comentado.

El tamaño de la muestra se calculó con base en la fórmula para la diferencia de las medias de dos muestras usando una prueba a dos colas con nivel de significancia α 0.05 y poder $1-\beta$.

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

Sustituyendo los valores, se obtuvo un tamaño de muestra de 42 pacientes en total.

CRITERIOS INCLUSIÓN

Pacientes de cualquier sexo y mayores de 18 años de edad.

Con diagnóstico patológico de adenocarcinoma pulmonar, realizado a través de biopsia pulmonar o pleural.

Etapas clínicas por TNM: IIIb y IV.

Con escala clínica Karnofsky \geq 80% y ECOG 1

Que deseen participar en el estudio con previo consentimiento informado firmado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes que no deseen manejo con quimioterapia

Que decidan manejo en otra institución

Pacientes que hayan recibido previamente algún tipo de quimioterapia

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Aquellos pacientes que, habiendo sido incluidos previamente en el estudio, presenten cuadro infeccioso a nivel respiratorio, gastrointestinal o urinario durante el seguimiento o que requieran uso de factor estimulador de colonias por neutropenia grave.

Pacientes que no terminen su tratamiento de primera línea de quimioterapia o que requieran de cambiarlo.

MUESTRAS BIOLÓGICAS

Se realizó venopunción de los pacientes para obtener una muestra de sangre periférica (10 mL) de manera previa a la aplicación del ciclo de quimioterapia correspondiente: al inicio del tratamiento, al tercer y sexto ciclos. La aplicación de cada ciclo se realizó cada cuatro semanas. El periodo de seguimiento fue de un año a partir del diagnóstico inicial.

Obtención del plasma

A partir de la muestra de sangre periférica, se obtuvo el plasma por centrifugación a 3000 rpm durante 15 min. El plasma se almacenó a -70°C hasta su uso para la detección de las citocinas.

Cuantificación de citocinas en plasma

En los plasmas se realizó la cuantificación de las citocinas empleando el kit BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit (Becton-Dickinson,

USA) siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. Las citocinas detectadas fueron: citocinas pro-inflamatorias IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-17A y las citocinas anti-inflamatorias IL-4, IL-10. Los datos se adquirieron en el citómetro FACSCanto II (BD) empleando el software BD FACS Diva (BD), posteriormente se analizaron en el software FCAP array V3.0 (softflow) para conocer su concentración.

La cuantificación del TGF- β 1 se realizó empleando el kit Quantikine ELISA Human TGF- β 1 Immunoassay (R&D system, USA) siguiendo el protocolo indicado por el fabricante. Se analizó la densidad óptica del color desarrollado a 450 nm empleando el espectrofotómetro Multiskan Ascent (Thermo Scientific). Las lecturas obtenidas fueron interpoladas en la curva estándar para conocer la concentración.

ESTUDIOS CLÍNICOS Y DE GABINETE

Los estudios de gabinete que se solicitaron fueron: al tiempo del diagnóstico, biometría hemática, química sanguínea, pruebas de función hepática, electrolitos séricos, proteína C reactiva, antígeno carcino embrionario, radiografía de tórax, tomografía contrastada de tórax, abdomen superior y cráneo, SPECT/CT o PET/CT, gammagrama óseo, pruebas de función respiratoria. En el seguimiento (3 y 6 meses) estudios de laboratorios completos y tomografía contrastada de tórax, los cuales permitían evaluar la posible toxicidad inducida por la quimioterapia, así como la respuesta al tratamiento por parte del paciente.

La evaluación del estado clínico de los pacientes se estimó por medio de las escalas de Karnofsky y ECOG, al inicio y durante el periodo de seguimiento.

Criterio para relacionar con la supervivencia

Los pacientes que cumplieron los 6 meses de tratamiento de su esquema de quimioterapia se les siguió por otros 6 meses más, al término del año fueron agrupados en dos categorías, con base en los pacientes que se mantuvieron vivos y los pacientes que murieron durante esos 6 meses de seguimiento posterior al término de la quimioterapia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva a través de medias y desviaciones estándar (DE) y en algunos casos medianas con intervalos inter cuartilares para las variables continuas de acuerdo con su distribución. En cuanto a las variables categóricas se utilizaron frecuencias y porcentajes.

Para evaluar las diferencias entre los niveles de citocinas en los pacientes que se mantienen vivos al año de diagnóstico y los que murieron se utilizó la prueba de t de Student. Para evaluar la diferencia de los valores basales con respecto al seguimiento, se utilizó la prueba de t Student pareada.

Todas las pruebas de hipótesis se plantean a dos colas, con un nivel de relevancia estadística establecido como < 0.05 .

RESULTADOS

Se incluyeron en total 41 pacientes, los cuales completaron las tres mediciones de citocinas a través del tiempo, obteniendo los datos clínicos y de laboratorio iniciales e igualmente de seguimiento; sin embargo, solo se tiene registro y seguimiento completo al año del diagnóstico en 38 pacientes, 3 se perdieron en el seguimiento y no se les pudo contactar por vía telefónica.

De los 38 pacientes en seguimiento 24 permanecieron vivos al año de seguimiento y 14 fallecieron durante el mismo.

Dentro de las características generales de los pacientes incluidos, el 61% fueron hombres y el 39% mujeres, la edad promedio fue de 59 años de edad con un intervalo mínimo-máximo de 41-76 años. El 48% tuvo antecedente de tabaquismo y el 26% de exposición a humo de leña. El 78% de ellos estaba en una etapa clínica avanzada y solo 22% estaban como enfermedad localmente avanzada. Casi el 40% de los pacientes tuvieron derrame pleural asociado. La mayor cantidad de pacientes se encontraron, de acuerdo con las escalas funcionales, con limitación mínima, es decir ECOG 1 y Karnofsky 90%. Cuadro 1.

Cuadro 1. Características generales de los pacientes.

VARIABLE	N= 41
Mujeres	16 (39%)
Hombres	25 (61%)
Edad	59.8 ± 9.89
Tabaquismo	20 (48%)
EHL	11 (26%)
Derrame pleural	16 (39%)
Etapa clínica	
IIIb	9 (22%)
IV M1a	26 (63%)
IV M1b	6 (15%)
IMC	25.17 ± 4.42
ECOG inicial	
1	29
2	12
Karnofsky inicial	
90%	26
80%	15
Supervivencia 12 m.	
Vivos	24
Muertos	14
Perdidos	3

Los 38 pacientes que completaron el seguimiento, se dividieron en dos grupos, el grupo de pacientes que se mantuvieron vivos al año de diagnóstico y el grupo de los pacientes que fallecieron en los 6 meses siguientes a la evaluación inicial (primeros 6 meses).

De los pacientes vivos (24 en total), el 62.5% fueron mujeres (15), con edad promedio de 62 años y con antecedente de tabaquismo de 45%. Del grupo de pacientes que fallecieron (14 en total), el 50% fueron mujeres (7), la edad promedio fue de 54 años y con antecedente de tabaquismo de 50%. En ambos grupos hubo

8 casos de pacientes con derrame pleural y la etapa clínica en ambos grupos predominó la enfermedad metastásica (etapa clínica IV).^{Cuadro 2.}

Cuadro 2. Características generales de los pacientes que terminaron el seguimiento.

VARIABLE	VIVOS N= 24	MUERTOS N=14
Mujeres	9 (37.5%)	7 (50%)
Hombres	15 (62.5%)	7 (50%)
Edad	62.7	54.7
Tabaquismo	11 (45%)	7 (50%)
EHL	8	3
Derrame pleural	8	8
Etapa clínica		
IIIb	5	3
IV M1a	15	11
IV M1b	4	0
IMC	25.12	25.31
ECOG inicial		
1	19	8
2	5	6
Karnofsky inicial		
100%	0	1
90%	14	9
80%	9	3
70%	1	1

Las citocinas fueron medidas en 3 tiempos en todos los pacientes (basal, 3 y 6 meses de tratamiento). De las 7 citocinas medidas no se observaron cambios significativos durante el seguimiento en el grupo total (38 pacientes).^{Cuadro 3.}

En el cuadro 3 se describen en medianas e intervalos intercuartiles (I.I. 25-75) debido a que no mostraron una distribución normal.

Cuadro 3. Valores de citocinas obtenidas en los 3 tiempos de los 38 pacientes.

Citocinas (pg/mL)	Basal	I.I.	3 m	I.I.	6 m	I.I.
IL-6	5.68	3.82-12.45	4.72	2.64-7.5	5.03	2.3-8.42
IL-4	1.02	0.59-1.39	0.77	0.47-1.18	1	0.64-1.36
IL-2	1.15	0.86-1.44	1.14	0.82-1.32	1.33	0.86-1.74
IL-17	1.96	1.56 – 3.01	2.3	1.8 – 2.56	1.92	1.25 – 2.60
IL-10	1.19	0.7-1.7	0.92	0.80-1.26	0.94	0.68-1.33
INF- γ	1.64	1.01-2.65	1.41	0.96-2.24	1.89	1.24-3.02
TNF- α	1.04	0.81-1.36	0.9	0.61-1.2	0.97	0.7-1.23

Quando dividimos a los pacientes en dos grupos: grupo I, pacientes vivos a más de un año del diagnóstico (n=24), grupo II, pacientes que murieron en el primer año de seguimiento pero que completaron el esquema de quimioterapia de primera línea (n=14), observamos que existe una tendencia principalmente en la IL-6 para diferenciar los dos grupos. En ambos grupos se observan niveles elevados al momento del diagnóstico, a los 3 meses en ambos grupos disminuye la concentración de esta citocina (no significativamente). En cambio a los 6 meses, el grupo II incrementó los valores igualando a los iniciales, mientras que el grupo I continuó la disminución en su concentración. Cuando comparamos los valores iniciales y finales de ambos grupos, no observamos que los cambios sean estadísticamente significativos $p= 0.51$ para el primer grupo y $p=0.34$ para el segundo grupo.

Con respecto al TNF- α , también llama la atención su comportamiento. En los pacientes vivos su concentración se mantuvo sin cambios relevantes; sin embargo, en los pacientes con menor sobrevida se observó una tendencia a ir disminuyendo progresivamente. En estos datos tampoco se obtuvo significancia estadística, $p= 0.31$ y $p= 0.28$ respectivamente por grupo.

Del resto de las citocinas en estudio, no parece haber una tendencia clara que haga la diferencia entre ambos grupos. Cuadro 4.

Cuadro 4. Concentraciones de citocinas divididos en grupo I y grupo II.

Citocinas (pg/mL)	Basal		3 meses		6 meses	
	Grupo I (vivos)	Grupo II (muertos)	Grupo I (vivos)	Grupo II (muertos)	Grupo I (vivos)	Grupo II (muertos)
IL-6	6.15	5.03	5.41	4.03	3.94	6.1
IL-4	0.98	1.14	0.72	1.04	0.98	1.02
IL-2	1.11	1.36	1.14	1.14	1.1	1.42
IL-17	1.8	2.57	2.21	2.47	1.88	1.96
IL-10	0.99	1.39	0.92	0.92	0.92	0.97
INF- γ	1.35	2.39	1.15	1.81	1.87	2.04
TNF- α	0.94	1.27	0.9	0.97	1.03	0.78

Por otra parte, el estado inflamatorio de los pacientes se analizó a través de la RN/L, en el cual observamos que se presenta un patrón hacia la disminución de este índice en pacientes que sobreviven de 3.72 basal a 1.9 a los 6 meses ($p= 0.0004$) y no así en los que murieron, 3.81 basal a 3.4 a los 6 meses ($p= 0.77$), además de que la relación se mantuvo por arriba de 3. Estudios previos en otros tipos de cáncer y patologías han reportado que cuando la relación no se modifica a lo largo del tratamiento se asocia con peor pronóstico e incremento en la mortalidad. Cuadro 5

Cuadro 5. Relación neutrófilos/linfocitos divididos por grupo durante el tratamiento.

Índice	Basal		3 meses		6 meses	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
Neutrófilos/ Linfocitos	3.72	3.81	1.70	2.21	1.90	3.4

DISCUSIÓN.

Con nuestro estudio podemos mencionar, que al analizar los resultados de las citocinas detectadas tanto inflamatorias como no inflamatorias en el grupo en general no hay cambios significativos de los valores durante las mediciones de seguimiento a los 3 y 6 meses.

Al tratar de contestar uno de los objetivos del estudio que era, definir si existen cambios en los niveles de citocinas asociado a supervivencia, lo que hicimos fue dividir los pacientes en dos grupos y encontramos una disminución de la IL-6 en los pacientes que vivían más de un año comparado con aquellos que fallecieron antes del año del diagnóstico. Esto no fue demostrado por Koh E, et al.⁵⁶ quien concluyó que la elevación sérica de la IL-6 correlacionada con la expresión de IL-6 en tejido tumoral, se asoció con peor pronóstico en pacientes con cáncer de pulmón e incluso los pacientes con etapas más avanzadas tenían mayores niveles de IL-6. Sin embargo Su C, et al.⁵³, al evaluar a 86 pacientes con cáncer pulmonar en etapas clínicas avanzadas, reportó que los pacientes con enfermedad estable durante el seguimiento después de ser tratados con quimioterapia, los niveles de IL-6 disminuyeron significativamente, no así con los pacientes que tuvieron progresión de la enfermedad, en los cuales se mantuvieron los niveles sin cambios significativos; estos últimos hallazgos son similares a lo que nosotros reportamos en nuestro estudio.

Otra citocina en la que observamos cambio en nuestro estudio fue el TNF- α , la cual permanece sin cambios significativos a lo largo del tiempo en los pacientes que tenían una supervivencia mayor de un año comparada con los que vivieron menos de un año, en los cuales se observa una disminución progresiva de los valores a lo

largo del seguimiento. Lo reportado con respecto a esta citocina por Su C, et al.⁵³ es diferente, ya que él encontró que los pacientes con altas concentraciones de TNF- α post quimioterapia tuvieron una supervivencia significativamente mayor y en el grupo de pacientes con progresión de la enfermedad no observó cambios significativos en la concentración de esta. En nuestro estudio el observar que el TNF- α se mantenga sin cambios pudiera ser un indicio de estabilidad de la enfermedad y la disminución de la misma traducirla en progresión y mal pronóstico. Por último, al hacer la medición de la RN/L y evaluar la asociación con la supervivencia de nuestros pacientes, observamos que existe una disminución clara y sostenida de la misma a través de las mediciones en el tiempo en los pacientes con supervivencia mayor, por el contrario en los pacientes que fallecieron antes del año de diagnóstico la relación se mantiene sin cambios significativos y a los 6 meses está casi a la mitad de los pacientes que se mantuvieron vivos al año del estudio. En su estudio Qing-Tao, et al.⁵¹, un meta-análisis que incluyó más de 7000 pacientes con cáncer de pulmón, concluyó que los valores elevados de la RN/L se asocian con disminución de la supervivencia global y de la supervivencia libre de progresión de la enfermedad. Lo mismo fue publicado por Yongmai, et al.⁵² en otro meta-análisis de más de 2700 pacientes con cáncer de pulmón, en donde describen que la elevación de la RN/L como predictor de mal pronóstico en la supervivencia de los pacientes con cáncer de pulmón.

Existen múltiples estudios en los cuales se ha establecido la RN/L como factor pronóstico, que incluyen algunos niveles de corte para diferenciarlo de buen o mal pronóstico, que la mayoría de ellos lo han establecido entre 3-5; en nuestros datos

coincidimos con lo reportado, ya que los pacientes de mejor pronóstico tuvieron una RN/L menor de 2 y los de peor pronóstico por arriba de 3 al final del seguimiento. Recientemente se publicó por parte de nuestro grupo de trabajo, la información obtenida de esta investigación y complementada con una población de estudio mayor ($n=53$ pacientes) en el cual se confirmó que la concentración de la IL-6 disminuyó en el grupo de pacientes con supervivencia mayor a 12 meses, de 5.8 basal a 2.8 a los 6 meses ($p= 0.02$) y no así en los pacientes con supervivencia menor a un año, de 5.4 basal a 5.7 a los 6 meses. Lo mismo sucedió con la RN/L, el grupo con supervivencia mayor a 12 meses mantuvo una disminución de esta relación de más del 50%, de 3.7 basal a 1.8 a los 6 meses ($p < 0.0001$), no así en los pacientes que tuvieron una supervivencia menor de un año, en los cuales la reducción fue menor del 50%, 4.1 basal a 2.9 a los 6 meses. Por último, en la comparación de la RN/L de ambos grupos a los 6 meses de tratamiento, se observa que fue menor en el grupo de mayor supervivencia [1.8 vs 2.9] ($p = 0.0008$).⁶⁰

Las fortalezas de nuestro estudio es que integramos un grupo de pacientes más homogéneo en cuanto al tipo de cáncer de pulmón (adenocarcinoma pulmonar) y adicionalmente al tipo de tratamiento oncológico (quimioterapia a base de taxanos y platinos), ya que en otros estudios se incluyen pacientes con distintos tipos histológicos y mayor gama de manejo oncológico y en otros con manejo quirúrgico, además de que todos fueron seguidos cada mes durante el año del estudio, lo que traduce el bajo número de pérdidas durante el mismo.

Las limitaciones del estudio es el número de sujetos incluidos, en la gran mayoría de los estudios su población es mas grande, por lo que incrementar la cantidad de pacientes permitirá ver si se mantiene la tendencia vista por nosotros o bien si se presenta lo observado por otros autores, además que solo incluimos un tipo histológico y en etapas clínicas avanzadas con un tratamiento estándar, sin incluir las más recientes terapias para el mismo, como son los inhibidores de tirocina cinasa y la inmunoterapia.

CONCLUSIONES

Existen modificaciones en las concentraciones séricas de ciertas citocinas, la asociación de IL-6 fue, mayor supervivencia con disminución progresiva de la misma y la de TNF- α , menor supervivencia con disminución progresiva de la misma.

En cuanto a la relación neutrófilos/linfocitos corroboramos la asociación inversa de que a mejor pronóstico menor valor de ésta.

Nos queda claro que estos resultados, principalmete los vistos con las citocinas, se deben tomar con reserva, ya que solo incluimos pacientes con adenocarcinoma pulmonar, lo que sigue es ampliarlo a otros tipos histológicos de cáncer de pulmón y a otros tratamientos quimioterapéuticos como inhibidores de tirocina cinasa y a lo último en manejo oncológico para pacientes en etapas avanzadas, que es la inmunoterapia.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- GLOBOCAN 2020. Lung cancer. En www.globocan.iarc.fr
- 2.-Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2012; 62: 10-29
- 3.- De la Cruz C, Tanoue L, Matthay R. Lung Cancer: Epidemiology, Etiology and Prevention. Clin Chest Med 2011; 32: 605-644
- 4.-Detterbeck F, Boffa D, Tanoue L. The New Lung Cancer Staging System. Chest 2009; 136: 260-271
- 5.- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-small Cell Lung Cancer. Versión 1.2020. www.nccn.com
- 6.- Eisenhauer E, Therasse P, Bogaerts J, Schwatz H, Sargent D, et al. New Response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (versión 1.1). Eur J Cancer 2009; 45, 228-247
- 7.- Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. Immunity 2013 Jul 25; 39 (1): 1-10.
- 8.- Corthay A. Does the immune system naturally protect against cancer?. Front Immunol 2015 May 12; 5: 197.
- 9.- Kepp, O., Menger, L., Vacchelli, E., et. Al. Crosstalk between ER stress and immunogenic cell death. Cytokine and grow factor reviews 2013; **24**: 311-318)
- 10.- Kitao, H., Limori M., Kataoka, Y., et. Al. DNA replication stress and cancer chemotherapy. Cancer science 2017; **109**: 264-271.

- 11.- Green, D., Ferguson, T., Zitvogel, L., Kroemer G. Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol* 2009; **9**: 353-363.
- 12.- Garg, A., Dudek-Peric, A., Romano, E., Agostinis, P. Immunogenic cell death. *Int J Dev Biol* 2015; **59**: 131-140.
- 13.- Vandenabeele, P., Agostinis, P., Krysko, O., Kaczmarek, A., Garg, A., Krysko, D. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat Rev Can* 2012; **12**: 860-875.
- 14.- Galluzzi, L., Buqué, A., Kepp, O., Zitvogel, L., Kroemer, G. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease. *Nat Rev Immunol* 2017; **17**: 97-111.
- 15.- Garg, A., Nowis, D., Golab, J., et al. Immunogenic cell death, DAMPs and anticancer therapeutics: an emerging amalgamation. *Biochim Biophys Acta* 2010; **1805**: 53-71.
- 16.- Galluzzi, L., Buqué, A., Kepp, O., Zitvogel, L., Kroemer, G. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease. *Nat Rev Immunol* 2017; **17**: 97-111.
- 17.- Casares N., Pequignot M., Tesniere A., et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. *J Exp Med* 2005; **202**: 1691-1701.
- 18.- Halle, S., Halle, O., Förster, R. Mechanisms and Dynamics of T Cell-Mediated Cytotoxicity In Vivo. *Trends in Immunology* 2017; **38**: 432-443.
- 19.- Bui J, Schreiber R. Cancer immunosurveillance, immunoediting and inflammation: independent or interdependent processes?. *Curr Opin Immunol* 2007, **19**: 203-208.
- 20.- B. F. Zamarron and W. Chen. Dual roles of immune cells and their factors in

cancer development and progression. *International Journal of Biological Sciences* 2011; 7 (5); 651–658.

21.- Akdis M et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 701-721.

22.- Lippitz BE. Cytokine patterns in patient with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol* 2013; 14: 218-228.

23.- Hodge G, et al. Lung cancer is associated with decreased expression of perforin, granzyme B and interferon (INF)-gamma by infiltrating lung tissue T cells, natural killer (NK) T-like and NK cells. *Clin Exp Immunol* 2014; 178: 79-85.

24.- Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso MA. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res* 2014, ID149185.

25.- Matanic D, et al. Cytokines in patient with lung cancer. *Scand J Immunol* 2003; 57: 173-178.

26.- López-González JS, et al. Lung carcinomas decrease the number of monocytes/macrophages (CD14+ cells) that produce TNF-alpha. *Clin Immunol* 2007; 122: 323-329.

27.- Stathopoulos GT, et al. Tumor necrosis factor-alpha promotes malignant pleural effusion. *Cancer Res* 2007; 67: 9825-9834.

28.- Kono H, Onda A, Yanagida T. Molecular determinants of sterile inflammation. *Curr Opin Immunol* 2014; 26: 147-156.

29.- Sansone P, Bromberg J. Environment, inflammation, and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2011; 21: 80-85.

30.- Hallett WH, Murphy WJ. Natural killer cells: biology and clinical use in cancer

therapy. *Cell Mol Immunol* 2004; 1: 12-21.

31.- Andersen MH, Schrama D, Thor Straten P, Becker JC. Cytotoxic T cells. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 32-41.

32.- Nelson BH. IL-2, regulatory T cells, and tolerance. *J Immunol* 2004; 172: 3983-3988.

33.- Schmidt A, Oberle N, Krammer PH. Molecular mechanisms of treg-mediated T cell suppression. *Front Immunol* 2012; 3: 51.

34.- Burkholder B, et al. Tumor-induced perturbations of cytokines and immune cell networks. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1845: 182-201.

35.- Annunziato F, Romagnani A. Heterogeneity of human effector CD4+ T cells. *Arthritis Res Ther* 2009; 11: 257.

36.- Skapenko A, Kalden JR, Lipsky PE, Schulze-Koops H. The IL-4 receptor alpha-chain-binding cytokines, IL-4 and IL-13, induce forkhead box P3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells from CD25-CD4+ precursors. *J Immunol* 2005; 175: 6107-6116.

37.- Chang Q, Daly L, Bromberg J. The IL-6 feed-forward loop: a driver of tumorigenesis. *Semin Immunol* 2014; 26: 48-53.

38.- Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 267-296.

39.- Jiang S, Dong CA. A complex issue on CD4(+) T cells subsets. *Immunol Rev* 2013; 252: 5-11.

40.- Zeng L, O'Connor C, Zhang J, Kaplan AM, Cohen DA. IL-10 promotes resistance to apoptosis and metastatic potential in lung tumor cell lines. *Cytokine* 2010; 49: 294-302.

- 41.- Llanes-Fernandez L, et al. Relationship between IL-10 and tumor markers in breast cancer patients. *Breast* 2006; 15: 482-489.
- 42.- Reynolds JM, Angkasekwinai P, Dong C. IL-17 family member cytokines: regulation and function in innate immunity. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 413-423.
- 43.- Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 485-517.
- 44.- Murugaing G, Saha B. Protumor vs antitumor functions of IL-17. *J Immunol* 2009; 183: 4169-4175.
- 45.- Tirado-Rodriguez B, Ortega E, Segura-Medina P, Huerta-Yepez S. TGF-beta: an important mediator of allergic disease and a molecule with dual activity in cancer development. *J Immunol Res* 2014; 318481.
- 46.- Khalil N. TGF-beta: from latent to active. *Microbes Infect* 1999; 1: 1255-1263.
- 47.- Han G, Li F, Singh TP, Wolf P, Wang XJ. The pro-inflammatory role of TGFbeta1: a paradox? *Int J Biol Sci* 2012; 8: 228-235.
- 48.- Peralta-Zaragoza O, Lagunas-Martinez A, Madrid-Marina V. Transforming growth factor beta-1: structure, function, and regulation mechanisms in cancer. *Salud Publica Mex* 2001; 43: 340-351.
- 49.- Lee YK, Mukasa R, Hatton RD, Weaver CT. Development plasticity of Th17 and Treg cells. *Curr Opin immunol* 2009; 21: 274-280.
- 50.- Jingjing L, Shuang L, Shuang Z, Ying L, Lixia M, et al. Systemic immune-inflammation index, neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte can predict clinical outcomes in patients with metastatic non-small-cell lung cancer treated with nivolumab. *J Clin Lab Anal* 2019; 33; e22964.

- 51.- Qing-Tao Z, Yong Y, Shun X, Xiao-Peng Z, Hui-En W, et al. Prognostic role of neutrophil to lymphocyte ratio in lung cancers: a meta-analysis including 7054 patients. *Onco Targets Ther.* 2015; 8: 2731-2738.
- 52.- Yongmei Y, Jun W, Xuedong W, Lan G, Hao P, et al. Prognosis value of the neutrophil to lymphocyte ratio in lung cancer: A meta-analysis. *Clinics.* 2015; 70 (7): 524-530.
- 53.- Su C, Zhou C, Zhou S, et al. Serum cytokine levels in patients with advanced non-small lung cancer: correlation with treatment response and survival. *Med Oncol* 2011; 28: 1453-1457.
- 54.- Candido J, Hagemann T. Cancer-related inflammation. *J Clin Immunol* 2013; 33 (suppl 1): S79-S84.
- 55.- Yanagawa H, Sone S, Takahashi Y, Haku T, Yano S, Shinohara T, Ogura T. Serum levels of interleukin 6 in patients with lung cancer. *Br J Cancer.* 1995; 71: 1095-1098
- 56.- Koh E, Lizasa T, Yamaji H, Sekine Y, Hiroshima K, Yoshino I, Fujisawa T. Significance of the correlation between the expression of interleukin 6 and clinical features in patients with non-small cell lung cancer. *Int J Surg Pathol.* 2012; 20 (3): 233-239.
- 57.- Zhao M, Lui Y, Lui R, Hou Y, Chang J, Ren L. Upregulation of IL-11, an IL-6 Family Cytokine, promotes Tumor Progression and Correlates with Poor Prognosis

in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cell Physiol biochem* 2018; 45: 2213-2224.

58.- Neuath M, Finotto S. The emerging role of T cell cytokines in non-small cell lung cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2012; 23: 315-322.

59.- Islas-Vazquez L, Prado-García H, Aguilar-Cazares D, Meneses-Flores M, Galicia-Velasco M, et al. LAP TGF-Beta Subset of CD4⁺ CD25⁺ CD 127⁻ Treg Cells is Increased and Overexpresses LAP TGF-Beta in Lung Adenocarcinoma Patients. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 430943.

60.- Islas-Vazquez L, Aguilar-Cazares D, Galicia-Velasco M, Rumbo-Nava U, Meneses-Flores M, et al. IL-6, NLR, and SII Markers and Their Relation with Alterations in CD8⁺ T-Lymphocyte Subpopulations in Patients Treated for Lung Adenocarcinoma. *Biology.* 2020; 9 (11): 376.