



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**THE AMERICAN BRITISH COWDRAY  
MEDICAL CENTER I. A. P.**

**“Asociación del Índice Neutrófilo-Linfocito y el estadio clínico  
en el diagnóstico inicial de melanoma en pacientes del Centro  
Médico ABC”**

**POR**

**DRA. MARÍA DEL ÁNGEL GÓNGORA JURADO**

**TESIS DE POSGRADO PROPUESTA PARA OBTENER**

**EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:**

**“PATOLOGÍA CLÍNICA”**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO:**

**DR. LUIS CARLOS MORENO LÓPEZ**

**ASESORES DE TESIS:**

**DR. CHRISTIAN PATRICIO CAMACHO LIMAS**

**DR. MARCOS LÓPEZ NAVEDA**





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.

---

**DR. LUIS CARLOS MORENO LÓPEZ**  
Jefe de la división de Laboratorios  
Profesor Titular del curso de Especialización en  
Patología Clínica The ABC Medical Center I.A.P

---

**DR. JOSE HALABE CHEREM**  
Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación  
The ABC Medical Center I.A.P.

---

**DR. CHRISTIAN PATRICIO CAMACHO LIMAS**  
Especialista en Medicina Interna  
Asesor de Tesis

---

**DR. MARCOS LÓPEZ NAVEDA**  
Especialista en Medicina Interna  
Asesor de Tesis

---

**DRA. MARÍA DEL ÁNGEL GÓNGORA JURADO**  
Médico Residente del Departamento de Patología Clínica  
The American British Cowdray Medical Center I.A.P

## **Agradecimientos:**

**A Dios:** por la vida, la fé y la esperanza.

Al **Dr. Christian Camacho**, que además de ser mi compañero de vida, es mi apoyo , mi fuerza, y mi guía en este hermoso camino de la medicina. Agradezco su presencia, amor, paciencia y comprensión.

A mis hijos; **Christian Leonardo y Patricio Aldair;** por ser mi principal motivación para ser una mejor persona, madre y médico.

A mis padres; **Miguel y Andrea:** Por su infinito amor , su apoyo incondicional , por ser mi mayor ejemplo de lucha y superación y por siempre creer en mi.

A mis hermanos: **Miguel, Alejandro y Diana;** Por que a pesar de la distancia aún nos mantenemos tan unidos y día con día son testigos de mi evolución como medico.

A mis maestros; el **Dr. Luis Carlos Moreno, Pedro Álvarez, Marcela Nuñez, Antonio Salas y Rocío Munive,** por ser parte de mi formación como especialista, por sus enseñanzas en el campo de la patología clínica y también por sus valiosas lecciones de vida.

A todo el personal del **Laboratorio Clínico** y el **Banco de Sangre;** por sus enseñanzas, aportaciones y colaboraciones.

Y a todas aquellas personas que me han brindado su amistad incondicional y complementan mi vida con alegría y amor.

## **TITULO DEL TRABAJO**

ASOCIACION DEL INDICE NEUTROFILO-LINFOCITO Y EL ESTADIO CLINICO EN EL DIAGNOSTICO INICIAL DE MELANOMA EN PACIENTES DEL CENTRO MEDICO ABC.

## **RESUMEN DE LA INVESTIGACION**

El melanoma es un tumor derivado de la proliferación de melanocitos atípicos, con o sin la capacidad de producir pigmento, produciendo una neoformación cutánea pigmentada, plana o exofítica, curable durante la etapa inicial pero que sin tratamiento es de rápido avance, pudiendo provocar metástasis linfáticas y hematógenas que en etapas avanzadas provocan alta mortalidad.

Representa el 4 % de todos los tumores malignos de la piel, aunque es el responsable de 80% de las muertes cuando se originan de este órgano.

El microambiente tumoral y en particular, la respuesta inflamatoria participan de forma importante en el desarrollo y progresión del cáncer y se asocia a inflamación sistémica.

Existen marcadores bioquímicos de respuesta inflamatoria; incluyendo citosinas, proteína C reactiva, índice neutrófilo-linfocito y el índice plaquetas-linfocitos los cuales han sido incorporados en el score pronóstico en distintos tipos de cáncer, tales como el cáncer gástrico, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer de ovario, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelelular, cáncer pancreático, cáncer nasofaríngeo y melanoma, en este último tumor no existe como evidencia definida como factor pronóstico.

El Índice Neutrófilo/Linfocito (INL) se define como el cuento absoluto de neutrófilos dividido por el recuento de linfocitos, obtenido a través de un equipo automatizado y se propone como un balance entre el estado inflamatorio pro- tumor y el estado inmunológico anti-tumoral, cuya elevación ha sido reconocida como indicador de peor pronóstico y metástasis en cáncer.

El propósito de esta revisión es evaluar la asociación del INL como biomarcador en las distintas etapas clínicas en el diagnóstico de melanoma en pacientes tratados en el centro médico ABC.

## **INDICE :**

<b>1. MARCO TEORICO</b>	<b>7</b>
1.1 Introducción	7
1.1.1 Melanoma	7
1.1.2 Inflamación y cáncer	13
1.1.3 Hematopoyesis	14
1.1.4 Granulopoyesis	16
1.1.4.1 Neutrófilos	17
1.1.5 Linfopoyesis	18
1.1.5.1 Linfocitos	19
1.1.6 Exanimación de células sanguíneas	20
1.1.6.1 Medición cuantitativa de las células leucocitarias	21
1.1.7 Índice Neutrófilo Linfocito	23
<b>2. METODOLOGIA</b>	<b>24</b>
2.1 Justificación del estudio	24
2.2 Planteamiento del problema	24
2.3 Pregunta de investigación	24
2.4 Hipótesis principal	25
2.5 Objetivo principal del estudio	25
2.6 Objetivos secundarios del estudio	25
2.7 Operacionalización de variables	25
2.8 Categorización de variables	25
2.9 Material y métodos	25
2.9.1 Universo y unidad del estudio	26
2.9.2 Diseño del estudio	26
2.9.3 Criterios de selección del estudio	26
2.9.4 Criterios de exclusión del estudio	26
2.9.5 Gráfica de Grant	27
2.10 Resultados	27
2.11 Discusión	34
2.12 Conclusiones	35
2.13 Bibliografía.	35

# **1. MARCO TEORICO**

## **1.1 Introducción:**

### **1.1.1 MELANOMA**

El melanoma es un tumor derivado de la proliferación de melanocitos atípicos, con o sin la capacidad de producir pigmento, caracterizado por su gran capacidad de metástasis.

Produce una neoformación cutánea pigmentada, plana o exofítica, curable durante la etapa inicial pero que sin tratamiento es de rápido avance, pudiendo provocar metástasis linfáticas y hematógenas que provocan alta mortalidad.<sup>1</sup>

La mayoría de los melanomas se localizan en la piel (95%) y menos frecuentemente (5%) en mucosas: oral o genital; retina y meninges. Un 3% de pacientes desarrollan melanomas ocultos (enfermedad metastásica sin evidencia de tumor primario).

El melanoma puede presentarse también como un tumor primario en otros órganos como: tracto digestivo, respiratorio, sistema nervioso central, coroides, mucosas bucal o vaginal, independientemente de la localización de las metástasis. A demás puede desencadenar metástasis a la mayoría de los órganos con una especial predilección a ganglios, pulmón, hígado y cerebro.<sup>2</sup>

Representa el 4 % de todos los tumores malignos de la piel, aunque es el responsable de 80% de las muertes.<sup>3</sup>

Las tasas de melanoma han estado aumentando en los últimos 30 años. La frecuencia del melanoma es más de 20 veces mayor en los blancos que en los estadounidenses de la raza negra.

En general, el riesgo de padecer melanoma en el transcurso de la vida es de aproximadamente 2% (1 en 50) para los blancos, 0.1% (1 en 1,000) para los negros y 0.5% (1 en 200) para los hispanos.

El riesgo también aumenta con la edad (la edad promedio al momento del diagnóstico es de 61 años). Pero el melanoma no es poco común incluso entre las personas menores de 30 años. De hecho, es uno de los cánceres más comunes en los adultos jóvenes (especialmente en mujeres jóvenes).

En México ocupa el tercer lugar entre los cánceres de la piel, con 14.1 %.<sup>3</sup> Según las estadísticas del Instituto Nacional de Cancerología ha aumentado hasta 500 % en los últimos años.

Entre los factores de riesgo se enlistan los siguientes:

#### **Edad**

Puede aparecer a cualquier edad, aunque cada vez se diagnostican en gente más joven, la mayor frecuencia se concentra en la edad media de la vida. El 41% de los melanomas se diagnostican antes de los 55 años. En pacientes de más de 70 años, son más frecuentes los melanomas nodulares y lentiginosos arcales (58%), mientras que en jóvenes, lo más frecuente, son los de extensión superficial (74%). También parece existir una correlación entre la edad y el grosor: los pacientes ancianos, tienen un grosor Breslow, mayor que los jóvenes.



## **Sexo**

Son más frecuentes en las mujeres, se encuentran con más frecuencia en extremidades inferiores y zonas de mayor exposición al sol; y en general, tienen mejor pronóstico que en los varones, quienes tienen mayor mortalidad en comparación con las mujeres debido a que desarrollan melanomas en localizaciones de peor pronóstico y en etapas más avanzadas, menor conocimiento de las medidas preventivas y menor respuesta a las estrategias públicas de educación para la salud.<sup>4</sup>

## **Factor racial**

Existe una mayor incidencia en personas rubias, pelirrojas y de ojos claros. Los pacientes de raza negra tienen una incidencia 10 veces menor que los de raza blanca.

## **Presencia de nevus**

La existencia de un número elevado de nevus se correlaciona con mayor probabilidad de padecer melanoma, sobre todo, si existen nevus atípicos. Los nevus congénitos son posibles precursores del melanoma, aunque el grado de riesgo depende del tamaño de la lesión.<sup>4,6</sup>

La existencia previa de un melanoma es otro factor de riesgo importante, el riesgo relativo de desarrollar un segundo melanoma es 70 veces superior al de desarrollar un primer melanoma.

## **Factores Genéticos**

Ante la historia familiar de melanoma, existe un riesgo hasta 12 veces superior. En la actualidad se conocen 2 genes de susceptibilidad para el melanoma: el gen CDKN2A (p16), localizado en el cromosoma 9 y el CDK4, localizado en el cromosoma 14.

## **Luz solar y situación demográfica**

Es más frecuente en zonas cercanas al ecuador, la exposición a la radiación ultravioleta aumenta de manera importante el riesgo de presentar melanoma, también todas las longitudes de onda tienen peligro, siendo las mayores, las que están entre 290-320 nm.

## **Inmunodepresión**

Hay mayor riesgo de tener melanoma en pacientes con leucemias, linfomas, trasplantes de órganos, VIH o cualquier otra situación de inmunosupresión patológica o medicamentosa.

## **Historia natural e Histogénesis**

Inicialmente tienen un crecimiento radial (lentigo maligno, melanoma de extensión superficial y arcael lentiginoso) y después un crecimiento vertical, que implica un peor pronóstico, por la posibilidad de invasión linfática y hematológica. En la fase de crecimiento radial, el comportamiento es indolente y con escasas posibilidades de diseminación, por lo que es curable desde el punto de vista quirúrgico. Este proceso puede durar meses o años.

El crecimiento vertical, suele seguir al radial, aunque a veces ocurre desde el inicio, como en el caso del melanoma nodular, donde casi no existe crecimiento radial, por lo que entraña un peor pronóstico.

Basado en el crecimiento vertical, se define los niveles de invasión de Clark y las medidas de grosor tumoral de Breslow, siendo estos dos parámetros los principales valores histológicos con valor pronóstico.

El melanoma es una enfermedad heterogénea y se distingue por cuatro tipos histopatológicos:

**Extensión superficial:** más común a nivel mundial en 80% casos de raza blanca.

**Lentigo maligno:** Más común en población Mexicana y en edades avanzadas.

**Acral lentiginoso:** Más común en personas de raza negra, y el **Nodular**.

Hay otras formas menos frecuentes de melanoma: el melanoma de mucosas y el melanoma desmoplásico.<sup>5</sup>

El diagnóstico clínico de melanoma se basa en el reconocimiento de las características clínicas de las formas de melanoma, es decir el reconocimiento e identificación de la transformación de un nevus preexistente, por el crecimiento asimétrico, de bordes imprecisos y coloración abigarrada con áreas negras y áreas menos pigmentadas y azuladas que representan áreas de regresión.<sup>2</sup> Además de la sospecha clínica el diagnóstico se realiza también con el apoyo de la dermatoscopia y otros métodos no invasivos, pero se confirma con la histopatología

Al examinar una lesión pigmentada hay cinco características (ABCDE) que deben evaluarse: asimetría, borde irregular, coloración, diámetro (mayor de 6 mm) y elevación<sup>6</sup>. Siempre, ante cualquier lesión sospechosa se deberá realizar una biopsia, preferiblemente mediante una escisión localizada y ser examinada por un patólogo experimentado para determinar el microestadio.

Confirmado el diagnóstico, se realizará un estudio de extensión, para descartar metástasis a distancia, el cual tiene que ser exhaustivo en las áreas ganglionares de drenaje y en general, en toda la piel.

Las exploraciones complementarias recomendadas son: analítica completa; Radiografía de tórax; ecografía abdominal y/o TAC, ante la sospecha clínica de enfermedad metastásica.

La tomografía por emisión de positrones es una prueba diagnóstica extraordinariamente sensible, cuando existe sospecha de enfermedad metastásica.

Entre los factores que afectan el pronóstico clínico, se encuentran: el espesor o grado de infiltración del melanoma, índice mitótico, presencia de infiltración tumoral de linfocitos, el número de nódulos linfáticos regionales implicados y ulceración o hemorragia en el sitio primario<sup>7</sup>

La clasificación clínica se fundamenta en si el tumor se ha diseminado a los ganglios linfáticos regionales o a sitios distantes. En el caso de la enfermedad confinada al sitio primario, mientras mayor sea el espesor y profundidad de la infiltración local del melanoma, mayor la probabilidad de metástasis en los ganglios linfáticos o metástasis sistémica y el pronóstico será más precario. El Melanoma se puede diseminar mediante extensión local a sitios distantes a través de los ganglios linfáticos o rutas hematógenas. Cualquier órgano puede verse comprometido por metástasis, pero los pulmones y el hígado son sitios comunes.

El microestadio del melanoma maligno se determina mediante el examen histológico, el grosor vertical de la lesión en milímetros (clasificación de Breslow) Tabla 1. O por el grado anatómico de la infiltración local (Clasificación de Clark).<sup>7</sup> Tabla 2

CLASIFICACION DE BRESLOW	
<b>T1</b>	< 1.0 mm
<b>T2</b>	1.01-2.0 mm
<b>T3</b>	2.01-4.0 mm
<b>T4</b>	> 4.0 mm

Tabla 1.

CLASIFICACION DE CLARK (Grado de invasión)	
<b>Grado I</b>	Lesiones que solo implican a la epidermis (melanoma in situ; no es un a lesión invasora)
<b>Grado II</b>	Infiltración de la dermis papilar, pero no alcanza la interfase papilar reticular de la dermis
<b>Grado III</b>	Infiltración que ocupa y se expande a la dermis papilar pero no penetra la dermis reticular
<b>Grado IV</b>	Infiltración de la dermis reticular, pero no en el tejido subcutáneo

Tabla 2.

El American Joint Committee on Cancer (AJCC) ha designado los estadios mediante clasificación TNM, para definir el melanoma.

#### 1.- Tamaño del tumor

TAMAÑO DEL TUMOR	
<b>TX</b>	No se puede evaluar el tumor primario
<b>T0</b>	No hay evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	Melanoma in situ
<b>T1</b>	Melanoma < 1.0 mm de grosor
<b>T2</b>	Melanoma de 1.01-2.0 mm de grosor
<b>T3</b>	Melanoma de 2.0- 4.0 mm de grosor
<b>T4</b>	Melanoma > 4.0 mm de grosor

CLASIFICACION T	GROSOR	ESTADO DE ULCERACION
<b>T1</b>	< 1.0 mm	a.- Sin ulceración ni mitosis <1/mm <sup>2</sup> b.- Con ulceración o mitosis > 1/mm <sup>2</sup>
<b>T2</b>	1.01-2.0 mm	a.- Sin ulceración b.- Con ulceración
<b>T3</b>	2.01-4.0 mm	a.- Sin ulceración b.- Con ulceración
<b>T4</b>	> 4 mm	a.- Sin ulceración c.- Con ulceración

## 2.- N: Ganglios linfáticos regionales.

GANGLIOS LINFATICOS		CLASIFICACION	NO. DE G. METASTASICOS	MASA METASTASICA GANGLIONAR
<b>NX</b>	Pacientes en los que no se pueden evaluar los ganglios regionales	<b>N1</b>	1	a.- Micrometástasis b.- Macrometástasis
<b>N0</b>	No se ha detectado metástasis regional alguna	<b>N2</b>	2-3	a.- Micrometástasis b.- Macrometástasis
<b>N1-3</b>	Metástasis regional sobre la base del número de ganglios metastásicos y la presencia o ausencia de metástasis intralinfáticas	<b>N3</b>	> 4 nódulos metastásicos o nódulos apelmazados o metástasis en tránsito /satélite con ganglios metastásicos	c.- Metástasis en tránsito/ Satélites sin ganglios metastásicos

## 3.- M: Metástasis a distancia

METASTASIS A DISTANCIA	
<b>M0</b>	No hay evidencia de metástasis a distancia
<b>M1a</b>	Metástasis cutáneas, subcutáneas o a ganglios linfáticos distantes
<b>M1b</b>	Metástasis a pulmón
<b>M1c</b>	Metástasis a todos los sitios viscerales o metástasis a distancia a cualquier sitio

#### 4.- Estudio anatómico/grupos pronósticos

ESTUDIO ANATÓMICO				ESTUDIO ANATÓMICO						
ESTADIO	T	N	M	ESTADIO	T	N	M			
<b>Estadificación Clínica</b>				<b>Estadificación Clínica</b>						
<b>0</b>	Tis	NO	M0	<b>0</b>	Tis	NO	M0			
<b>IA</b>	T1a	NO	M0	<b>IA</b>	T1a	NO	M0			
<b>IB</b>	T1b	NO	M0	<b>IB</b>	T1b	NO	M0			
	T2a	NO	M0		T2a	NO	M0			
<b>IIA</b>	T2b	NO	M0	<b>IIA</b>	T2b	NO	M0			
	T3a	NO	M0		T3a	NO	M0			
<b>IIB</b>	T3b	NO	M0	<b>IIB</b>	T3b	NO	M0			
	T4a	NO	M0		T4a	NO	M0			
<b>IIC</b>	T4b	NO	M0	<b>IIC</b>	T4b	NO	M0			
<b>III</b>	Cualquier T	> N1	M0	<b>IIIA</b>	T 1-4a	N1a	M0			
					T 1-4a	N2a	M0			
				<b>IIIB</b>	T1-4 b	N1a	M0			
					T1-4 b	N2a	M0			
					T1-4 a	N1b	M0			
					T1-4 a	N2b	M0			
				<b>IIIC</b>	T1-4 a	N2c	M0			
					T1-4 b	N1b	M0			
					T1-4 b	N2b	M0			
					T1-4 b	N2c	M0			
				<b>IV</b>	Cualquier T	> N1	M0	Cualquier T	N3	M0
								Cualquier T	Cualquier N	M1

En cuanto al tratamiento del melanoma la biopsia de ganglio centinela no es recomendable en estadios IA o IB, por el tamaño de sus lesiones.

Si el ganglio centinela es negativo, la disección ganglionar linfática no está indicada. Los pacientes en estadio III basado en un ganglio centinela deben tratarse a una disección linfática completa de la cadena ganglionar.

Los pacientes con ganglios clínicamente positivos sin evidencia radiográfica de metástasis a distancia deben ser tratados con escisión amplia de sitio primario y una disección linfática completa de la cadena ganglionar involucrada.

La mayoría de los pacientes con enfermedad in situ o en etapas tempranas del melanoma alcanzará la remisión por la escisión primaria. Sin embargo, los pacientes con lesiones desmoplásicas, se encuentran en gran riesgo de recurrencia local. La radiación adyuvante seguida de cirugía puede considerarse para mejorar el control local, si los márgenes se mantienen positivos luego de una cirugía bien realizada, el uso de radioterapia debe ser considerada en pacientes seleccionados (IIB).

En pacientes con melanoma en etapas iniciales con ganglios negativos que se encuentran en alto riesgo (estadios IB o II, grosor de 1.0 mm o menos con ulceración-), las opciones de tratamiento son evaluación clínica u observación. En pacientes con ganglios negativos en estadio IIB o IIC, las

opciones son evaluación clínica, observación o altas dosis de interferón alfa. Para pacientes en estadio III las opciones sugeridas son observación e interferón gama. El interferón alfa pegilado es una alternativa a la dosis alta de interferón en estadios III con resección completa con ganglios centinelas positivos y/o clínicamente positivos.

En el caso de los pacientes en estadio III, la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) recomienda el tratamiento en el contexto de estudios clínicos. Para aquellos pacientes con una o un número reducido de metástasis en tránsito, una escisión quirúrgica completa con márgenes histológicos negativos, también en el caso de que el paciente tenga un número limitado de metástasis en tránsito, particularmente lesiones dérmicas, que no son candidatas a una escisión quirúrgica completa, para pacientes con múltiples metástasis regionales la quimioterapia local con perfusión/infusión hipertérmica puede ser una opción. La terapia sistémica, particularmente en el caso de fracaso terapéutico.

La enfermedad metastásica a distancia (estadio IV) el tratamiento depende si la enfermedad es limitada (resecable) o diseminada (irresecable)

En el caso de enfermedad limitada se hará la resección, en pacientes con un sitio único de metástasis visceral, un periodo breve de observación o tratamiento sistémico seguido por chequeos repetidos es apropiado para poder seleccionar adecuadamente a los pacientes. Se puede ofrecer tratamiento adyuvante a la resección.

Para la enfermedad diseminada la terapia sistémica, la incorporación a un ensayo clínico o el tratamiento de soporte serán los tratamientos utilizados.

Para la terapia sistémica se encuentran disponibles varias opciones: Ipilimumab, vemurafenib (en casos de mutación BRAF600), dacarbazina, temozolomida, cisplatino, vinblastina, paclitaxel y carboplatino.<sup>8</sup>

La recomendación del tratamiento de primera línea se basa en diversos factores, incluyendo mutaciones en BRAF, tiempo de evolución de la enfermedad y presencia o ausencia de sintomatología asociada a la enfermedad, es decir el estado funcional mediado por escalas como Karnofsky o ECOG. En caso de metástasis cerebrales, el tratamiento es prioritario para evitar hemorragia intratumoral, convulsiones o disfunción neurológica. La radiocirugía estereotáxica puede ser administrada como terapia primaria y/o como adyuvante en la resección quirúrgica.

### **1.1.2 INFLAMACION Y CANCER**

Peter Rous fue el primero en reconocer que el desarrollo del cáncer involucra alteraciones en el DNA ("iniciación"), un daño irreversible y que puede persistir en el tejido normal de manera indefinida hasta que ocurra una segunda estimulación ("promoción"), que resulta de la exposición de las células "iniciadas" a químicos irritantes, factores liberados en el sitio de heridas, resección parcial de un órgano, hormonas, irritación crónica e inflamación.<sup>9</sup>

Funcionalmente muchos promotores inducen la proliferación celular, reclutan células inflamatorias, incrementan la producción de radicales libres, por el daño oxidativo del DNA y reducen la reparación de éste DNA dañado.

La alteración de los programas de reparación y muerte celular ocurre en tejidos expuestos a inflamación crónica, dando lugar a la replicación del DNA y la proliferación de células que han perdido su capacidad controlar su crecimiento normal.

Sin embargo; la inflamación crónica parece deberse a la persistencia de factores iniciadores que causan del daño al DNA o a la falla en los mecanismos requeridos para resolver la respuesta inmune.

Para entender la conexión entre la inflamación y el cáncer se pueden distinguir dos procesos:

- Una vía extrínseca: dirigida por las condiciones inflamatoria o infecciosas que aumentan el riesgo de desarrollar cáncer.

- Una vía intrínseca: dirigida por alteraciones genéticas que son capaces de desarrollar inflamación y cáncer. (Activación de oncogenes por mutación, rearrreglos cromosómicos y la inactivación de genes supresores del tumor). Células que son transformadas de esta manera; producen inflamación en el microambiente tumoral aun y cuando no existía inflamación subyacente.

Estas dos vías convergen, lo que resulta en la activación de factores de transcripción, principalmente factor nuclear - kappa B (NF -kB ), transductor de señal y activador de la transcripción 3 ( STAT3 ) y el factor 1 $\alpha$  inducido por hipoxia ( HIF1 $\alpha$  ) , en células tumorales. Estos factores de transcripción coordinan la producción de mediadores inflamatorios, incluyendo citocinas y quimiocinas , así como la producción de la ciclooxigenasa 2 ( COX2 ) (que , a su vez , resulta en la producción de prostaglandinas ) . Estos factores reclutan y activan diversos leucocitos, más notablemente las células del linaje mielomonocítica . Las citoquinas activan los mismos factores clave de transcripción en las células inflamatorias, células del estroma y células tumorales, lo que resulta en más producción de mediadores inflamatorios generando así un microambiente inflamatorio óptimo para el desarrollo del cáncer <sup>10</sup>

Existe fuerte evidencia en estudios genéticos de ratones que las células del sistema inmune adaptativo llevan a cabo la vigilancia y pueden eliminar tumores incipientes. Este proceso es llamado "inmuno- edición".

La respuesta inmune innata, manifestada como inflamación, es crucial para la iniciación de la respuesta inmune adaptativa. Estudios en ratones muestran que la MyD88, adaptador de TLR (implicada en la respuesta inmune innata) tiene un papel clave en la promoción y desarrollo de tumores y que la carcinogénesis inducida por la inflamación y la inmuno-edición puede ocurrir al mismo tiempo en el tumor.

En neoplasias clínicamente evidentes, las respuestas inmunitarias adaptativas eficaces se suprimen a través de la activación de varias vías. Un ejemplo de esto; la diferenciación y activación de células dendríticas, que son iniciadoras clave de la respuesta inmune adaptativa, son inhibidas por señales (tales como la IL-10), presentes en el microambiente tumoral. Además, los tumores son frecuentemente infiltradas por células T reguladoras, que suprimen las respuestas inmunitarias adaptativas e innatas.

Los MDSCs proliferan en huéspedes portadores de tumores; estas células, así como los tumores asociados a macrófagos convencionales, son potentes supresores de los procesos antitumorales. Por lo tanto, en la inflamación relacionada con el cáncer, múltiples vías se ponen en movimiento para suprimir la inmunidad antitumoral eficaz en tumores ya establecidos. <sup>10</sup>

### 1.1.3 HEMATOPOYESIS

La hematopoyesis es el proceso de producción, diferenciación y desarrollo de las células sanguíneas. El sistema hematopoyético está conformado por la médula ósea, hígado, bazo, ganglios linfáticos y timo. <sup>11</sup>

Las células sanguíneas embrionarias a excepción de los glóbulos blancos, se originan del tejido mesenquimatoso, que surge de la capa germinativa embrionaria mesodermo, donde se producen células madre hematopoyéticas potentes y células progenitoras multipotenciales.

Los sitios anatómicos de desarrollo de células sanguíneas son:

- El saco vitelino; donde se generan las primeras células hematopoyéticas después de la gastrulación y la formación del mesodermo. Estas primeras células son los eritroblastos (eritrocitos primitivos), que se forman durante las primeras dos a ocho semanas de gestación.
- El hígado: que para el segundo mes de gestación se convierte en el principal sitio de hematopoyesis, donde aparecen los primeros tipos granulares de leucocitos. El hígado predomina como sitio anatómico productor de células hematopoyéticas hasta el quinto mes de gestación.
- Durante el cuarto mes de gestación, la médula ósea empieza a funcionar en la producción de células sanguíneas y es hasta el quinto mes en el cual la médula ósea desempeña el sitio primario de hematopoyesis.<sup>12</sup>

La médula ósea se compone de células hematopoyéticas (de estirpe eritroide, linfoide, mieloide y megacariocítica) además de tejido graso, osteoblastos, osteoclastos y estroma.

La célula madre pluripotencial es la primera en una secuencia de pasos de la generación y maduración de la célula hematopoyética. La **célula madre hematopoyética multipotencial** es la progenitora de toda las células sanguíneas.

La función de las células madre es de generar células sanguíneas maduras de múltiples linajes durante toda la vida del organismo.

Estas células tienen la capacidad de renovarse a sí mismas, además de proliferar y diferenciarse en células progenitoras.

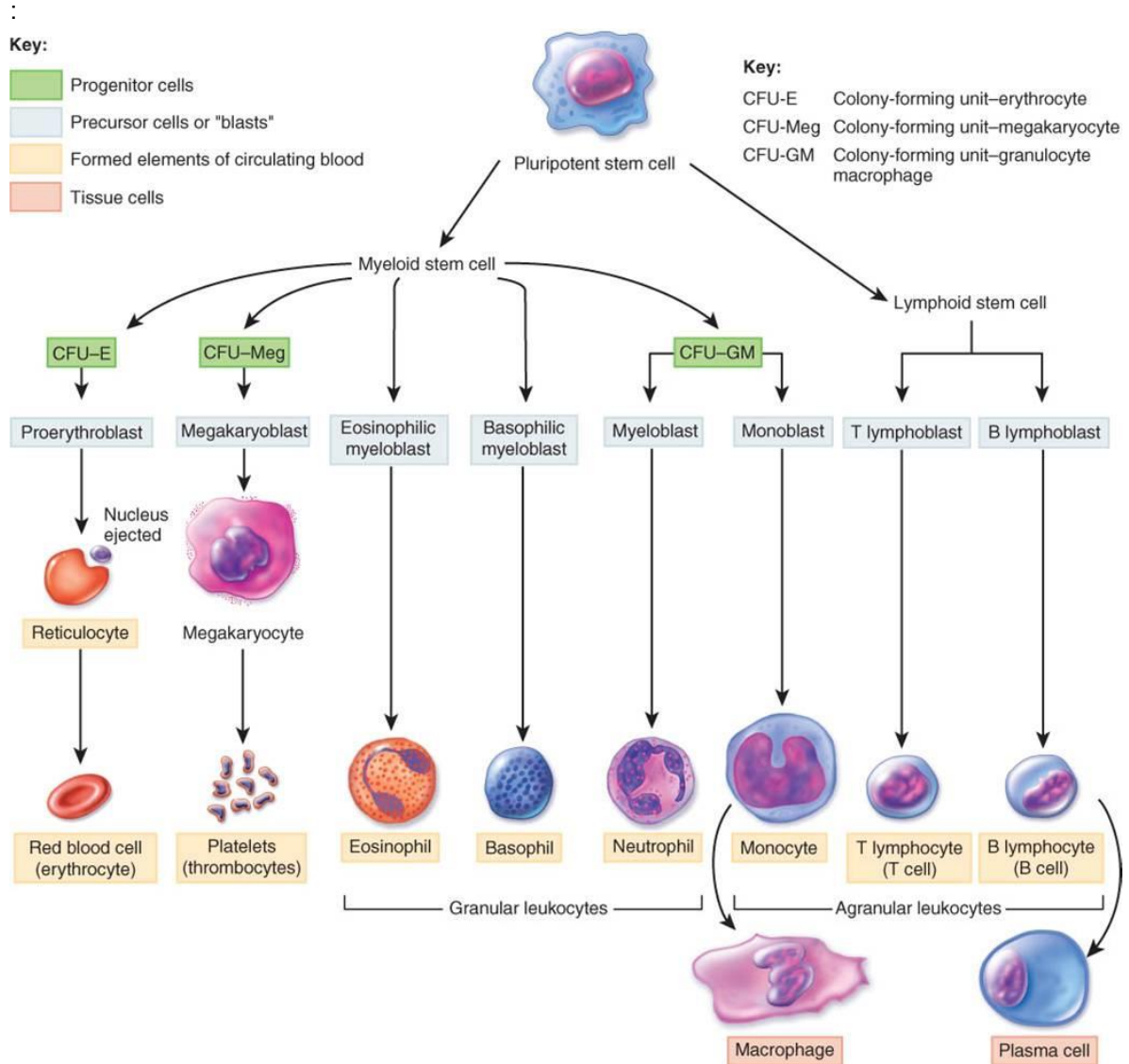
Las células hematopoyéticas pueden dividirse en tres fases de acuerdo con la madurez celular.

- Células primitivas multipotenciales: es el grupo más inmaduro, capaz de renovarse a sí mismo y diferenciarse en todas las líneas celulares sanguíneas.
- Células intermedias. Son células progenitoras comprometidas, destinadas a desarrollarse en distintas líneas celulares.
- Células maduras: es el grupo más desarrollado con funciones específicas.

La formación y desarrollo de células sanguíneas maduras a partir de la célula madre multipotencial de la médula ósea se controla con factores e inhibidores de crecimiento así como el ambiente microscópico.

La Hematopoyesis gráficamente se describe de la siguiente manera:





### 1.1.4: GRANULOPOYESIS:

La granulopoyesis se inicia cuando la IL-3 estimula una célula pruripotencial hacia una unidad formadora de colonias granulo-monocítica (CFU-GM) y a partir de ella comienza la diferenciación a mieloblasto. En el humano adulto sano, la vida de los granulocitos se desenvuelve en tres ambientes: Médula ósea, sangre y tejidos. La médula ósea es el sitio de diferenciación hematopoyética de células progenitoras hacia células precursoras de granulocitos, además es el sitio de su proliferación y maduración terminal.

La proliferación de éstas células precursoras, consiste en aproximadamente cinco divisiones, que ocurren solo durante los tres primeros estadios de maduración (blasto, promielocito y mielocito) Después del estadio de mielocito, las células no son capaces de seguir en mitosis y entran en almacenamiento en la médula donde son liberados al torrente sanguíneo por donde circulan por pocas horas antes de entrar a los tejidos.

El término granulocito es usado para referir a tres diferentes células: Neutrófilos, basófilos y eosinófilos.<sup>13</sup>

Los granulocitos comienzan cada tipo de una célula multipotencial en la médula ósea, durante los procesos de diferenciación, proliferación y maduración éstas células permanecen en la médula ósea. Después de desarrollarse en formas de banda o segmentados, las células maduras entran a la sangre circulante.

#### 1.1.4.1 NEUTROFILOS:

Los neutrófilos son producidos en la médula ósea, surgen de células progenitoras y precursoras por medio de un proceso de proliferación celular y maduración. Las células progenitoras más tempranas no pueden reconocerse bajo el microscopio pero pueden identificarse mediante aspirado de médula ósea. El precursor más inmaduro observable en el microscopio es el "Mieloblasto", de ahí, su maduración continua de la siguiente manera: Mieloblasto → promielocito → mielocito → metamielocito → banda → neutrófilo segmentado.

**Mieloblasto:** Es la primera célula diferenciada de la serie de granulocítica. Mide aproximadamente de 15 – 20 micras, tiene una forma ovalada y un contorno liso. El núcleo en su interior es de gran tamaño a comparación con el diámetro celular y está provisto de una cromatina finamente reticulada, con presencia de dos a cuatro nucléolos bien visibles. El citoplasma carece de gránulos y es de un color basófilo. Los mieloblastos expresan marcadores específicos de linaje como la Mieloperoxidasa y CD33.<sup>14</sup>

**Promielocito:** esta célula tiene un tamaño ligeramente superior al de su precursor. Mide aproximadamente entre 16-25 micras. Es la célula de mayor tamaño de la granulopoyesis normal y su forma es redondeada. Su núcleo posee cromatina inmadura, un poco más densa que el mieloblasto. Puede o no contener de 1 a dos nucléolos y se dispone en posición excéntrica. El citoplasma es basófilo y contiene un número variable de gránulos primarios (azurófilos), grandes, gruesos, que se disponen alrededor del núcleo a fin de dejar una zona más clara, agranular, que corresponde a una zona centrosómica. Éstos gránulos tienen afinidad por los colorantes ácidos, por lo tanto con la tinción de Wright tomas una coloración rojo-violacea. Los promielocitos son citoquímicamente positivos a la mieloperoxidasa y la fosfatasa ácida. Su gran contenido de peroxidasa es la responsable de la positividad en la tinción con el negro sudán. El citoplasma es rico en glucógeno, que es detectable citoquímicamente con la tinción de PAS.

**Mielocito:** A partir de este estadio, se comienzan a diferenciar las células granulocíticas (basófilos, eosinófilos o neutrófilos). Ésta es la célula que más variaciones presenta, ya que su evolución hacia metamielocito consiste básicamente en un proceso de maduración de citoplasma, que pasa por diferentes grados de basofilia, aumentos de la acidofilia en el caso de neutrófilos y basófilos, disminución en el tamaño de los gránulos azurófilos y aparición de gránulos secundarios. Durante la maduración del mielocito, la proporción relativa de gránulos primarios desciende mientras que se incrementa la de gránulos secundarios. Es una célula redonda, que posee una cromatina condensada, de color violeta oscuro y sin nucleolos visibles. En ocasiones el núcleo se puede presentar ligeramente alargado o con alguna muesca.

**Metamielocito:** tiene un tamaño aproximado entre 10-15 micras. Morfológicamente se caracteriza por presentar un citoplasma maduro, acidófilo (en el caso de basófilos y neutrófilos) y basófilos (en los eosinófilos). El núcleo comienza a reducir su tamaño y presenta muescas, con lo que adopta un aspecto ariñodado. En esta etapa de maduración la célula ha perdido la capacidad mitótica.

**Banda:** Al progresar su maduración, el metamielocito estrecha su núcleo hasta que se transforma en una delgada banda, adoptando diferentes formas pero sin presentar indicios de lobulación, es decir, empieza a presentar señales de adelgazamiento que luego se convierte en un puente de cromatina y deja separados los lóbulos. Las bandas tienen un tamaño notablemente inferior al del metamielocito con las características morfológicas del citoplasma idénticas a las de su precursor. La mayor parte de éstas células se localizan en la médula ósea donde constituyen el compartimento de reserva granulocítica medular. En condiciones normales, un 2% a un 5% de las bandas pasan a la sangre periférica, pero esta proporción aumenta en los procesos infecciosos.

**Neutrófilos:** En esta etapa los granulocitos se han segmentado y son los elementos más maduros de la granulopoyesis. Circulan por la sangre periférica donde ejercen sus funciones de fagocitosis y lisis bacteriana. Tiene un tamaño aproximado de 9-15 micras y su núcleo se presenta entre dos y cinco lóbulos. La cromatina condensada se tiñe de modo oscuro y el citoplasma es acidófilo y contiene gránulos primarios y específicos, pequeños y abundantes de un color rojo-rosado. Los gránulos primarios de los neutrófilos son ricos en mieloperoxidasa, hidrolasas ácidas y enzimas proteolíticas. Los gránulos secundarios contienen lactoferrina, que actúa como elemento bactericida quelante de hierro, fosfatasa ácida y alcalina, glucoronidasas y nucleasas. Estos gránulos secundarios son sintetizados en el aparato de Golgi y su principal característica es su alto contenido en enzimas hidrolíticas y proteolíticas; como agentes bactericidas.

Generalmente los granulocitos están implicados en el proceso de fagocitosis y poseen receptores de superficie para la porción Fc de las inmunoglobulinas y la fracción C3b del complemento, las cuales facilitan la unión de estas células con el antígeno.<sup>15</sup>

El Neutrófilo es el leucocito más abundante de la sangre periférica en un adulto (de 55% a 60%). Al nacer, la concentración de neutrófilos es cercana al 60%, pero desciende a 30% hacia los 4 o 6 meses de edad. Después de los cuatro años de vida. La concentración de los neutrófilos aumenta de manera gradual hasta los valores adultos, los cuales se alcanzan aproximadamente a los seis años de edad.

Normalmente en un adulto la producción de los neutrófilos va desde 0.85 a  $1.6 \times 10^9$  células/kg de peso por día. Los neutrófilos maduros se almacenan en la médula ósea antes de ser liberados al torrente sanguíneo permaneciendo ahí aproximadamente siete horas. A continuación entran a los tejidos funcionando uno o dos días antes de su muerte o pueden ser absorbidos por la superficie de la mucosa gastrointestinal.

### 1.1.5 LINFOPOYESIS:

Bajo la influencia de los factores de crecimiento hematopoyéticos IL 1 e IL 6, las células madre hematopoyéticas se diferencian en células madre linfoides.

La linfopoyesis ocurre dentro de los órganos generadores o linfoides primarios, donde los linfocitos expresan por primera vez los receptores antigénicos y alcanzan la madurez fenotípica y funcional. Comprende la médula ósea, generadora de todos los linfocitos y el timo, donde las células T maduran y alcanzan su funcionalidad; las células B lo hacen en el hígado fetal y la médula ósea.<sup>15</sup>

La característica principal de la linfopoyesis es la disminución progresiva del tamaño celular y el incremento de la relación núcleo-citoplasma. A diferencia de lo que ocurre con el resto de las células sanguíneas, los linfocitos se multiplican y se diferencian también fuera de la médula ósea. Las respuestas inmunitarias se producen en los órganos linfoides secundarios. El proceso tienen

lugar en los tejidos del sistema inmune como respuesta a condiciones y estímulos inmunológicos determinados en los órganos linfoides secundarios o periféricos: Bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado a mucosas (MALT: amígdalas, adenoides, placas de Peyer, tejido linfoide bronquial, lámina propia, tejido linfoide urogenital).

### 1.1.5.1 LINFOCITOS:

Los linfocitos en cuanto a su funcionalidad se diferencian en dos poblaciones; Linfocitos B y linfocitos T.

Estos linfocitos se originan en la médula ósea, otros órganos linfoides (timo, ganglios linfáticos y bazo) y en el tejido linfoide asociado al tracto digestivo, como placas de Peyer, amígdalas y apéndice.

En los órganos linfoides primarios, los linfocitos adquieren sus receptores antigénicos específicos, así como la capacidad de discriminar entre los antígenos propios y los ajenos. De allí, posteriormente, los linfocitos pasan a poblar los órganos linfoides secundarios (bazo, ganglios linfáticos, tejido linfoide asociado a mucosas), donde finalmente se producen las células inmuno competentes en respuesta a estímulos antigénicos. En estos órganos secundarios, los linfocitos interactúan entre sí y con los antígenos, a fin de generar y amplificar la respuesta inmune.

Los linfocitos T se distribuyen en el timo, los nódulos linfáticos, la sangre, el bazo y la médula ósea. Los linfocitos B se encuentran principalmente en la médula ósea, el bazo, la sangre, los nódulos linfáticos y un bajo porcentaje en el timo.

Los linfocitos T y B ocupan distintos sitios en los órganos linfoides. Los linfocitos B se ubican en la corteza de los folículos y nódulos linfáticos, en tanto que los linfocitos T se localizan en la paracorteza.

Las células inmunocompetentes están continuamente recirculando y se detienen en los órganos linfoides secundarios, para luego salir a la circulación y regresar <sup>15</sup>

Los linfocitos T proceden de la célula primitiva linfoide ubicada en la médula ósea. El estadio inicial en su formación se ha denominado protimocito, el cual, al ponerse en contacto con el epitelio tímico y bajo la influencia hormonal evoluciona hacia los diferentes estadios de diferenciación. Los linfocitos T llegan con la sangre a los órganos linfoides periféricos y bajo la influencia de un primer estímulo antigénico dan lugar al T-inmunoblasto, que originan posteriormente a los linfocitos T dotados de memoria inmunológica. Éstos son los que se relacionan con la inmunidad celular, mientras que sus distintas subpoblaciones de células actúan en la iniciación de la respuesta inmune (linfocitos ayudadores), su regulación (linfocitos supresores) y la citotoxicidad celular (linfocitos citotóxicos).

Los linfocitos B se derivan también de una célula germinal linfoide pluripotente y en el hombre adquieren su competencia inmunológica en la médula ósea y el hígado fetal. Los diferentes estadios madurativos que se reconocen son: Linfocitos pre-pre B, linfocito pre-B, linfocito B inmaduro y linfocito B maduro. Los linfocitos B constituyen la minoría del depósito linfocitario circulante y se asientan en los órganos linfáticos periféricos en las zonas B- dependientes. Los linfocitos maduros pasan de la médula ósea a la sangre periférica y se dirigen a los órganos linfáticos periféricos para ubicarse en los folículos linfoides.

Aquí bajo un estímulo antigénico adecuado se activan y proliferan para formar el centro germinal en el interior del folículo linfoide. Los linfocitos B que han seguido el proceso de estimulación y de transformación en el centro del folículo linfoide hasta el estadio de células no hendidas de gran tamaño salen del centro del folículo y se sitúan en los cordones medulares. Donde siguen aumentando de tamaño hasta transformarse en inmunoblastos. Estos pueden seguir el proceso de

estimulación hasta las células plasmáticas secretoras de inmunoglobulinas, o bien regresar al estado de pequeño linfocito B con memoria inmunológica. Las células plasmáticas, secretoras de inmunoglobulinas representan el estadio final de la transformación antigénica del linfocito B. En esta etapa las inmunoglobulinas, en lugar de expresarse en la membrana, pasan a ser secretadas y fácilmente pueden ser detectadas en el citoplasma. Una vez que reconocen un antígeno experimentan una transformación blástica y producen una serie de efectores o linfocinas que amplifican y modulan la respuesta inmune.

Durante el desarrollo de los linfocitos se reconocen estadios previos de linfoblasto y prolinfocito y su estado maduro: el linfocito.

**Linfoblasto:** Es la célula más inmadura de la serie linfocítica. Mide aproximadamente entre 15-20 micras y su núcleo contiene uno o dos nucleolos. Tiene una membrana nuclear densa y una zona perinuclear clara. El citoplasma es basófilo y se encuentra desprovisto de gránulos. Desde muy temprano expresan marcadores de linaje ya sea T o B, como el CD3 y CD10 respectivamente.

**Prolinfocito:** El prolinfocito es más pequeño que el linfoblasto midiendo aproximadamente entre 11 y 15 micras. Su núcleo es esférico y ocupa la mayor parte de la célula, la cromatina esta condensada y podría verse un nucléolo. La membrana nuclear es densa y puede observarse una zona clara perinuclear. En este estadio el citoplasma se vuelve menos basófilo.

**Linfocito:** En este estadio de la maduración se pueden distinguir dos tipos de linfocitos: Linfocitos pequeños: que tienen un tamaño aproximado de 7-10 micras. El núcleo de estas células es del tamaño casi de un eritrocito y ocupa cerca del 90% de la zona celular; la cromatina esta intensamente condensada, en grumos y se tiñe de un color morado oscuro intenso, además se encuentra rodeado por una cantidad reducida de citoplasma azul cielo y pueden observarse algunos gránulos azurófilos.

Linfocitos grandes: que son células heterogéneas y de un tamaño que varía de 11 a 16 micras. La cromatina del núcleo es muy similar al del linfocito pequeño. El citoplasma es abundante con azul más claro que se puede presentar con basofilia periférica y en ocasiones contiene una discreta granulación azurófila que es peroxidasa-negativo.

Los linfocitos T y B no son distinguibles morfológicamente entre si por las técnicas convencionales de tinción utilizadas en hematología, No obstante, es posible identificarlas por metodologías inmunológicas basadas en el uso de anticuerpos monoclonales, que reconocen la presencia de marcadores y receptores celulares específicos de superficie, de ahí que se distingan linfocitos T ayudadores, supresores y citotóxicos.

### 1.1.6 EXAMINACIÓN DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

La medición cuantitativa disponible de contadores de células automatizadas es seguro y provee un camino rápido y de bajo costo para descartar discrepancias hematopoyéticas y anomalías que reflejan enfermedades no hematopoyéticas, como las inflamatorias, las degenerativas y neoplásicas.

La observación del frotis sanguíneo bajo el microscopio es esencial para la confirmación certera de los resultados cualitativos y para investigar la diferenciación cualitativamente anormal de los linajes. Hematopoyéticos. Basados en la examinación de la sangre, el médico puede obtener una

visión dirigida hacia una evaluación más enfocada de la médula ósea o de desórdenes sistémicos que involucran secundariamente al sistema hematopoyético.

La cuenta completa de células sanguíneas es una parte necesaria para la evaluación diagnóstica de una gran variedad de condiciones clínicas

La cuenta diferencial de leucocitos y la examinación del frotis sanguíneo a pesar de sus limitaciones para evaluar enfermedades ocultas, es importante para considerar e incluir diagnósticos diferenciales en la mayoría de los pacientes enfermos.

### **1.1.6.1: Medición cuantitativa de las células sanguíneas**

**Cuenta de células sanguíneas:** es realizada por contadores de células automatizados de muestras sanguíneas debidamente diluidas por medio de una solución que lisa los eritrocitos, pero preserva la integridad de los leucocitos. El conteo manual de leucocitos se emplea solo cuando el equipo contador utilizado reporta interferencia.

Los equipos automatizados para el conteo diferencial de células blancas proveen un apoyo importante en el laboratorio clínico especialmente aquellos que procesan cantidades masivas de muestras sanguíneas <sup>16</sup>

Los resultados de los contadores automatizados pueden verse falsamente elevados como resultado de la presencia de crioglobulinas o criofibrinógeno, acúmulos plaquetarios, fibrina, spseudotrombocitopenia inducida por EDTA, células rojas nucleadas. También puede haber falsos descensos en las cuentas leucocitarias por una agregación de neutrófilos inducida por EDTA. <sup>17</sup>

Este potencial de interferencias es instrumento dependiente pero actualmente los analizadores actuales cuentan con una amplia variedad de algoritmos para minimizar las variaciones y eliminar esas muestras en las que el conteo exacto no sea posible realizarlo.

El conteo de los elementos celulares sanguíneos se basa en uno de los dos métodos clásicos:

- Impedancia eléctrica: El conteo y determinación del tamaño de las células se basa en la detección y medición de los cambios en la resistencia eléctrica producida por una partícula a su paso por una pequeña abertura. Partículas como las células sanguíneas no conducen electricidad, pero están suspendidas en un diluyente conductor. Conforme se extrae la suspensión diluida de células por la abertura, el paso de cada célula individual aumenta de manera momentánea la resistencia de la vía eléctrica entre dos electrodos sumergidos que se localizan a ambos lados de la abertura. El número de pulsos generados durante un periodo específico es proporcional al número de partículas o células.

- Detección óptica: en el método de enfoque óptico o hidrodinámico de conteo celular y determinación de tamaño celular, se emplea la luz láser. Una muestra de sangre diluida pasa en un chorro constante a través del cual se enfoca un rayo láser. Cuando pasa cada célula por la zona sensible del flujo celular, dispersa la luz enfocada. La luz dispersa se recibe en un detector de luz y se convierte en un pulso eléctrico. El número de pulsos generados es directamente proporcional al número de células que pasa por la zona sensible en un periodo específico.

Otra metodología relativamente nueva empleada para el conteo de células sanguíneas es la Citometría de flujo: que es la medición simultánea de múltiples características físicas de células individuales conforme la célula fluye en suspensión a través de un dispositivo de medición, se

emplea la tinción de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos para identificar células que expresan antígenos específicos.

**La diferencial leucocitaria:** En cuanto a la diferencial realizada a la serie blanca, muchos equipos modernos automatizados usan múltiples parámetros para identificar y numerar los cinco tipos de morfología principales de la serie blanca en sangre: neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos, además de indicar la posible presencia de células inmaduras y células con formas anormales.

La cuenta absoluta de neutrófilos puede ser realizada con exactitud, pero las bandas de neutrófilos no pueden ser identificadas por estos analizadores, por lo que debe realizarse un conteo manual, con la realización de un frotis sanguíneo, en presencia de un conteo elevado de neutrófilos en muestras sanguíneas.<sup>18</sup>

Pequeñas cantidades de células anormales pueden escapar de la detección tanto de métodos automatizados y métodos manuales. Las células de linfoma y linfocitos reactivos son también difíciles de identificar por ambos métodos. Si se es necesaria la búsqueda intencionada de células anormales o evaluar la morfología de los leucocitos, no existe aún un sustituto de la examinación microscópica mediante una adecuada tinción del frotis sanguíneo<sup>19</sup>.

Actualmente en el laboratorio de hematología del Centro Médico ABC para el procesamiento de las biometrías hemáticas (conteo de células blancas, rojas y plaquetas) se utiliza el equipo automatizado COULTER® LH 750, cuyo principio radica en la: Tecnología VCS™ (Impedancia y detección óptica). Además, de reactivos del sistema LH (Diluyente de serie LH y sistema de reactivos COULTER® LYSE'S III diff.

El equipo evalúa 29 parámetros entre los cuales se enumeran los de interés para este trabajo: WBC (Cuenta de glóbulos blancos), NE # (Neutrófilos absolutos), NE % (Porcentaje de neutrófilos) LY# (Linfocitos absolutos), LY% (Porcentaje de linfocitos), además de EO# (Eosinófilos absolutos), EO% (Porcentaje de eosinófilos), BA# (Basófilos absolutos), BA% (Porcentaje de basófilos), MO# (Monocitos absolutos) y MO% (Porcentaje de monocitos)

**Examinación de células por medio del frotis sanguíneo:** La evaluación de la morfología de los leucocitos, eritrocitos y plaquetas es un aspecto importante del análisis del frotis sanguíneo; se utiliza en conjunto con los índices hematimétricos para describir si las células por tamaño, forma y color son normales o anómalas.

El objetivo del frotis sanguíneo es el conteo y la clasificación de 100 leucocitos consecutivos y el informe de estas clases como porcentajes.<sup>20</sup>

En cuanto al recuento de células de la serie blanca, los resultados se informan como porcentajes de cada tipo de leucocitos durante el recuento. Además informa también cualquier alteración de los leucocitos que se observe (cambios tóxicos, linfocitos reactivos, bastones de Auer, etc.)

El recuento normal en la diferencial de leucocitos varía con la edad. Como se describió anteriormente los polimorfos nucleares predominan en los primeros días después del nacimiento, pero después los linfocitos ocupan la mayor cantidad de leucocitos. Este patrón persiste aproximadamente hasta los 6 años, cuando las células polimorfonucleares vuelven a predominar por el resto de la vida adulta.

El conteo de leucocitos decreta lentamente en las personas mayores, debido a la disminución significativa de linfocitos con la edad.

### 1.1.7 INDICE NEUTROFILO LINFOCITO:

La inflamación es un componente crítico en la progresión del tumor. Se sabe ahora que el microambiente tumoral, orquestado por células inflamatorias, es un participante esencial en el proceso neoplásico, promoviendo la proliferación, supervivencia y migración de las células neoplásicas.<sup>21</sup>

Las células tumorales producen varias citosinas y quimiocinas, como la interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), Factor estimulante de colonias de granulocitos (FECG) y factor inhibitorio de la migración de los macrófagos (FIMM), que activan y reclutan neutrófilos de la sangre periférica hacia el estroma del tumor, estimulando la progresión tumoral.

Los neutrófilos promueven el crecimiento tumoral y la angiogénesis al liberar distintos mediadores de la inflamación, como el Factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), y la Metaloproteínasa-9.<sup>22</sup>

Los neutrófilos generan especies de radicales libres, óxido nítrico y arginasa, los cuales interfieren en la función de los linfocitos-T. Además, estas células promueven que el tumor tenga un comportamiento más agresivo, facilitando la inestabilidad genómica y favoreciendo el crecimiento tumoral.<sup>28</sup> Por otra parte, un aumento en el número de linfocitos dentro del estroma tumoral se asocia a mejor supervivencia en varios procesos malignos, lo cual indica que inicialmente el sistema inmune induce una respuesta en relación al tumor, controlando su crecimiento.

Marcadores bioquímicos de respuesta inflamatoria; incluyendo citosinas, proteína C reactiva, el índice neutrofilo-linfocito (INL) y el índice plaquetas-linfocitos han sido incorporados en el score pronóstico en distintos tipos de cáncer, tales como el cáncer gástrico, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer de ovario, colangiocarcinoma intrahepático, carcinoma hepatocelular, cáncer pancreático, cáncer nasofaríngeo.<sup>23</sup>

El INL se propone como un balance entre el estado inflamatorio pro-tumor y el estado inmunológico anti-tumoral, cuya elevación ha sido reconocida como indicador de peor pronóstico y metástasis en cáncer.<sup>24,25</sup>

El índice neutrofilo/linfocito, (INL) se define como el recuento absoluto de neutrófilos dividido por el recuento de linfocitos, obtenido a través de un equipo automatizado.

Estudios anteriores han demostrado que un INL elevado está asociado a un aumento en la concentración de varias citosinas pro-inflamatorias que por consecuencia provocan un daño al DNA celular.<sup>26,27</sup>

Aunque ya se ha corroborado el impacto negativo de un INL elevado, estos estudios difieren en los puntos de corte para establecer un INL normal.

Mientras algunos estudios categorizan a los pacientes de acuerdo a intervalos de INL (tertiles, cuartiles, quintiles), otros utilizan puntos de corte definitivos del INL ( INL: >2.5, INL: >2.7, INL: >3, INL: > 4).

Además, estudios de países occidentales a menudo utilizan un punto de corte elevado de INL comparado a países orientales, lo que refleja la variación de un rango normal en el conteo de neutrófilos y leucocitos dependiendo de la raza.<sup>26</sup>



En un estudio realizado en el 2014 por The National Health and Nutrition Examination Survey (NHNES), El INL se estudió en relación a variables personales y demográficas: Raza (Hispana, Blancos No- Hispanos, Negros No- Hispanos, otros No- Hispanos), sexo, nivel educativo, comorbilidades, Índice de Masa Corporal (IMC), seguridad social, alcoholismo y tabaquismo. Se incluyeron 9427 muestras de sujetos y se obtuvieron los siguientes resultados:

La media del valor absoluto de neutrófilos fue de  $4.27 * 10^3$  cels/ $\mu$ L y de linfocitos fue de  $2.14 * 10^3$  cels/ $\mu$ L. En cuanto al INL la media fue de 2.15.

El INL en sujetos Negros No- Hispanos e Hispanos; tuvo una media 1.76, 95% IC 1.71-1.81) y 2.08, 95% IC 2.04-2.12 ; respectivamente, comparado con los sujetos Blancos No-Hispanos donde la media del INL fue de 2.24, 95% IC 2.19-2.28-  $p < 0.0001$ . Se demostró que no hubo deferencia significativa del INL en cuanto a sexo, educación, seguridad social y con el hábito de ingerir bebidas alcohólicas. En cuanto al IMC si hubo una correlación positiva; a mayor IMC mayor será el INL. A sí mismo, el INL se vio afectado en personas que padecían diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares.<sup>26</sup>

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. Justificación del estudio**

Actualmente se ha trabajado incansablemente para identificar biomarcadores que puedan predecir manifestaciones clínicas, pronostico o factor predictivo en los pacientes con cáncer.

Dentro de estos marcadores bioquímicos se encuentra el INL que representa un índice de fácil determinación, de bajo costo y un marcador altamente reproducible, cuyos componentes (conteo de neutrófilos y linfocitos absolutos) son medidos frecuentemente en la biometría hemática.

Sin embargo, no existen estudios suficientes que evalúen la asociación entre el INL y el melanoma, teniendo como consideración especial el estadio clínico.

Dado que se ha encontrado asociación del INL y otros modelos de neoplasias, considero que es necesario explorar si existe una asociación entre el INL y el estadio clínico en pacientes con melanoma. De tal manera que de encontrar diferencias entre el INL en los distintos estadios clínicos, se sugeriría realizar estudios posteriores para determinar si existe relación entre el INL y el pronóstico de la enfermedad.

La realización de éste trabajo dará la pauta para seguir estudiando esta asociación e incluir al INF como biomarcador de factor pronóstico en el diagnóstico de melanoma.

### **2.2. Planteamiento del problema**

En una muestra de expedientes de pacientes del Centro Médico ABC con diagnóstico de melanoma maligno (2002-2015) se buscara si existe una asociación entre el INL y la etapa clínica al momento de su diagnóstico.

### **2.3. Pregunta de investigación**

¿Existe una asociación entre el INL y la etapa clínica en pacientes con melanoma?

## **2.4. Hipótesis principal**

El aumento del índice neutrófilo linfocito se asocia con estadios clínicos avanzados de melanoma al momento del diagnóstico.

## **2.5. Objetivo principal del estudio**

- Medir y comparar el INL con la etapa clínica de melanoma al momento del diagnóstico
- Evaluar la asociación entre el INL al momento del diagnóstico y el estadio clínico distintas etapas del diagnóstico inicial de melanoma en pacientes del Centro Médico ABC.

## **2.6. Objetivo secundario del estudio**

- Comparar el INL encontrado en este estudio con otros índices pronósticos como la clasificación de Breslow y Clark
- Evaluar si existe correlación entre el INL y los diferentes desenlaces clínicos de la enfermedad (muerte, recurrencia, progresión).
- Evaluar si existe correlación entre el INL y los diferentes subtipos histológicos del melanoma al momento del diagnóstico.

## **2.7. Operacionalización de variables**

-Índice Neutrófilo-Linfocito: se define como el recuento absoluto de neutrófilos dividido por el recuento de linfocitos, obtenido a través de un equipo automatizado.

-Etapa clínica: Es una medida que describe la gravedad del cancer, tomando en cuenta la extensión y propagación de la enfermedad. El sistema de estadiaje implementado en neoplasias es el TNM propuesto por la American Joint Committee on Cancer (AJCC).

## **2.8. Categorización de variables**

### **-Índice Neutrófilo-Linfocito:**

Representa una variable cualitativa continua.

Se mide como una magnitud numérica

Se expresa como números enteros, que van de Cero a infinito

### **-Etapa clínica:**

Representa una variable cualitativa y ordinal.

## **2.9. Métodos y materiales**

Se realizó una búsqueda intencionada de expedientes en el sistema electrónico TIMSA de pacientes con diagnóstico de melanoma reportado por biopsia.

Y para la valoración de la biometría hemática se obtuvieron resultados del sistema electrónico TIMSA LABORATORIO del campus observatorio.

### **2.9.1 Universo y unidad del estudio**

**Universo:** Todos los pacientes con diagnóstico de Melanoma reportado por biopsia en un periodo comprendido entre 2002-2015.

**Unidad:** Expedientes revisados de pacientes con diagnóstico de melanoma reportado por biopsia.

### **2.9.2 Diseño del estudio**

Observacional, analítico, retrospectivo.

### **2.9.3 Criterios de inclusión del estudio**

- Expedientes de pacientes con diagnóstico de melanoma por biopsia Mayores de 18 años.
- Expedientes de pacientes con diagnóstico de Melanoma en cualquiera de sus estadios clínicos reportados por Biopsia del CM AB.
- Expedientes de pacientes que cuenten con estudios de laboratorio de no más de 1 semana de diferencia de la fecha de la biopsia del diagnóstico.
- Expedientes de pacientes con diagnóstico de melanoma que cuenten con resultados de Biometría Hemática completa.

\*Reportes de pacientes que al momento del diagnóstico inicial de melanoma debuten como melanoma metastásico y que no contaron con índice Breslow y Clark.

### **2.9.4 Criterios de exclusión del estudio**

- Expedientes de Pacientes con diagnóstico de melanoma que no se encuentren en sistema TIMSA al momento de la recolección de los datos del estudio.
- Expedientes de Pacientes con reporte de melanoma in situ por reportado por biopsia.
- Expedientes de pacientes con diagnóstico de melanoma en los que no se reporte la clasificación de Breslow y Clark (excepto melanoma metastásico)

## 2.9.5 Diagrama de Gantt

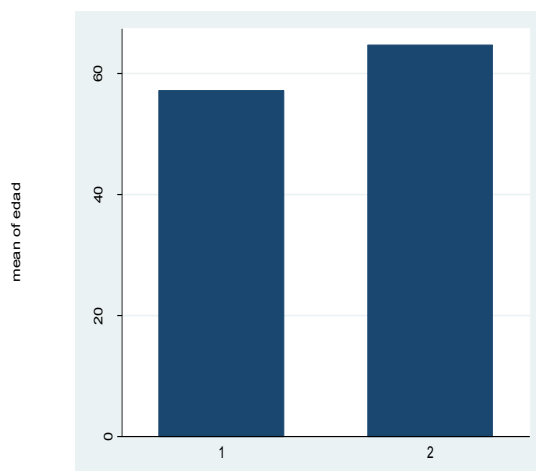
Actividad	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Elaboración de protocolo	■	■										
Registro del Protocolo			■									
Recopilación de información			■	■	■							
Análisis de la información						■	■					
Conclusión de la investigación								■				
Entrega final de la investigación via electrónica								■				
Entrega de la investigación por escrito										■		

## 2.10 Resultados

### ESTADISTICA DESCRIPTIVA

#### Características sociodemográficas:

Se incluyeron 63 expedientes de pacientes con diagnóstico de melanoma. El 47.6% (30/63) representó a mujeres y 52.3 % (33/63) a hombres Con una edad promedio general de 61.07 años (SD 14.42). En cuanto a la edad en mujeres el promedio fue de 57.13 años (SD: 15.41 años) y para hombres la edad promedio fue de 64.67 años (SD: 14.7 años). Respecto a su etnicidad; 44.4% (28/63) correspondían a raza blanca y 54% (35/63) a raza hispana.



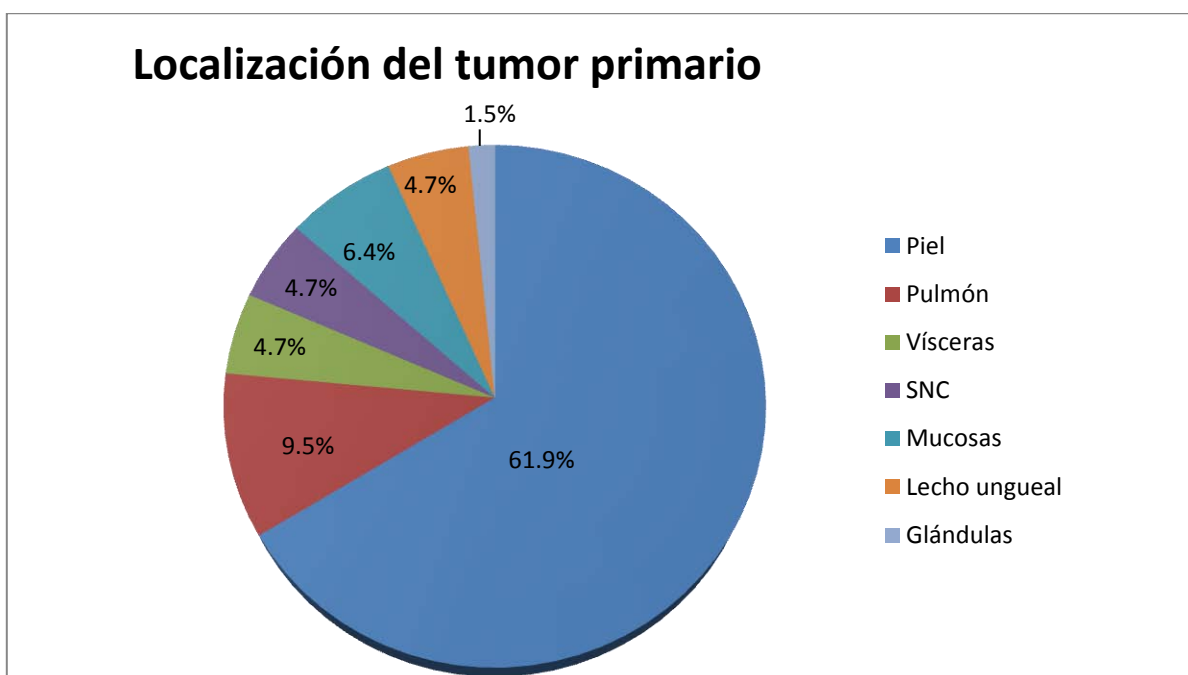
Grafica 1.

#### Por localización del tumor primario:

La localización con más frecuencia del tumor primario se observó en piel con un 61.9 %, de los cuales el 15.8% (10/63) se presentaron en piel de extremidad superior, junto con la región de cabeza y cuello con un 14.3 % (9/63) El resto correspondió a sitios como piel de extremidad inferior y región torácica, con 6.3% (4/63) y 11.1 % (7/63) respectivamente. Solo en un 6.3% (4/63) no se pudo especificar región en la piel

En cuanto a los sitios diferentes a piel se encontró que el pulmón ocupó el sitio más frecuente de localización con un 9.5% (6/63), seguido de la localización visceral y sistema nervioso central con 4.7% (para cada uno).

El 6.35 % (4/63) se localizó en mucosas, 4.7% (3/63) en el lecho ungueal. Y con una menor frecuencia en general solo 1.5% (1/63) se localizó en glándulas.



#### Etapa clínica:

Etapa clínica (EC): Se obtuvo un 31.7% (20/63) en EC I, un 18.9% (12/63) en EC II, 17.3% (11/63) se clasificaron como EC III y 31.6% (20/63) como EC IV. En la siguiente tabla se observa de manera desglosada cada etapa clínica.

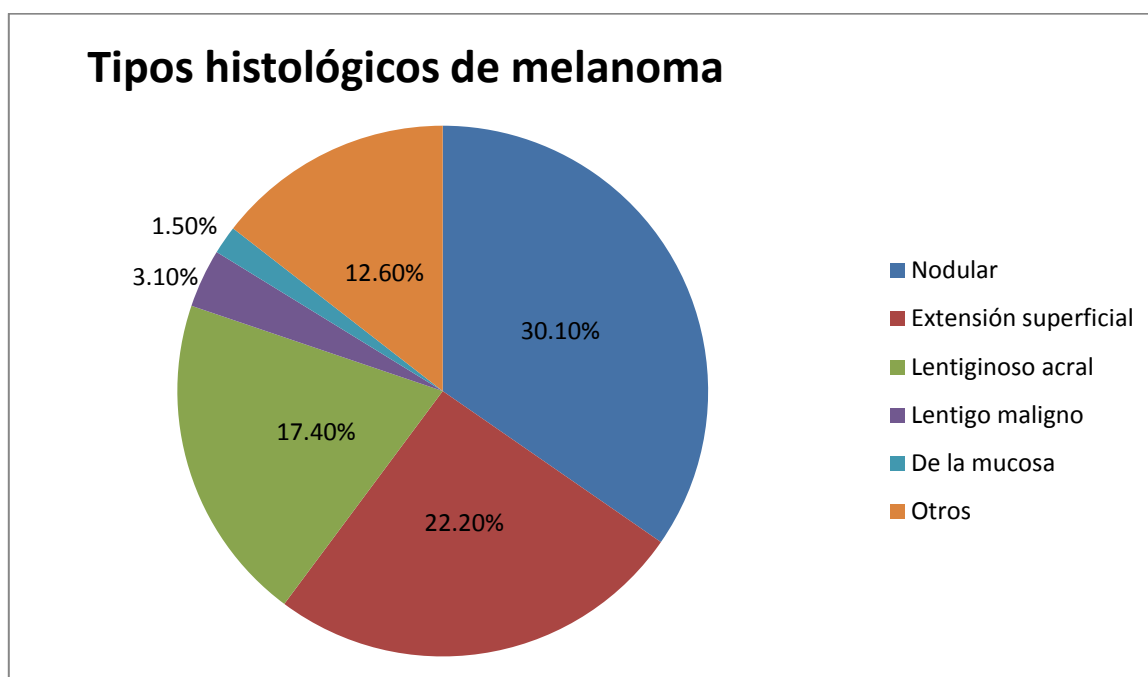
Etapa clínica	Número	Porcentaje
IA	13	20.63
IB	7	11.11
IIA	5	7.94
IIB	3	4.76
IIC	4	6.35
IIIA	10	15.87
IIIB	1	1.59
IVA	5	7.94

IVB	1	1.59
IVC	14	22.22
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>100.0</b>

#### Características anatomopatológicas: Tipo histológico del melanoma:

De las 63 biopsias estudiadas; el 30.1% (19/63) se reportó como tipo Nodular, el 22.2 % (14/63) se reportaron como tipo Extensión superficial. Un 17.4% (11/63) se reportó como Lentiginoso Acral. 12.6% (8/63) se clasificó en la categoría de otros (como epiteloide, fusocelular).

En menor frecuencia se reportaron Lentigo maligno y de la mucosa en 3.1% (2/63) y 1.5 % (1/63) respectivamente. Cabe señalar que 12.6 % (8/63) de las biopsias no reportó tipo histológico.



#### Breslow y Clark:

De los 63 reportes de patología estudiados, el índice de Breslow se documentó en 73% de los pacientes (46/63) al momento del diagnóstico, obteniéndose un promedio de 1.9mm (+/- 1.58). El paciente con mayor índice fue de 6.5 mm y el menor d 0.11mm.

Solo el 73% (46/63) de los pacientes contaba con índice de Clark reportado por biopsia. La frecuencia de pacientes de acuerdo al índice de Clark se muestra en la siguiente tabla:

Indice de Clark	Numero	Frecuencia (%)
<b>2</b>	10	21.73
<b>3</b>	12	26.98
<b>4</b>	16	34.78

<b>5</b>	<b>8</b>	<b>17.3</b>
<b>Totales</b>	<b>46</b>	<b>100</b>

### Ganglio centinela

El procedimiento de ganglio centinela de la muestra de pacientes del estudio fue realizado en 52 pacientes (82.5%) de estos, se reportan las siguientes frecuencias:

Ganglio centinela	Frecuencia	%
<b>Ausente</b>	37	71.15
<b>Presente</b>	15	28.85
<b>Totales</b>	52	100.0

**Características de laboratorio: Conteo de Células blancas e INL** Incluyendo el todas las etapas clínicas.

De los 63 pacientes estudiados y contaron con biometría hemática completa se obtuvo una media de  $7.3 \times 10^3 / \mu\text{L}$  (SD:  $2.7 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ) en la cuenta de células blancas.

### Leucocitos totales

Medida	$\bar{X}$	SD	MEDIANA
<b>Valor reportado</b>	7,331.7	2,709.6	6,500

Hablando específicamente de neutrófilos absolutos y su porcentaje; se obtuvo una media de  $5.0 \times 10^3 / \mu\text{L}$  (SD:  $2.7 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ) y una media de 65.16% (SD: 11.76 %).

### Neutrófilos absolutos

Medida	$\bar{X}$	SD	MEDIANA
<b>Valor reportado</b>	5,00	2,713.3	4,200

### Porcentaje de neutrófilos

Medida	$\bar{X}$	SD	MEDIANA
<b>Valor reportado</b>	65.16%	11.76	65%

Ya en el conteo de linfocitos absolutos y su porcentaje se obtuvo una media de  $1.6 \times 10^3 / \mu\text{L}$  (SD:  $0.5 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ) y 24.8% (SD: 10.8%) respectivamente.

### Linfocitos absolutos

Medida	$\bar{X}$	SD	MEDIANA
Valor reportado	1,642.8	566.1	1,600

### Porcentaje de linfocitos

Medida	$\bar{X}$	SD	MEDIANA
Valor reportado	24.85%	10.89	24%

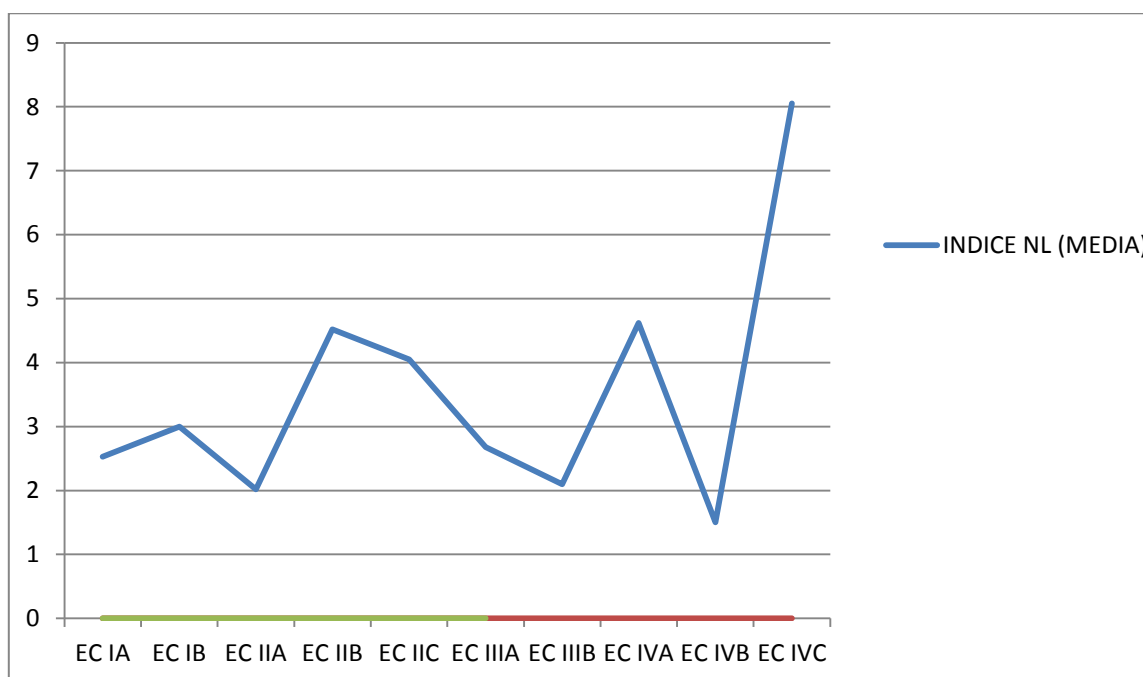
En cuanto al INL: de los 63 pacientes se obtuvo una media de 4.1 (SD: 6.44) y una mediana de 2.7.

### INL

Medida	$\bar{X}$	SD	MEDIANA
Valor reportado	4.14	6.44	2.7

Se analizaron las medias de INL de acuerdo a la etapa clínica reportada en el estudio.

EC	IA	IB	IIA	IIB	IIC	IIIA	IIIB	IVA	IVB	IVC
N	13	7	5	3	4	10	1	5	1	14
Media	2.53	3	2.02	4.83	4.05	2.68	2.1	4.62	1.5	8.05
SD	1.39	1.01	1.04	4.52	3.16	0.86	-	4.87	-	12.5





## ESTADISTICA INFERIDA

Se generó una variable tomando en cuenta a pacientes en etapa clínica avanzada (> IIA) y el INL con los valores de > 2.0 y >2.7 encontrándose una tendencia de asociación con el punto de corte del INL >2.7

Al buscar asociación entre el índice neutrófilo linfocito Existe una tendencia de presentar una asociación entre el INL (>2.7) y presentar una EC avanzada (>IIa), (OR de 2.72) IC 95% (0.85-8.88) sin embargo, no fue estadísticamente significativa ( $p=0.057$ )

### Proportion

	Exposed	Unexposed	Total	Exposed
+-----+-----+-----				
Cases	23	15	38	0.6053
Controls	9	16	25	0.3600
+-----+-----+-----				
Total	32	31	63	0.5079
Point estimate   [95% Conf. Interval]				
+-----+-----				
Odds ratio	2.725926		.8547747	8.889252 (exact)
Attr. frac. ex.	.6331522		-.1698989	.8875046 (exact)
Attr. frac. pop	.3832237			
+-----+-----				
chi2(1) = 3.63 Pr>chi2 = 0.0568				

## PRUEBAS DE CORRELACION:

Al evaluar si existe correlación entre INL y los siguientes escenarios (desenlace clínico: muerte, recurrencia, progresión).

En este estudio se encontró una correlación de 58% (una magnitud alta de acuerdo a los criterios gillrod) entre el inl (>2.7) y el desenlace de muerte en el subgrupo de pacientes en etapa clínica >IIA.

Se encontró correlación entre el INL de 2.7 y el desenlace de muerte en el subgrupo de pacientes con enfermedad avanzada (EC > IIA) con una correlación alta (58%) ( $p=0.0005$ )

spearman ecinl4 muerte, stats(rho obs p)

Number of obs = 32

Spearman's rho = 0.5808

Test of Ho: ecinl4 and muerte are independent

Prob > |t| = 0.0005

Al realizar la búsqueda de asociación entre el índice neutrófilo linfocito > 2.7 (establecido como mediana en este estudio) y una etapa clínica avanzada (>IIa) se encontró que existe una tendencia (OR de 2.72) IC 95% (0.85-8.88) sin embargo, no estadísticamente significativa ( $p=0.057$ .)

Al realizar pruebas de correlación entre el INL (>2.0) y los diversos desenlaces clínicos, no se encontró correlación estadísticamente significativamente.

Se decide realizar análisis de correlación entre el INL (>2.7) y con índice de Clark y Breslow no encontrando correlación estadísticamente significativa.

A su vez realizarnos análisis de correlación entre el el INL (>2.0) y con índice de Clark y Breslow no encontrando correlación estadísticamente significativa.

Por último se buscó correlación entre el INL (>2.7) y la presencia de los patrones de presentación del melanoma al momento del diagnóstico (extensión superficial, ulcerado, nodular, lentiginoso, acral), no encontrando correlación estadísticamente significativa entre estos subtipos y el INL.

Se analizó también la correlación entre el INL (>2.0) y la presencia de los patrones de presentación del melanoma al momento del diagnóstico (extensión superficial, ulcerado, nodular, lentiginoso, acral), no encontrando correlación estadísticamente significativa entre estos subtipos y el INL.

No se obtuvo correlaciones por no contar con el tamaño suficiente de muestras.

## 2.11 Discusión

Al elaborar el siguiente trabajo se realizó una búsqueda sistematizada de manera electrónica en la base de datos Pubmed, donde se encontraron 730 artículos desde el año 1976 hasta julio del 2015, en donde se incluían las siguientes palabras “neutrophil” “lymphocyte” “ratio” “cancer”.

el INL se define como el recuento absoluto de neutrófilos dividido por el recuento absoluto de linfocitos, obtenido a través de un equipo automatizado, en estudios anteriores se ha demostrado que un INL elevado está asociado a un aumento en la concentración de varias citosinas pro-inflamatorias que por consecuencia provocan un daño al DNA celular.

Aunque no se ha definido de manera estandarizada un punto de corte para el INL, algunas publicaciones categorizan a los pacientes de acuerdo a intervalos de INL (tertiles, cuartiles, quintiles), otros utilizan puntos de corte definitivos del INL ( INL: >2.5, INL: >2.7, INL >3, INL: > 4).

Un estudio publicado en el 2014 por The National Health and Nutrition Examination Survey (NHNES) en nueva york, se incluyeron 9427 pacientes sin patología oncológica, donde el objetivo fue establecer un punto de corte del índice neutrófilo linfocito dependiendo de la raza a la que pertenecían dichos pacientes; encontrándose un índice neutrófilo linfocito de 1.76 para pacientes de raza negra, un índice neutrófilo linfocito de 2.0 para hispanos y un índice neutrófilo linfocito de 2.24 para pacientes de raza blanca, lo que representa parte de la evidencia de mayor peso en relación a este parámetro bioquímico.

Para este protocolo se establecieron dos puntos de corte: el primero de acuerdo a la raza, obtenidos en el estudio ya mencionado, por lo que se optó por sugerir un índice neutrófilo linfocito de 2.0 ya que la mayoría (54%) de los pacientes incluidos son hispanos.

El segundo al realizar el análisis estadístico que se tomó como punto de referencia un INL de 2.7 (según de la mediana) ya que no se logró obtener una media (promedio) por la gran dispersión de datos debido a que la mayoría de los pacientes analizados se encontraba en etapas clínicas con indicación quirúrgica como método definitivo curativo es decir no existía evidencia de enfermedad al realizarse la medición del INL.

En el subanálisis de acuerdo a los distintos escenarios clínicos, iniciando con las etapas tempranas en la que de acuerdo a la literatura la supervivencia estimada a los 10 años de los pacientes con melanomas t1 es de aproximadamente 92%, en comparación con sólo el 50% de los pacientes con melanomas t4, del mismo modo, la ulceración es un fuerte predictor en pacientes con melanoma, con tasas de supervivencia a 5 años de 71% para t4a en comparación con el 53% de los melanomas t4b.

Las debilidades del estudio es que es un estudio retrospectivo, existieron sesgos de selección por lo que no se pudieron demostrar los objetivos de este estudio, aunque sí se pudo obtener una correlación del INL y el desenlace de muerte, lo cual pudiera sugerir un factor pronostico

independiente siempre y cuando pueda reproducirse esta asociación en estudios prospectivos e incluso con intervención terapéutica.

Actualmente se ha descrito y estudiado el INL en otras neoplasias: cáncer gástrico, tumores sólidos, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, linfomas, cáncer cervico-uterino, cáncer hepático, sarcomas de tejidos blandos, entre otras.

Existe evidencia en otras neoplasias como el caso de sarcoma de tejidos blandos donde se evaluó el papel del índice INL en escenario preoperatorio se correlacionó el índice elevado > 2.3 con disminución en supervivencia libre de recurrencia (p .031) y en la estimación de supervivencia global (p .007), como factor pronóstico independiente, sustentando el aumento con la enfermedad activa.

## **2.12 Conclusiones**

El presente estudio sugiere una tendencia a asociación entre el INL (> 2.7) y la etapa clínica. (sin embargo no fue significativamente significativo por la limitante del tamaño de muestra).

Se encontró una correlación única con el subgrupo de pacientes con enfermedad avanzada y un INL > 2.7 y el desenlace de muerte, no así en las demás variables (progresión y recurrencia)

Es necesario realizar estudios prospectivos para determinar el papel del ILN en melanoma, tomando en cuenta los resultados de este estudio, y finalmente poder incluir o descartar este parámetro bioquímico como un marcador pronóstico o probablemente predictivo.

## **2.13 Bibliografía**

- 1.- De la Fuente- García A, Ocampo- Candiani J. Melanoma Cutáneo: Artículo de revisión. Gac Méd Méx Vol. 146 No. 2, 201: 126-37.
- 2.- Frías Ancona G, Ortiz Hidalgo C, Lara ME. Estudio epidemiológico de melanoma maligno en el American British Cowdray Medical Center. Anales médicos. Vol. 56, Núm. 4 Oct. - Dic. 2011 p. 196 – 204.
- 3.- American Cancer Society. Melanoma. 2015.
- 4.- Sociedad Española de Oncología Médica [Sede Web].España. Última actualización: 31 de Marzo de 2015; acceso 20 de febrero del 2015. Melanoma ; [aproximadamente 13 pantallas]. Disponible en: <http://www.seom.org/es/informacion-sobre-el-cancer/info-tipos-/melanoma?showall=1>
- 5.- Masloski JE, Piat GL, Lujan AM. Melanoma: Metaanálisis. Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina. 2008. 183; 9-16.
- 6.- Herrera NE, Aco AY. Melanoma en México: Artículo de revisión. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas. 2010; Vol. 15 . Num 3: 161-164

- 7.- National Cancer Institute:PDQ. Melanoma. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Ultima actualizacion:09 de Julio 2015; acceso 21 de Mayo 2015 Disponible en : <http://cancer.gov/español/pdq/tratamiento/melanoma/HealthProfessional>.
- 8.- National Comprehensive Cancer Network. Melanoma. NCCN.Ultima actualización: 11 de marzo 2015.; Acceso: 10 de Abril 2015. Disponible en: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/melanoma.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/melanoma.pdf)
- 9.- Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer.Nature. 2002. 420(6917); 869-867.
- 10.-Mantovani A, Allavena P, Sica A. Cancer-related inflammation. Nature. 2008 .454: 436-445.
- 11.- Louise M. Hematología clínica. Teoría y procedimientos. Ed. Manual moderno . 1a edición. 2006.
- 12.- Kaushansky K. Williams. Atlas of Hematology. Ed Mc Graw Hill. 8ª edición. 2011.
- 13.-Spangrude GJ: When is a stem cel really a stem cell? Bone Marrow Transplant 32 Suppl 1:S7. 2003.
- 14.- Baiton DF, Distinct granule populations in human neutrophils and lysosomal organelles identified by inmuno electron microscopy . J Inmunol Methods 232:153, 1999
- 15.- Manascero AR. Atlas de morfología celular, alteraciones y enfermedades relacionadas.Ed. CEJA. 15ª edición. 2003.
- 16.- Beckman Coulter. Coulter ® LH 750. Analizador Hematológico. Tríptico de información general del equipo.
- 17.- Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, et al: Spurious counts and spurious and spurious results on haematology analysers: A review. Part II: White blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. Int J. Lab Haematol 29:21, 2007
- 18.- Hijjiya N, Onciu M, Howard SC, et al:Utility of automated counting to determine absolute neutrophil counts and absolute phagocyte counts for pediatric cancer treatment protocols. Cancer 101:2681, 2004
- 19.- Ceelie H, Dinkelaar RB, Van Gelder W: Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and Cellavision DM96. J Clin Pathol 60:72:2007.
- 20.- Carr, Rodak, Atlas de Hematología clinica.3a Edición . Editorial panamericana. 2011.06:07.
- 21.-Szkandera J, Gerger A, et al. The derived neutrophil/lymphocyte ratio predicts poor clinical outcome in soft tissue sarcoma patients. The American Journal of Surgery. 2015. Elsevier.
- 22.- Kuang DM. Zhao Q. Wu Y, et al. Peritumoral neutrophils link inflammatory response to disease progression by fostering angiogenesis in hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2011; 54:948-55
- 23.- Mallapa S. Sinha A. Gupta S. Preoperative neutrophil to lymphocyte ratio >5 is a prognostic factor for recurrent colorectal cancer. The Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland. 2012, 15,323-328.

- 24.- Arnoud J, Mairéad G. et al . Prognostic Role of neutrophil- to- Lymphocyte Ratio in Solid Tumors: A systematic review and meta. Analysis.JNCI.2014;106 (6)
- 25.- HanByoul C, Hye Won H, et al. pre- treatment neutrophil to lymphocyte ratio is elevated in epithelial ovarian cancer and predicts survival after treatment. Cancer Immunol Immunother (2009) 58;15-23.
- 26.- Azab B, Camacho- Rivera M, Taioli E. Average Values and Racial Differences of Neutrophil Lymphocyte Ratio among a Nationally Representative Sample of United States Subjects. PLOS ONE. 2014. 9(11)
- 27.- Viers B R, Boorjian S A, Frank I. et al . Pretreatment Neutrophil-to-lymphocyte Ratio Is Associated with Advanced Pathologic Tumor Stage and Increased Cancer- specific Mortality Among Patients with Urothelial Carcinoma of the Bladder Undergoing Radical Cystectomy. European Association of Urology. 2014. 66; 1157-1164