

Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología

LINFOCITOS T PERIFÉRICOS EN LINFOMAS NO HODGKING. VALOR PREDICTIVO DE LA EVOLUCIÓN A LARGO PLAZO

Dra. Gladys C. Expósito Rodríguez,¹ Dra. María del C. Barroso Álvarez,² Dr. Carlos Díaz Salas,³ Lic. Carlos Calderón Marín,⁴ Lic. Marta Guerra Yi⁵ y Lic. Alicia González Sánchez⁶

RESUMEN

Se propuso la evaluación pronóstica del comportamiento clínico a largo plazo de 70 pacientes con linfoma no Hodgkin tratados en el Instituto Nacional de Oncología en relación con la cuantía pretratamiento de células T CD3+, CD4+, CD8+ y CD6+ periféricas determinadas por inmunofluorescencia. Un 61,4 % de los pacientes mostró valores bajos de CD3+ (grupo A) y sólo un 21,4 % normales (grupo B). Durante un período de observación promedio de 8,18 años fueron más frecuentes los eventos clínicos adversos que los favorables en el grupo A y viceversa en el grupo B. Ambas asociaciones comportamiento/cuantía de linfocitos CD3+ fueron estadísticamente no significativas. La supervivencia promedio a 10 años del grupo A es más corta que la del B (6,2 u 7,0 años) siendo la diferencia más evidente en los sobrevivientes de la serie (9,7 u 11,9). El valor porcentual de células CD3+ constituye un indicador de calidad de vida a largo plazo en los LNH, que podría ayudar a seleccionar pacientes para trasplante de médula ósea como consolidación del tratamiento, pues define grupos de mal pronóstico a pesar de lograr la remisión completa.

Descriptor DeCS: LINFOMA DE HODGKIN; METODOS; LINFOCITOS T; PRONOSTICO; CALIDAD DE VIDA.

El pronóstico de los pacientes con Linfoma no Hodgking (LNH) preocupa por la tendencia a una alta frecuencia de enfermedad avanzada al ser diagnosticado, progresión rápida, recurrencia, e infiltración medular o del sistema nervioso central.

El índice pronóstico internacional (IPI) para los LNH agresivos, constituido por cinco variables (edad \leq 60 años u $>$ 60, etapa clínica por *Ann Arbor* I o II u III o IV, concentración sérica de LDH \leq nivel normal u $>$ nivel normal, ningún o un sitio

¹ Especialista de II Grado en Oncología. Investigadora Auxiliar.

² Especialista de II Grado en Oncología. Profesora Asistente.

³ Especialista de II Grado en Oncología. Instructor.

⁴ Licenciado en Física Nuclear. Investigador Agregado.

⁵ Licenciada en Matemáticas. Investigadora Agregada.

⁶ Licenciada en Biología.

extraganglionar afectado o dos o más, y el estado general según *Easter Cooperative Oncology Group* 0 ó 1 u ≥ 2) ha logrado una aceptación tan amplia que hoy se está utilizando también en pacientes con linfomas de bajo grado de malignidad.¹

La respuesta al tratamiento y la duración y calidad de la supervivencia (SV) en parte son consecuencias de las características del hospedero (edad, inmunocompetencia, estado nutricional y enfermedades concurrentes); y de la interacción tumor-hospedero, donde las alteraciones de la inmunidad influyen en el curso clínico hacia el control o la diseminación de la enfermedad. De hecho, múltiples factores inmunológicos independientemente han resultado pronósticos, por ejemplo, características fenotípicas/funcionales de las células efectoras de la respuesta inmune,^{2,3} expresión de los antígenos HLA-DR,⁴ presencia de linfocitos T infiltrantes en tumores de estirpe B,^{5,6} concentración de IL-6 en suero,⁷ así como expresión de las moléculas de adhesión CD44,⁸ CD56^{4,9} y CD22.^{4,10}

En esta experiencia¹¹ la media de los porcentajes de células CD3+ periféricas en pacientes portadores de un LNH fue estadísticamente diferente a la de los controles sanos ($p < 0,001$). Este marcador se expresa unido al receptor para el antígeno de la célula T en forma de complejo TCR/CD3 y brinda una estructura a partir de la cual, después del contacto con el antígeno, las células T son activadas mediante una señal de transducción. Con esta información previa, se propuso la evaluación pronóstica del comportamiento clínico de la enfermedad a largo plazo, con relación a la expresión de los antígenos leucocitarios de diferenciación CD3, CD4, CD8 y CD6 en la superficie de los linfocitos T, al momento del diagnóstico. En el análisis se hizo énfasis en la comparación de la evolución de los pacientes con valores del CD3

bajos (grupo A) y de los que tenían valores normales (grupo B), por haber resultado el parámetro más alterado.

MÉTODOS

EVALUACIÓN INMUNITARIA

Para la identificación y conteo de células T CD3+, 4+, 8+ y 6+ los linfocitos fueron obtenidos de la sangre según el método de *Boyum*. El tipaje se logró por inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales generados en el Centro de Inmunología Molecular mediante microscopía de fluorescencia, y los resultados se presentan en valores relativos sobre 200 células y no en absolutos, porque al grupo control no se le realizó leucograma para su cálculo. Los valores de referencia fueron obtenidos de 23 individuos aparentemente sanos, bajo las mismas condiciones experimentales. Los rangos normales del porcentaje de células CD3+, CD4+, CD8+ y CD6+ son del 64 y 74 %, 42 y 50 %, 18 y 28 % y 50 y 70 % respectivamente.

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Para conducir un análisis retrospectivo del valor pronóstico de los marcadores citados, se estudiaron las historias clínicas de los 99 pacientes que asistieron al laboratorio de Inmunología Clínica del INOR con diagnóstico probable de LNH entre 1984 y 1990. Se incluyeron 70 adultos sin límite de edad ni etapa clínica; con diagnóstico de LNH confirmado histológicamente; que no habían recibido tratamiento oncoespecífico previo, y que fueron tratados y seguidos en el INOR. No se aceptaron 29 pacientes por no cumplir los criterios

anteriores, o por antecedentes de enfermedades cardiovasculares, pulmonares o neurológicas severas o descompensadas, así como de enfermedades sépticas recientes. Se empleó la clasificación de *Rappaport* modificada para determinar la variedad histológica y a partir de ella se reclasificaron según grados de malignidad equivalentes a la formulación de trabajo adoptada de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se clasificaron por etapas según *Ann Arbor*. El tratamiento de elección fue la quimioterapia (QT) sola o combinada con radiaciones ionizantes. Los esquemas citotóxicos más utilizados fueron CHOP (modificado), COP y Bleo-CHOP (6 y 8 ciclos). Sólo recibieron tratamiento con Co^{60} los casos con enfermedad muy voluminosa o en sitios santuarios. Se define la remisión completa (RC) como la desaparición total de enfermedad clínicamente por al menos un mes, y la progresión (P) como el aumento $> 25\%$ del tumor. Los pacientes en recaída, remisión parcial o P recibieron tratamiento individual. El *status* vital se verificó mediante un sistema de seguimiento mixto. El tiempo de observación de la serie fluctuó entre 0,08 y 14,5 años. En la tabla 3 se muestra la frecuencia de pacientes según los datos seleccionados para el estudio de Sv.

PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

En la base de datos se incluyeron también complicaciones por la terapia o por sepsis concurrentes que no remitieron con tratamiento médico, SV libre de enfermedad y SV.

La distribución de frecuencias absolutas y relativas de las variables y sus categorías fue tabulada para proceder a la determinación de la relación de dependencia entre ellas utilizando la prueba X^2 . El cálculo

de las curvas de probabilidad de SV a 10 años (SV_{10}) se obtuvo por el método de *Kaplan-Meier* y la comparación de éstas por los métodos *Log-Rank* y *Breslow*. El análisis fue realizado según el paquete estadístico SPSS para Windows versión 6,0.

RESULTADOS

La edad promedio fue de 51,2 años con un predominio de los linfomas linfocíticos pobremente diferenciados difusos para un 24,2 % del total de pacientes seguido de los linfomas mixtos difusos con un 14,2 %. Más del 70 % sobrepasa la etapa II y las recaídas se concentraron en los 2 primeros años de seguimiento (11/26).

El estudio resaltó que un 61,4 % de los pacientes tenían niveles de células CD3+ bajos. Este déficit se produce más bien a expensas de la escasez de células CD4+ (41,2 %) que de CD8+ (21,7 %). Los linfocitos CD6+ estaban disminuidos en un 27,1 % de los pacientes.

La interrelación entre los posibles resultados de la variable CD3 con otras variables y sus condiciones mostró que está significativamente asociada a sexo, CD4, CD6 y actividad tumoral en la última noticia (UN) en el grupo que sobrevive.

Se analizó el comportamiento de la evolución clínica según el número de células CD3+ salvo en los 7 pacientes en que estuvo aumentado. En el grupo A (n = 43) se destaca que 15 pacientes evolucionaron hacia la P tumoral, 17 recayeron, 13 fallecieron después de progresar y 8 después de recaer; y al final del período de observación, 20 presentaban actividad tumoral. Sin embargo, en el grupo B (n = 15) 8 de los 12 que lograron RC se mantenían en RC, y 10 sobrevivían, resultando la comparación de las frecuencias de pacientes en función de estos eventos no significativa estadísticamente (tabla 1).

TABLA 1. Datos sobresalientes durante el curso clínico en función de la cuantía de células TCD3+

Eventos	Todos n = 70	CD3 Bajo n = 43		CD3 Normal n = 15	
		Ptes.	%	Ptes.	%
Remisión completa (RC)	43	24	55,8	12	80,0
RC mantenida	24	12	27,9	8	53,3
Ptes. que sobreviven	34	15	34,8	10	66,6
Progresión	23	15	34,8	3	20,0
Recaída	26	17	39,5	4	26,6
F. entre los que progresaron	21	13	30,2	3	20,0
F. entre los que recayeron	11	8	18,6	2	13,3
F. por otras complicaciones*	5	5	11,6	0	0
Actividad tumoral al final	29	20	46,5	4	26,6

Prueba X^2 $p=0,3$; Ptes. = pacientes; F. = fallecidos; * = Dato excluido de la comparación; % = valores porcentuales sobre el total de pacientes con CD3 normal o bajo según el caso.

TABLA 2. Relación entre CD3+, estado actual y actividad tumoral

Pacientes según CD3+	Actividad tumoral	Sobrevivientes		Fallecidos	
		Actividad ignorada	Libres de tumor	Actividad tumoral	Actividad ignorada
Bajo	3	1	14	17	8
Normal	0	0	10	4	1
Alto	0	0	4	2	1
Ignorado	0	2	0	3	0
Total	3(4,4)	3(4,4)	28(40)	26(37)	10(14,2)

+ = Valores porcentuales sobre el gran total (n = 70)

Entre las 36 muertes registradas, 25 fueron motivadas por recurrencia del LNH, una por infiltración medular y 10 por causas ajenas o desconocidas. Su relación con los conteos CD3 se aprecia en la tabla 2, destacándose 17 casos fallecidos en actividad en el grupo A, y 10 pacientes vivos e inactivos en el grupo B.

A los 10 años, la SV global acumulativa de la serie fue 49,4 % según la tabla 3. Los únicos factores influyentes fueron: etapa clínica ($p < 0,004$), respuesta al tratamiento, recaída y actividad tumoral

a la UN (todos con $p < 0,0001$). Los marcadores fenotípicos no marcaron diferencias notables entre sus curvas de SV_{10} , pero se observó que los pacientes con linfopenia T (CD3+, 4+ y 8+) tendieron a presentar tasas inferiores a las obtenidas en los grupos donde esos resultados fueron normales.

También la duración promedio de la SV en el grupo A fue más corta que en el B (6,23 u 7 años); así como el ILE (4,02 u 6,27 años) aunque las posibles desventajas en la SV libre de enfermedad están aún por constatar.

TABLA 3. Predicción de la supervivencia a largo plazo

Datos	Categoría	n	Pacientes		Probabilidad SV ₁₀	
			%	%	Valor p	
Sexo	Todos	70	100,0	49,4	-	
	Femenino	33	47,1	41,0	0,37	
	Masculino	37	52,8	56,0		
Edad (años)	≤ 55	36	51,4	57,0	0,12	
	> 55	34	48,5	40,0		
Tipo histológico	Nodular	20	28,6	45,0	0,79	
	Difuso	38	54,3	43,0		
Grados de malignidad	Bajo	21	30,0	56,0	0,43	
	Intermedio	30	42,8	45,0		
	Intermedio o alto	10	14,2	30,0		
	Alto	5	7,1	40,0		
Etapa clínica	I	9	12,8	87,0	0,004	
	II	10	14,2	62,0		
	III	29	41,4	51,0		
	IV	22	31,4	25,0		
Síntomas generales	A	53	75,7	52,0	0,18	
	B	5	7,1	30,0		
	Remisión completa	43	61,4	74,0	0,0000	
Respuesta al tratamiento	Remisión parcial	1	1,4	Censurado		
	Estabilización	1	1,4	0,0		
	Progresión	23	32,8	5,3		
Recaída (% sobre pacientes con RC)	No	25	58,1	96,0	0,0001	
	Sí	18	41,8	44,0		
Actividad tumoral en la UN	No	28	40,0	0,0	0,0000	
	Sí	29	41,4	11,0		
Conteo de CD3	Bajo	43	61,4	42,0	0,26	
	Normal	15	21,4	66,0		
	Alto	7	10,0	57,0		
	Ignorado	5	7,1	57,0		
Conteo de CD4	Bajo	29	41,4	47,0	0,50	
	Normal	29	41,4	51,0		
	Alto	7	10,0	66,0		
	Ignorado	5	7,1	20,0		
Conteo de CD8	Bajo	19	27,1	42,0	0,49	
	Normal	35	50,0	57,0		
	Alto	9	12,8	38,0		
	Ignorado	7	10,0	42,0		
Conteo de CD6	Bajo	18	25,7	52,0	0,82	
	Normal	31	44,2	46,0		
	Alto	6	8,5	33,0		
	Ignorado	15	21,4	59,0		

Respuesta al tratamiento no pertinente en 2 pacientes por sepsis; Censurado = continúa vivo

DISCUSIÓN

La alteración por defecto de células CD3+ y CD4+ en periferia y en ganglios linfáticos de pacientes con LNH ya descrita² ha sido reproducida en este estudio expresando un estado de inmunodeficiencia frecuente.

En la tabla 1 se aprecia una correspondencia entre los porcentajes más altos de pacientes del grupo A y una mayor frecuencia de eventos desfavorables intermedios o finales en la evolución, y otra similar en el B donde predominan los favorables, con algunas consecuencias de esperar al comparar los grupos A y B (tabla 2): predominan los fallecidos (58 %) sobre los vivos en A, y los vivos (66 %) sobre los fallecidos en B; existen más pacientes en actividad en A que en B (46 v 26 %) y más pacientes libres de tumor en B que en A (66 v 32 %); hay un acortamiento de la duración de la RC (6,2 v 9,8 años), así como de la SV₁₀ promedio (6,2 v 7,0) que fue aún más evidente entre los sobrevivientes de la serie (9,7 v 11,9).

La estrecha relación entre las variables CD3 y sexo se explica porque predomina la proporción de hombres con conteos normales en comparación a las mujeres (32 v 9 %).

La asociación entre la cuantía de la población CD3+ y de las subpoblaciones CD4+ y CD6+ parece deberse a que altos porcentajes de pacientes (76 y 72 % con conteos bajos de CD4+ y 6+ respectivamente) comparten con el CD3 dicha alteración. Y la relación con la actividad tumoral a la UN en los sobrevivientes, está en consonancia con el número de pacientes (10/15) del grupo B que están controlados pese a que dos habían recaído; y por otra parte, con la recaída o *P* en 3/18 pacientes del grupo A (tabla 2). Se plantea que esta relación entre los fallecidos no se

detecta porque sucede que 22/23 pacientes con *P* estaban en etapas III o IV, y que fallecen 20 de ellos, lo cual reafirma la independencia de los conteos CD3+ y las etapas clínicas y subraya la influencia de éstas sobre la actividad final.²⁻¹¹

Entre los fallecidos la SV promedio fue sólo ligeramente mayor en el grupo B que en el grupo A (7 v 6,23 años) posiblemente porque las recaídas, aunque más frecuentes en el segundo resultaron exitosamente tratadas y no influyeron de forma notable en su duración. La SV promedio de los 24 pacientes aún en RC es de 11,3 años, semejante a la de los sobrevivientes con CD3 normal (11,9 años) que fue la máxima observada en este estudio.

En la etapa I, 1/9 pacientes falleció por sepsis generalizada, los restantes no presentaron recaída y proporcionaron la mejor probabilidad de SV (87 %, tabla 3). A medida que fue más extendida la enfermedad en sus inicios la probabilidad de SV declinó acorde a lo reportado.¹

El comportamiento con relación a la respuesta al tratamiento ha sido semejante al descrito en LNH de alto grado II-IV por *Steward* en 1984. Según la reaparición de la actividad tumoral fue igualmente el esperado, ya que si en la investigación antes señalada la obtención de la RC fue el factor predictor de SV más significativo, en la nuestra la "tasa de curación" fue interpretada más bien dependiente del mantenimiento de esa RC.

Las alteraciones por defecto del fenotipo, excepto las de la subpoblación CD6+, fueron condiciones con tendencia a presentar tasas de probabilidad de SV₁₀ inferiores a la de los grupos con resultados normales. Dichas diferencias decrecen gradualmente según los parámetros CD3, CD8 y CD4, en ese orden de frecuencias.

Estratificados los pacientes según linfocitopenia CD3 o no y a su vez según su *status* vital, se encontró que en el subgrupo de mayor SV promedio (11,9 años) los parámetros más representativos fueron RC producto del tratamiento inicial y conteos de CD3+ normales en todos sus integrantes, no complicaciones letales, recaída en sólo 2/10 pacientes y RC a la UN.

Se concluye que el número de células CD3+ resultó ser un indicador de la calidad de vida a 10 años en los LNH, debido

a que los valores dentro de la normalidad estuvieron relacionados con infrecuentes recaídas tempranas, excepcionales recaídas tardías y ausencia de complicaciones letales, pero los disminuidos a la inversa se vieron asociados a complicaciones de diversa índole, y el conjunto de resultados inmunológicos podría ayudar a seleccionar pacientes con LNH para realizar trasplante de médula ósea como consolidación del tratamiento inicial, pues define grupos de mal pronóstico a pesar que alcanzan la RC.

SUMMARY

The prognostic evaluation of the long-term clinical behaviour of 70 patients with Non-Hodgkin lymphomas treated in the National Institute of Oncology on the basis of pre-treatment immunofluorescence-determined counts of peripheral cells CD3+, CD4+, CD8+ and CD6+, was proposed in this paper. 61.4% of patients showed low CD3+ values (group A) and only 21.4% had normal values (group B). During an average observational period of 8.18 years, adverse clinical events were more frequent in group A whereas favourable events were more frequent in group B. Both associations of behaviour and counts of lymphocytes CD3+ were statistically non-significant. Average survival rate of 10 years achieved in group A was lower than that of group B (6.2 or 7 years), being this difference more obvious in survivors of the series (9.7 or 11.9). The percent value of cells CD3+ constitutes an indicator of long-term life quality in NHL, which might help to select people for bone marrow transplants as a way of consolidating the treatment since it defines bad prognosis groups in spite of their complete remission.

Subject headings: LYMPHOMA, NON-HODGKIN; METHODS; T-LYMPHOCYTES; PROGNOSIS; QUALITY OF LIFE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Solal-Celigny P, Lepage E, Brousse N, et al. Doxorubicin-containing regimen with or without interferon Alfa-2b for advanced Follicular lymphomas. Final analysis of survival and toxicity in the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires 86 trial. *J Clin Oncol* 1998;16:2332-8.
2. Ten Berge RL, Dukers F, Oudejans JJ, et al. Adverse effects of activated cytotoxic T lymphocytes on clinical outcome of nodal anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 1999;93:2688-96.
3. Lindemalm C S-N, Biberfeld P, Björkholm M, et al. Longitudinal studies of blood lymphocyte functions in non-Hodgkin lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983;19:747-55.
4. Grogan TM, Miller TT. New biologic markers in non-Hodgkin's lymphomas. *Haematol Oncol Clin North Am* 1991;5:925-33.
5. Cohen DJ, Lotze MT, Roberts JR. The immunopathology of sequential tumor biopsies in patients treated with interleukin-2: correlation of response with T-cell infiltration and HLA-DR expression. *Am J Pathol* 1987;129:208-11.
6. Lippman SM, Spier CM, Miller TP. Tumor infiltrating T-lymphocytes in B-cell diffuse LCL related to disease course. *Mod Pathol* 1991;3:361-5.
7. Seymour JF, Talpaz M, Cabanillas F, et al. Serum IL-6 levels correlate with prognostic in diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1995;13:575-82.
8. Horst E, Meijer CJLM, Radarzhiewicz T. Adhesion molecules in the prognosis of CLCL. Expression of a lymphocyte homing receptor (CD44), LFA-1 (CD 11^a/18) and ICAM-1 (CD 54). *Leukemia* 1990;4:595-9.

9. Kern WF, Spier CM, Grogan TM. N-CAM positive peripheral T-cell lymphomas: a rare variant with a propensity for unusual sites of involvement (abstract). *Lab Invest* 1991;64:75A.
10. Le Beau MM. Chromosomal abnormalities in non-Hodgkin's lymphomas. *Semin Oncol*, 1990; 17:20-9.
11. Expósito G, García CA, Barroso María del C. Disminución de los linfocitos T CD3+ de sangre periférica en pacientes con linfomas. *Rev Cuba Oncol* 1994;10:40-4.

Recibido: 30 de mayo del 2000. Aprobado: 6 de junio del 2000.

Dra. *Gladys C. Expósito Rodríguez*. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. Calle 29 esquina a E, El Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.