

## Especializaciones

# Impacto pronóstico del recuento absoluto de monocitos y linfocitos sobre la sobrevida en linfomas no Hodgkin-B

**Autores:** Claudia Alejandra Sanchez<sup>1</sup>, Natalia Laura Cavallo<sup>2</sup>, Miriam Salguero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Oncohematología, Clínica Privada Vélez Sarsfield; <sup>2</sup> Servicio de Hematología, Hospital Córdoba. Especialidad de Hematología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

## Resumen

### Introducción

Los Linfomas no Hodgkin B (LNH-B) representan un grupo heterogéneo de entidades con diferente curso clínico, cuyo desarrollo depende de complejas interacciones entre las células neoplásicas y el microambiente del tumor. El recuento absoluto de linfocitos y monocitos ha sido estudiado como posible factor de pronóstico en diferentes tipos de linfoma. En el presente estudio se pretende establecer que dichos factores podrían utilizarse para determinar diferentes grupos de riesgo en pacientes diagnosticados con LNH-B.

### Objetivo

Evaluar el efecto pronóstico del recuento absoluto de linfocitos (RAL), el recuento absoluto de monocitos (RAM) y la relación RAL/RAM al diagnóstico sobre la sobrevida global (SG) y la sobrevida libre de progresión (SLP) en pacientes diagnosticados con LNH-B.

### Resultados

Se estudiaron 32 pacientes con diagnóstico de LNH-B. El tiempo promedio de seguimiento fue de 41,6 meses. La media del RAL, al diagnóstico, fue de 5061 cel/ $\mu$ l y el punto de corte hallado mediante curvas ROC fue de 4368 cel/ $\mu$ l. El valor promedio del RAM fue de 564 cel/ $\mu$ l y el punto de corte fue de 584 cel/ $\mu$ l. La relación RAL/RAM no tuvo un resultado estadísticamente significativo en el análisis univariado, en cambio, RAL y RAM mostraron ser capaces de separar a la población de pacientes en dos grupos significativamente diferentes en cuanto a la SG y SLP.

### Discusión

Se pudo determinar que tanto RAL como RAM podrían ser utilizados como simples herramientas para determinar grupos de pacientes con diferente desarrollo clínico de la enfermedad en pacientes con LNH-B.

## Prognostic impact of absolute monocyte and lymphocyte count on survival in non-Hodgkin-B lymphomas

### Abstract

#### Introduction

Non-Hodgkin's lymphomas B (NHL-B) represent a heterogeneous group of entities with different clinical course, whose development depends on complex interactions between neoplastic cells and the microenvironment of the tumor. The absolute lymphocyte and monocyte count has been studied as a possible prognostic factor in different types of lymphomas. In this study we intend to establish that this factor could be used to determine different risk groups in patients with NHL-B.

#### Study Objective

To evaluate the prognostic effect of the absolute lymphocyte count (ALC), absolute monocyte count (AMC) and the ALC/AMC ratio at the time of diagnosis for the overall survival (OS) and the progression-free survival (PFS) in patients with NHL-B.

#### Results

Thirty-two patients with LNH-B have been studied. The average follow-up time was of 41,6 months. The ALC median, at the time of diagnosis, was of 5061 cells/ $\mu$ l and the cut-point found by the ROC curve analysis was of 4368 cells/ $\mu$ l. The average AMC value was of 564 cells/ $\mu$ l and the cut-point was of 584 cel/ $\mu$ l. The ALC/AMC ratio did not have a statistically significant result in the univariate analysis. However, ALC and AMC were shown to be able to divide the patient population in two significantly different groups in terms of OS and PFS.

#### Discussion

It was determined that both RALs and RAM could be used as simple tools to determine groups of patients with varying clinical development in patients with B-NHL.

## Introducción

Los linfomas no Hodgkin B (LNH-B) representan el mayor porcentaje dentro de las neoplasias linfoproliferativas, conformando un grupo heterogéneo de entidades con diferente histología, alteraciones genéticas y curso clínico.(1-4)

Los subtipos más comunes de LNH-B incluyen el linfoma difuso de células grandes B (LDCGB), el linfoma folicular (LF), el linfoma del manto (LM) y el linfoma de la zona marginal (LBMARG).(1)

El *International Prognostic Index* (IPI) es considerado el sistema de estadificación *gold standard* para la clasificación de LNH. Las características clínicas de este modelo reflejan el crecimiento y el potencial invasivo de los tumores (estadio tumoral, nivel de lactato deshidrogenasa y sitios de enfermedad extraganglionar), la respuesta del paciente al tumor (estado funcional) y la capacidad del paciente para tolerar la terapia agresiva (edad). Aunque el IPI sigue siendo útil como herramienta pronóstica, en la era de la inmunoterapia, tiene una capacidad limitada para predecir aquellos pacientes que presentarán un curso clínico más agresivo, lo que determina la necesidad de identificar otros factores pronósticos útiles al diagnóstico.(5, 6)

Tanto en los LNH como en el linfoma de Hodgkin (LH), los tumores contienen células neoplásicas como también células inmunes infiltrantes no malignas dentro del estroma del microambiente. Las características de las células del linfoma no son las únicas que determinan el curso clínico de la enfermedad, las células inmunes infiltrantes no malignas juegan un papel importante en la determinación de la diversidad biológica y el resultado clínico final.(5)

En diversos estudios se ha evaluado el papel desempeñado por los monocitos y macrófagos presentes en el microambiente tumoral en las neoplasias de células B. Se cree que pueden suprimir la inmunidad antitumoral, promover la angiogénesis e impulsar el crecimiento y la supervivencia de los linfocitos malignos.(1, 7, 8) La presencia de estas células se ha correlacionado con un resultado adverso en pacientes con LNH y LH probablemente debido a esta función inmunosupresora.(5, 9)

Existe un creciente interés en el papel de los monocitos y sus precursores en la patogénesis de los trastornos linfoproliferativos. En este estudio, se registró el recuento absoluto de monocitos y linfocitos en sangre periférica al diagnóstico en pacientes con diferentes LNH-B, tratando de determinar si dichos factores podrían ser utilizados para identificar pacientes con pronóstico adverso.(5, 10)

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes

Se estudiaron 39 pacientes del servicio de Oncohematología de la Clínica Privada Velez Sarsfield, Córdoba, Argentina, desde enero de 2008 hasta septiembre de 2017, diagnosticados con LNH-B. De estos, 7 pacientes fueron excluidos del estudio por no contar con los valores del hemograma al momento del diagnóstico. Por lo tanto, 32 pacientes integraron este estudio retrospectivo, cuyos datos clínicos y de laboratorio se obtuvieron de la base de datos de dicho servicio.

El hemograma automatizado se realizó utilizando sangre entera anticoagulada con EDTA-K3 y analizada en un equipo Cell-dyn 3500 (Abbot) o Sysmex 300 xp (Roche) y el RAL y RAM se obtuvieron por recuento morfológico en extendidos de sangre periférica, sin anticoagulante, coloreados con la técnica de May Grünwald-Giemsa.

## Estadística

La supervivencia global (SG) se estimó desde la fecha del diagnóstico hasta la muerte del paciente, por la enfermedad u otra causa o la fecha del último control.

La supervivencia libre de progresión (SLP) se determinó desde la fecha del diagnóstico hasta la fecha de progresión de la enfermedad, cambio de esquema terapéutico, fecha de último control o muerte por causa de la enfermedad.

El análisis univariado se realizó con el modelo de riesgos proporcionales de Cox. Los puntos de corte óptimo para el RAM, el RAL y la relación RAL/RAM se establecieron mediante curvas ROC. Para el análisis de la SG y SLP se utilizó el método de Kaplan-Meier.

El análisis estadístico se realizó con el programa MedCalc y se consideraron valores estadísticamente significativos aquellos con un  $p$  menor a 0.05.

## RESULTADOS

### Características de los pacientes

Los datos clínicos y de laboratorio de los 32 pacientes que integran este estudio se muestran en la tabla 1 y tabla 2.

Del total de la población estudiada, el 41,9% fueron hombres y el 58,1% mujeres. La edad promedio al diagnóstico fue de 57 años (rango entre 25 y 81 años) y el tiempo promedio de seguimiento fue de 41,6 meses (rango entre 0,8 y 118,5 meses).

Dentro de los diferentes tipos de LNH-B diagnosticados los subtipos más frecuentes fueron el LF (13 pacientes, 40,6%) y el LDCGB (9 pacientes, 28,1%).

La media del RAM al momento del diagnóstico fue de 564 cel/ $\mu$ l (rango 44-2728 cel/ $\mu$ l) y del RAL 5061 cel/ $\mu$ l (rango 288-60698 cel/ $\mu$ l).

Los pacientes fueron tratados con quimioterapia R-CHOP (Rituximab, Ciclofosfamida, clorhidrato de doxorubicina, sulfato de Vincristina, Prednisona), RCVP (Rituximab, Ciclofosfamida, sulfato de Vincristina, Prednisona), ESHAP (Etopósido, Metilprednisolona, dosis alta de Citarabina, Cisplatino) y dos pacientes fueron sometidos a Transplante autólogo de médula ósea.

Al finalizar el estudio 7 pacientes habían fallecido y 11 tuvieron recaída de su enfermedad.

### Valor pronóstico del RAL, RAM y la relación RAL/RAM

Se estudió el valor pronóstico de diferentes variables sobre la SG y SLP en la población de pacientes diagnosticados con LNH-B. Se analizaron la hemoglobina, el recuento absoluto de glóbulos blancos, la lactato deshidrogenasa (LDH), el RAL, el RAM y la relación RAL/RAM. En el análisis univariado se determinó que el RAL y el RAM serían factores de riesgo, estadísticamente significativos, para la recaída ( $p=0.0022$  y  $p=0.0020$ , respectivamente) o muerte del paciente ( $p=0.0045$  y  $p=0.0091$ , respectivamente). En cambio, la hemoglobina, la LDH, el valor absoluto de glóbulos blancos y la relación RAL/RAM no tendrían impacto pronóstico sobre la SLP ( $p=0.4467$ ,  $p=0.9980$ ,  $p=0.2313$ ,  $p=0.1187$ , respectivamente), ni la SG ( $p=0.8121$ ,  $p=0.7956$ ,  $p=0.0677$ ,  $p=0.3027$ , respectivamente).

Para estimar el punto de corte óptimo para RAL y RAM, que pudiera dividir a la población de pacientes en dos grupos con diferente pronóstico se realizaron curvas ROC. El valor de corte hallado para el RAL fue de 4368 cel/ $\mu$ l ( $p=0.1149$ ) con un área bajo la curva de 0.684, una

sensibilidad del 45% y una especificidad del 100% (Figura 1). Para el RAM el valor de corte hallado fue de 584 cel/ $\mu$ l ( $p=0.0094$ ), el área bajo la curva fue de 0.762 con una sensibilidad del 64% y una especificidad del 95% (Figura 2). Aunque el valor de corte hallado para el RAL no fue significativo estadísticamente, se decidió utilizar dicho valor porque se obtuvo un área bajo la curva aceptable.

Al realizar las curvas de sobrevida para las variables RAL y RAM se pudo observar que ambas pudieron separar a nuestra población de pacientes en dos grupos con diferente sobrevida. Con respecto al RAL (Figura 3 y 4), el grupo de peor desarrollo clínico fue el que estaba conformado por los pacientes con valores de linfocitos por encima del valor de corte, tanto para la SG como para la SLP ( $p=0.0004$  y  $p<0.0001$ ). De igual manera, cuando se realizaron las curvas para el RAM (Figura 5 y 6), el grupo de pacientes con valores de monocitos mayores al punto de corte fue el que resultó con peores curvas de SG y SLP ( $p=0.0284$  y  $p=0.0001$ , respectivamente). Se determinó que la SG, a los 40 meses, para un valor de RAM  $> 584$  cel/ $\mu$ l fue del 42%, mientras que para un valor de RAM  $< 584$  cel/ $\mu$ l fue del 75%. Del mismo modo, la SG a los 40 meses para un valor de RAL  $> 4368$  cel/ $\mu$ l fue del 20% y para un valor de RAL  $< 4368$  cel/ $\mu$ l fue del 75%.

## DISCUSIÓN

En los últimos años, diversos trabajos han demostrado que, en los linfomas de células B, el microambiente dentro del tejido linfoide periférico cumple un importante papel en la progresión del tumor. El desarrollo clínico de la enfermedad parece depender, en parte, de las células inmunes no malignas presentes en el microentorno (1, 5).

Se ha demostrado que el equilibrio entre los linfocitos T y los monocitos afecta la vigilancia inmune antitumoral (9) y pueden tener un impacto en la sobrevida en diferentes tipos de linfoma.(9, 11-14)

Recientemente, varios grupos han demostrado que el RAL y RAM pueden usarse para identificar diferentes grupos de riesgo en pacientes con linfoma. (9, 11-13, 15). Los valores de corte en los diversos estudios fueron ligeramente diferentes, pero se obtuvieron conclusiones similares. Un valor elevado de monocitos o bajo de linfocitos, al momento del diagnóstico, llevan a un impacto adverso en la sobrevida.(10)

En el presente estudio se determinó el valor pronóstico del RAL, RAM y relación RAL/RAM sobre la SG y SLP. El análisis univariado indicó que tanto el RAL como el RAM influirían sobre la SG y SLP. Sin embargo, no se obtuvieron los mismos resultados para la relación RAL/RAM, para la cual no se obtuvo un resultado estadísticamente significativo que demostrara su impacto pronóstico sobre la sobrevida en nuestro grupo de pacientes. Dicha relación había sido identificada como un índice pronóstico en otros tipos de linfoma, como LH y LDCG-B. (12, 15) Esta diferencia podría deberse a que el grupo que integró nuestro estudio no es homogéneo, ya que está conformado por pacientes diagnosticados con diferentes tipos de LNH-B.

Al determinar el punto de corte para RAM, éste coincidió con el rango de valores obtenidos en otros trabajos,(9, 10, 12, 13) a diferencia del valor hallado para el RAL que fue considerablemente mayor al utilizado en estudios previos.(11, 12, 16)

Al realizar las curvas de sobrevida el RAM impactó negativamente sobre la SG y SLP en el grupo de pacientes con valores de monocitos superiores a 584 cel/ $\mu$ l. Esto estaría de acuerdo con diversos estudios que demuestran que el aumento de monocitos al diagnóstico identificaría un grupo de pacientes con un riesgo mayor a desarrollar un evento adverso durante su enfermedad, ya sea recaída o muerte.(9, 10, 12)

En cuanto al RAL, también tendría un impacto negativo sobre la SG y SLP cuando los valores de linfocitos de los pacientes superaban los 4000 linfocitos/ $\mu\text{l}$ . Esto es discrepante con los resultados de algunos trabajos anteriores que demuestran como favorable un número elevado de linfocitos. (11, 12, 16) Esto puede deberse a que en varios pacientes el valor hallado de linfocitos en sangre periférica puede estar integrado por células normales y patológicas (expresión periférica de la patología), que en la mayoría de los casos, no pueden identificarse por morfología convencional. Estas células malignas aumentarían de manera categórica el número de RAL y esto explicaría que el grupo de pacientes con valores elevados de RAL presente una menor SG.

A futuro se podría plantear aumentar el número de pacientes estudiados para poder clasificarlos según el subtipo de linfoma diagnosticado y así poder estudiar poblaciones más homogéneas con respecto a su clínica y evolución de la enfermedad.

Podemos concluir en que es necesario el hallazgo de nuevos indicadores de pronóstico simples y de fácil realización en el laboratorio clínico con el fin de discriminar pacientes de alto riesgo, ya que los tratamientos que incluyen quimioterapia de altas dosis y/o trasplante autólogo de médula ósea solo se pueden aplicar en pacientes jóvenes y con buen estado general. Por esto, es importante la identificación de pacientes con diferentes cursos clínicos que puedan recibir tratamientos personalizados de acuerdo al pronóstico esperado para cada uno de ellos.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece por la ayuda recibida a Cesar Collino, en cuanto a la interpretación estadística y Diego N Pamio, por su aporte en la presentación escrita del estudio.

## Bibliografía

1. Coupland SE. The challenge of the microenvironment in B-cell lymphomas. *Histopathology*. 2011;58(1):69-80.
2. Glass S, Phan A, Williams JN, Flowers CR, Koff JL. Integrating understanding of epidemiology and genomics in B-cell non-Hodgkin lymphoma as a pathway to novel management strategies. *Discov Med*. 2016;21(115):181-8.
3. Mugnaini EN, Ghosh N. Lymphoma. *Prim Care*. 2016;43(4):661-75.
4. Li M, Dave N, Salem AH, Freise KJ. Model-based meta-analysis of progression-free survival in non-Hodgkin lymphoma patients. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(35):e7988.
5. Tadmor T, Fell R, Polliack A, Attias D. Absolute monocytosis at diagnosis correlates with survival in diffuse large B-cell lymphoma-possible link with monocytic myeloid-derived suppressor cells. *Hematol Oncol*. 2013;31(2):65-71.
6. Chen Y, Neelapu S, Feng L, Bi W, Yang TH, Wang M, et al. Prognostic significance of baseline peripheral absolute neutrophil, monocyte and serum beta2-microglobulin level in patients with diffuse large b-cell lymphoma: a new prognostic model. *Br J Haematol*. 2016; 175 (2):290-9.
7. Dirx AE, Oude Egbrink MG, Wagstaff J, Griffioen AW. Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis. *J Leukoc Biol*. 2006;80 (6):1183-96.
8. Mueller CG, Boix C, Kwan WH, Dausy C, Fournier E, Fridman WH, et al. Critical role of monocytes to support normal B cell and diffuse large B cell lymphoma survival and proliferation. *J Leukoc Biol*. 2007; 82 (3):567-75.
9. von Hohenstaufen KA, Conconi A, de Campos CP, Franceschetti S, Bertoni F, Margiotta Casaluci G, et al. Prognostic impact of monocyte count at presentation in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2013;162 (4):465-73.
10. Tadmor T, Bari A, Sacchi S, Marcheselli L, Liardo EV, Avivi I, et al. Monocyte count at diagnosis is a prognostic parameter in diffuse large B-cell lymphoma: results from a large multicenter study involving 1191 patients in the pre- and post-rituximab era. *Haematologica*. 2014;99(1):125-30.
11. Oki Y, Yamamoto K, Kato H, Kuwatsuka Y, Taji H, Kagami Y, et al. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic marker in patients with diffuse large B-cell lymphoma and suggests patients' survival benefit from rituximab. *Eur J Haematol*. 2008;81(6):448-53.
12. Wilcox RA, Ristow K, Habermann TM, Inwards DJ, Micallef IN, Johnston PB, et al. The absolute monocyte and lymphocyte prognostic score predicts survival and identifies high-risk patients in diffuse large-B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2011;25(9):1502-9.
13. Wilcox RA, Ristow K, Habermann TM, Inwards DJ, Micallef IN, Johnston PB, et al. The absolute monocyte count is associated with overall survival in patients newly diagnosed with follicular lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(4):575-80.
14. Bari A, Tadmor T, Sacchi S, Marcheselli L, Liardo EV, Pozzi S, et al. Monocytosis has adverse prognostic significance and impacts survival in patients with T-cell lymphomas. *Leuk Res*. 2013;37 (6):619-23.
15. Porrata LF, Ristow K, Colgan JP, Habermann TM, Witzig TE, Inwards DJ, et al. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio at diagnosis and survival in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2012; 97 (2):262-9.

16. Siddiqui M, Ristow K, Markovic SN, Witzig TE, Habermann TM, Colgan JP, et al. Absolute lymphocyte count predicts overall survival in follicular lymphomas. Br J Haematol. 2006; 134(6):596-601.

Tabla 1 Características de los pacientes (n=32)

Característica	No.	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	13	41.9%
Femenino	18	58.1%
<b>Tipo de Linfoma</b>		
LF	13	40.6%
LDCG-B	9	28.1%
LBMARG	3	9.4%
LM	2	6.3%
LDCG-B ANAPLÁSICO	2	6.3%
LNODAL	1	3.1%
LNH-B S/E	1	3.1%
LBESPLÉNICO	1	3.1%

LF: Linfoma Folicular; LDCG-B: Linfoma Difuso de Células Grandes B; LBMARG: Linfoma B de zona Marginal; LM: Linfoma del Manto; LDCG-B ANAPLÁSICO: Linfoma Difuso de Células Grandes B Anaplásico; LNODAL: Linfoma B Nodal; LNH-B S/E: Linfoma no Hodgkin B sin especificación; LBESPLÉNICO: Linfoma B esplénico.

Tabla 2 Datos clínicos y de laboratorio

Característica	Rango	Promedio
Edad al Diagnóstico (años)	25-81	57
Tiempo de seguimiento (meses)	0.8-118.5	41.6
Hemoglobina (g/dl)	7.1-16.4	10.77
Leucocitos (cel/μl)	1600-68200	10728
Monocitos (cel/μl)	44-2728	564
Linfocitos (cel/μl)	288-60698	5061

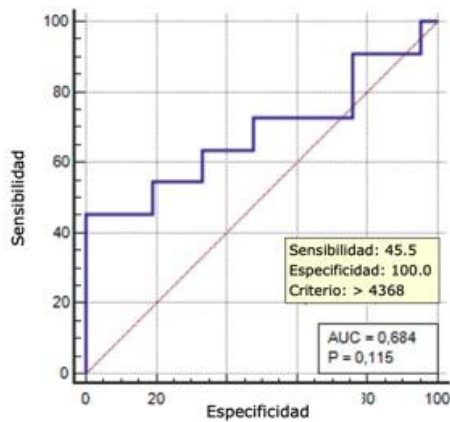


Figura 1 Curva ROC: estimación del punto de corte del RAL para SLP. AUC: área bajo la curva.

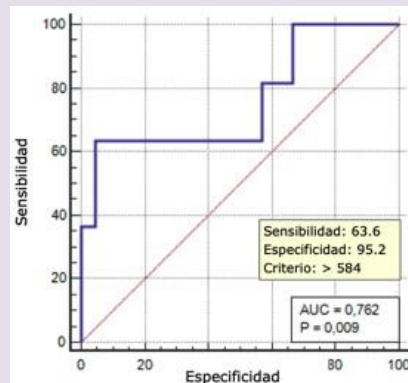
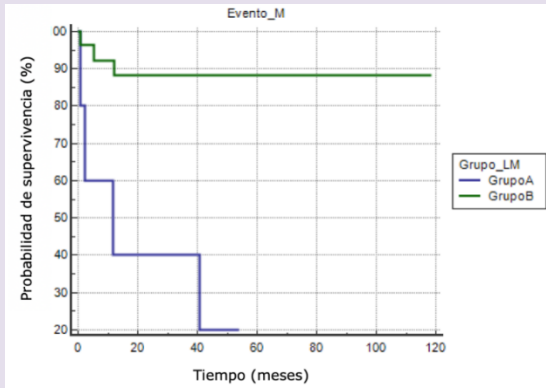
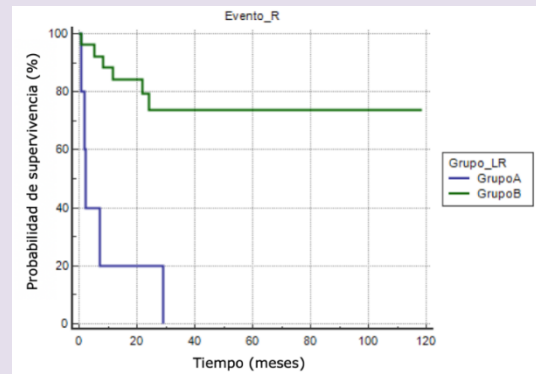


Figura 2 Curva ROC: estimación del punto de corte del RAM para SLP. AUC: área bajo la curva.

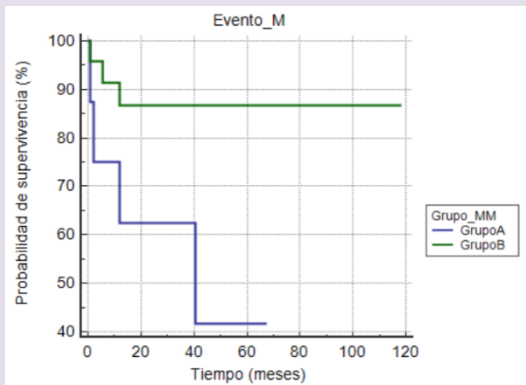




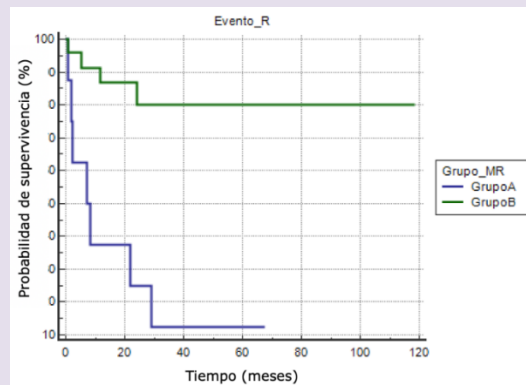
**Figura 3** Kaplan-Meier estimación de la SG para el RAL. Grupo A: RAL > 4368 cel/ $\mu$ l; Grupo B: RAL < 4368 cel/ $\mu$ l.



**Figura 4** Kaplan-Meier estimación de la SLP para el RAL. Grupo A: RAL > 4368 cel/ $\mu$ l; Grupo B: RAL < 4368 cel/ $\mu$ l.



**Figura 5** Kaplan-Meier estimación de la SG para el RAM. Grupo A: RAM > 584 cel/ $\mu$ l; Grupo B: RAM < 584 cel/ $\mu$ l.



**Figura 6** Kaplan-Meier estimación de la SLP para el RAM. Grupo A: RAM > 584 cel/ $\mu$ l; Grupo B: RAM < 584 cel/ $\mu$ l.