Valor pronóstico de los niveles séricos del Receptor d soluble de Interleuquina-2 en pacientes con Linfoma No Hodgkin

Claudia Galicia, Priva Zabner de Oziel, Rosa Somoza, Valentina Wallis, Jean Desenne, Ana Monzón de Orozco, Marina Gonzalez, Antonieta Natale, Gretta Acquatella, Marisela Morales, Yasmin Ordoñez, Maria Alejandra Torres, Aixa Müller

RESUMEN

El receptor d soluble de la interleuquina 2 (sRdIL-2) ha sido considerado un marcador pronóstico en pacientes con linfoma No Hodgkin (LNH). El objetivo del trabajo consistió en determinar la significancia de los niveles del sRdIL-2 en pacientes con LNH, su correlación con factores clínico patológicos, biológicos y su valor pronóstico. Se procesaron muestras de suero de 43 nuevos casos de pacientes con LNH, pretratamiento, edades comprendidas entre 25-84 años, mediana 55 años, 33 (77%) LNH agresivos y 10 (23%) LNH indolentes. Según el Índice Pronóstico Internacional (IPI), 37 (86%) de bajo riesgo y 6 (14%) de alto riesgo, siendo el tiempo promedio de seguimiento de la enfermedad 30 meses (rango 3-48 meses). Se recolectaron 20 muestras de suero de controles sanos, donantes de banco de sangre, para determinar el valor de referencia. Las muestras de pacientes y controles se congelaron a -70ºC hasta su procesamiento. El sRdIL-2 se determinó por un inmunoensayo enzimático adsorbente (ELISA), sensibilidad 10 pg/ml y se consideraron elevados los niveles >2000 pg/ml. Los marcadores biológicos: Beta 2 microglobulina (B2M), Proteína C Reactiva (PCR), Velocidad de sedimentación globular (VSG), Albúmina sérica, Lactato deshidrogenasa (LDH), Aspartato amino transferasa (AST), Alanino amino transferasa (ALT) y Fosfatasa alcalina (ALP), se determinaron por métodos de inmunoensayo enzimático sobre micropartículas (MEIA), aglutinación directa, Wintrobe, colorimétrico y cinético, respectivamente. Los niveles séricos del sRdIL-2 en pacientes con LNH fueron significativamente superiores al del grupo control ($p < 0,001$) y 26 (60%) de los pacientes expresaron niveles elevados del sRdIL-2 ($p < 0,001$). Se detectaron niveles del sRdIL-2 significativamente incrementados asociados a pacientes con estadio clínico (EC) III-IV ($p = 0,02$), síntomas B ($p = 0,04$), valores elevados de B2M ($p = 0,01$) y PCR ($p = 0,05$). Los niveles del sRdIL-2 correlacionaron de forma significativa y directa con EC, síntomas B, B2M y PCR, ($p=0,05$). En el análisis univariado, la sobrevida global (SG) (4 años, 18%) de los pacientes con LNH agresivos con niveles elevados del sRdIL-2 fue significativamente inferior a la SG (59%) de los pacientes con niveles ≥2000 pg/ml ($p = 0,048$). La determinación del sRdIL-2, pretratamiento, en pacientes con LNH, podría aportar información sobre la progresión, actividad y pronóstico de la enfermedad, siendo importante para la selección de la estrategia terapéutica.

Palabras clave: Receptor d soluble de Interleuquina-2, Linfoma No Hodgkin, factor pronóstico.

Prognostic value of serum soluble Interleukin-2 d receptor levels in Non Hodgkin´s lymphoma patients

SUMMARY

Soluble Interleukin–2 d receptor (sIL-2dR) has been considered as a prognostic marker in Non-Hodgkin's lymphoma (NHL) patients. The aim of this study was to assess the significance of sIL-2dR levels in the pre-treatment serum of NHL patients, as well as its correlation with the clinical-pathological and biological factors and its prognostic value. Forthy-three serum samples from newly diagnosed NHL patients were processed before starting the treatment. The median age was 55 years old (range 25-84 years), 33 cases (77%) were classified as aggressive lymphomas and 10 cases (23%) as indolent lymphomas. According to the International Prognostic Index (IPI), 37 cases (87%) were classified as high risk group and 6 cases (14%) as low risk group. The average time of follow–ups was 30 months (range 3-48 months). 20 healthy control samples from blood bank donors were collected for establishing the reference value. All patients and control samples were kept at -70ºC until processed. The sIL-2dR levels were determined by applying an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), sensitivity 10 pg/ml. Values were considered elevated when they exceeded 2000 pg/ml. The biological markers: Beta 2 microglobulin (B2M), C-Reactive Protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), serum albumin, serum lactate dehydrogenase (LDH), aspartate amino transaminase (AST), alanine amino transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), were determined by the methods of microparticle enzyme immunoassay (MEIA), direct agglutination, Wintrobe, colorimetric and kinetic respectively. The sIL-2dR serum levels in the NHL patients were significantly higher than the control group ($p < 0.001$) and 26 (60%) of the patients expressed values higher than 2000 pg/ml ($p<0.001$). Significantly elevated serum levels of sIL-2dR were associated with clinical stage (CS) III-IV ($p = 0.02$), B symptoms ($p = 0.04$), elevated levels of B2M ($p=0.01$) and CRP ($p=0.05$). There was a significant and direct correlation between the sIL-2dR concentrations with CS, B symptoms, B2M and CRP ($p=0.05$). According to the univariated analysis, the overall survival of aggressive NHL patients with high sIL-2dR levels was significantly lower (4 years,18%) than those with sIL-2dR ≤ 2000 pg/ml ($p = 0.048$). Knowledge of the serum levels of sIL-2dR in pretreatment NHL patients may help us to have information about the possible prognosis, progression and activation of disease and may be important for determination of treatment strategy.

Key words: Soluble interlukin-2 d receptor, Non Hodgkin´s Lymphoma, prognostic factor.

Dirección: Instituto de Oncología y Hematología, Ministerio del Poder Popular para la Salud, Universidad Central de Venezuela: Unidad de Linfoma, Laboratorio de Inmunología, Laboratorio General.

Introducción

Los Linfomas No-Hodgkin (LNH) comprenden un variado espectro de desórdenes linfoproliferativos con diferentes comportamientos clínicos y características biológicas (1-4).

Recientemente se ha avanzado en la investigación de los aspectos biológicos de esta malignidad, asociados al estudio de las citoquinas, sus receptores solubles y su relación con la patogénesis (5). En tal sentido una serie de estudios han sugerido la significancia del receptor alfa soluble de la Interlequina-2 (sRdIL-2) como marcador pronóstico en LNH (6).

El receptor alfa de la IL-2 es producido por linfocitos T y B activados y está compuesto por tres glicoproteinas (d, e, g) (7). La cadena d de peso molecular 55 KD referida como antígeno Tac (CD25) funciona como un receptor de baja afinidad, compuesto por 351 aminoácidos de los cuales 13 se localizan intracitoplasmáticamente.

El sRdIL-2 corresponde a una porción truncada de la cadena alfa del antígeno Tac (CD25), el cual es menor que su contraparte celular (45KD vs 55KD), pero es capaz de unirse a la IL-2 eficientemente. La cadena e es una glicoproteina de 575 aminoácidos de peso molecular de 75 KD y las cadenas e y g son receptores de moderada afinidad (8). El sRdIL-2 no se expresa en células en reposo, la activación de las células T por antígeno o mitógeno induce su expresión en la superficie de los linfocitos T y es liberado por efecto de una proteasa (9).

La interleuquina 2 (IL-2) fue descrita en el sobrenadante de cultivos de células activadas y está involucrada en la inmunoregulación, promoviendo la proliferación de los linfocitos T. La IL- 2 se combina específicamente con su receptor sobre la superficie de los linfocitos T e induce la respuesta celular (8,9).

Debido a que el sRdIL-2 es producido por linfocitos activados, su nivel sérico es índice de activación linfocitaria y en consecuencia se han detectado niveles incrementados en pacientes con malignidades hematológicas como leucemias y linfomas (10-15).

La identificación de pacientes con LNH, con diferentes posibilidades de respuesta al tratamiento, es crítico para el desarrollo de las terapias según el índice de riesgo de la enfermedad. En tal sentido, el Índice Pronostico Internacional (IPI) ha sido el modelo predictivo utilizado para la categorización de los pacientes con LNH en grupos de riesgo. El IPI incorpora cinco factores pronósticos: la edad, el estado funcional del paciente, el estadio clínico, la actividad de la Lactato deshidrogenasa (LDH) y el número de lesiones extranodales (16).Inicialmente fue aplicado a los LNH agresivos y posteriormente fue validado para todos los grados de malignidad (17). No obstante, la precisión de dicho modelo predictivo pudiera complementarse con la combinación de marcadores biológicos adicionales asociados al tumor, de allí la importancia de determinar los niveles del sRdIL-2 y evaluar su utilidad como marcador tumoral en LNH.

Materiales

Pacientes: Se evaluaron 43 pacientes con diagnóstico de Linfoma No-Hodgkin (LNH) confirmados clínica e histopatológicamente, los cuales acudieron a la consulta de Linfoma del Instituto de Oncología y Hematología U.C.V.-Ministerio de Salud., durante el periodo 1999 - 2004, siendo el tiempo promedio de seguimiento de la enfermedad de 30 meses (rango 3-48 meses). Se incluyeron pacientes que no recibieron tratamiento previo de la enfermedad, con serología negativa para VIH, excluyéndose los pacientes con LNH previamente tratados o con enfermedades asociadas tipo diábetes, insuficiencia renal u otras, y aquellos con serología positiva para VIH.

Los pacientes se clasificaron histopatológicamente según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (18). Para la estadificación clínica se aplicó el sistema de clasificación de ANN ARBOR: siendo los estadios I-II (enfermedad localizada) y estadios III-IV (enfermedad avanzada). El estado funcional de los pacientes se determinó aplicando la escala de Karnosfky (19)**.** De acuerdo al IPI se clasificaron los grupos de riesgo: bajo riesgo (bajo riesgo e intermedio bajo) y alto riesgo (riesgo intermedio alto y alto riesgo). En la práctica clínica con fines pronósticos los LNH se subdividieron en las categorías de linfomas indolentes y agresivos (3).

Grupo control: Se incluyeron 20 individuos aparentemente sanos, donantes de Banco de Sangre, para establecer los valores de referencia (VR) de los niveles séricos del sRdIL-2.

Evolución clínica: Los pacientes se trataron con esquemas de primera línea establecidos internacionalmente para los Linfomas No Hodgkin (1).

Para la evaluación clínica se aplicaron los siguientes criterios:

Remisión completa (RC): se define como la desaparición de todas las manifestaciones clínicas y signos de la enfermedad, con normalización de las alteraciones radiológicas y de los datos bioquímicos que fueran anormales antes de iniciar la quimioterapia. Una vez finalizado el tratamiento, la respuesta se mantendrá, al menos tres meses. En caso de infiltración de la medula ósea, la desaparición de la enfermedad morfológica/

histológica, deberá ir unida a normalización de las cifras hematológicas periféricas (>12 g/dl de Hb, >100.000 plaquetas/mm3 y >1.500 granulocitos/mm3).

Remisión parcial (RP>50): Se define como la reducción del 50% o más de la enfermedad medible durante al menos un mes. Debe haber ausencias de citopenias periféricas.

Progresión: Aumento en la frecuencia o en la severidad de los síntomas, o aparición de nuevas áreas afectadas, o progresión de más de un 25% en las localizaciones tumorales iniciales.

Sobrevida global (SG): Es el tiempo transcurrido desde que se hace el diagnóstico y se inicia o no un tratamiento, hasta la muerte ocasionada por la enfermedad inicial que se está evaluando o hasta la fecha del último control.

Sobrevida libre de enfermedad (SLE): Es el tiempo transcurrido entre la fecha RC y la nueva aparición de síntomas y signos de enfermedad (recaída).

Métodos

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa, una sola toma de muestra antes de la administración del tratamiento. Para la muestra de sangre total se utilizaron tubos con anticoagulante EDTA y para la obtención del suero tubos estériles sin anticoagulante, los cuales se centrifugaron a 2500 rpm, por 10 min. y se almacenaron a -70°C hasta su procesamiento. Las muestras de suero de pacientes y controles se procesaron bajo las mismas condiciones.

LDH, AST, ALT Y FALC: Las enzimas se analizaron por métodos cinéticos UV, utilizando un autoanalizador de química sanguínea (Hitachi modelo 704 Roche): ALT (VR: $\leq$38 u/l, Roche catálogo N° 851121); AST (VR: $\leq$41 u/l, Roche catálogo N° 851132); FALC (VR: $\leq$290 u/l, Roche catálogo N° 816388).

LDH (VR: 80-285 u/l, Invelab catálogo N° 89289). La actividad de la LDH se consideró elevada para valores >570 U/L, correspondiendo al 100% del valor superior del rango de referencia, según lo establecido por el IPI, en pacientes con LNH (16).

PCR: se aplicó método de aglutinación directa semicuantitativo (Wiener Lab. catálogo N° 006531). VR: $\leq$6 mg/dl.

B2M: Se determinó mediante el método de inmunoensayo enzimático sobre micropartículas (MEIA), sistema IMX. (Abbot, cat N° 69-2197/R11). VR: $\leq$3,4 mg/dl.

Determinación de indicadores hematológicos: Hemoglobina, Hematocrito, Recuento celular, Formula leucocitaria, y Velocidad de Sedimentación globular (VSG) por el método Wintrobe 1 hora, VR: 0-15 mmh.

Receptor alfa soluble de la Interleuquina 2 (sRdIL-2): Los niveles séricos del sRdIL-2 se determinaron en las muestras de pacientes y controles sanos aplicando un inmunoensayo enzimático adsorbente (ELISA), modalidad sándwich, (Quantikine Human IL-2sRá catálogo Nº DR2A00). Se empleó un anticuerpo monoclonal de captura específico para el sRdIL-2, adherido a la placa de ELISA. Las muestras, estándares y el conjugado, se incubaron en cada pozo formándose un complejo: anticuerpo de captura – antígeno - conjugado (anticuerpo policlonal anti sRdIL-2- enzima). Posterior a los lavados para remover los reactivos y muestras no ligadas, se añadió el sustrato, produciéndose el desarrollo de color, cuya intensidad es proporcional a la concentración del sRdIL-2 combinado. El desarrollo del color se detuvo con el reactivo de parada y la intensidad del color se detectó en un densitómetro a la longitud de onda de 450nm, siendo el nivel de sensibilidad del ensayo de 10 pg/ml.

Análisis estadístico

Se aplicaron las pruebas estadísticas no parámetricas: Test U-Mann-Whitney para determinar las diferencias en el comportamiento del marcador entre los grupos, expresados por la mediana y el coeficiente de correlación de Spearman rank-sum para determinar la correlación entre los factores pronósticos. Se aplicó la prueba exacta de Fisher para el análisis de las frecuencias y para las curvas de sobrevida el método de Kaplan–Meier y la prueba de Log-rank para el análisis univariado. La significancia estadística se estableció en p=0,05

Resultados

Características clínico-patológicas y biológicas de los pacientes con LNH: En la Tabla 1 se muestran las características clínico- patológicas de los pacientes evaluados. De acuerdo a los factores de mal pronóstico, 33% de los pacientes presentaron edades mayores de 60 años, 58% de sexo femenino, 60% con estadio clínico III-IV (enfermedad avanzada), 7% estado funcional alterado, 63% con afectación extraganglionar >1 región, 47% presentaron síntomas B, 70% enfermedad voluminosa mayor de 10 cm, y el 19% y 63% con compromiso de médula ósea y abdominal respectivamente. Según la histología del tumor, el 56% correspondió al subtipo histológico Linfoma difuso de células grandes tipo B, 9% al subtipo Linfoma folicular y el 12 % al Linfoma linfocítico pequeño. En relación a las categorías pronósticas, el 77% correspondió a LNH agresivos y el 23% a LNH indolentes. Con respecto al IPI, el 86% se categorizó de bajo riesgo y el 14% de alto riesgo.

Tabla 1. Características clínico-patológicas de los pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Características		αRIL-2	
		N (43)	%
Edad (mediana 55, rango 25-84 años)	≤ 60 años > 60 años	29 14	67 33
Sexo	Masculino Femenino	18 25	42 58
Clasificación Histológica	Difuso de células grandes Células del manto Parecido Burkitt Células grandes anaplásicas T Células T periféricas Inmunoblástico Folicular Linfocitico pequeño Tipo malcoma Micosis fungoide	24 02 01 02 01 01 04 05 02 01	56 05 02 05 02 02 09 12 05 02
Categorías pronósticas	Agresivos Indolentes	33 10	77 23
Estadio Clinico	I-II III-IV	17 26	40 60
Estado funcional Karnosfky	< 70% ≥ 70%	03 40	07 93
Enfermedad extraganglionar	≤ 1 > 1	16 27	37 63
Síntomas B	No Si	23 20	53 47
Enfermedad voluminosa	≤10 cm > 10 cm	13 30	30 70
Compromiso de médula osea	No Si	35 08	81 19
Enfermedad abdominal	No SI	16 27	35 63
IPI	Bajo riesgo Alto riesgo	37 06	86 14

IPI: Indice Pronóstico Internacional
Bajo riesgo (bajo e intermedio bajo)
Alto riesgo (intermedio alto y muy alto riesgo)

En relación a la frecuencia de los marcadores biológicos alterados, en base al valor límite de referencia (cut-off), el 12%, 28%, 7%, 9%, 23%, 49%, 93% y el 61% de los pacientes presentaron respectivamente niveles elevados de LDH, B2M, AST, ALT, FALC, PCR , VSG e IL-6 y el 79% niveles bajos de Albúmina sérica.

Niveles séricos del sRdIL-2 en pacientes con LNH: Los pacientes con LNH presentaron valores séricos del sRdIL-2 significativamente superiores a los del grupo control , p< 0,001 (Tabla 2).

Tabla 2. Niveles séricos del sRdIL-2 en pacientes con Linfoma No Hodgkin y controles sanos.

Parámetros	sRαIL-2 (pg/ml)	
	Controles	Pacientes
Mediana Rango	560 320-2000	3200 3200-40000
*p	<0,001	

sRdIL-2: Receptor alfa soluble de Interleuquina -2
*p significativa = 0,05. Prueba U-Mann-Whitney.

Tomando en cuenta el valor de referencia obtenido en el grupo control, de los 43 pacientes evaluados, 26 (60%) presentaron niveles significativamente elevados del sRdIL-2 (>2000 pg/ml) comparados con 17(40%) de los pacientes con valores del sRdIL-2 ≤ 2000 pg/ml, p< 0,001 (Tabla 3).

Tabla 3. Niveles séricos del sRdIL-2 en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Niveles séricos sRαIL-2	≤ 2000 pg/ml	> 2000 pg/ml	*p
N° pacientes =43	17(40%)	26(60%)	
Mediana	780	5200	0,001
Rango	320-2000	2280-40000	

sRdIL-2: Receptor alfa soluble de Interleuquina -2
*p significativa = 0,05. Prueba U-Mann-Whitney.

Asociación de los niveles séricos de sRáIL-2 con las características clínico-patológicas y biológicas de los pacientes con LNH: En la Tabla 4, observamos que los pacientes con estadio clínico III-IV cursaron con valores del sRdIL-2 significativamente superiores comparados con el grupo de pacientes con estadio clínico I-II , p = 0,02. Los niveles del sRdIL-2 fueron significativamente elevados en el grupo de pacientes que presentaron los síntomas B (fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso), respecto al grupo con ausencia de los síntomas, p= 0,04. No se obtuvieron diferencias significativas relacionadas con la edad, el estado funcional, la enfermedad extraganglionar, la enfermedad voluminosa, el compromiso de médula ósea, la enfermedad abdominal y el IPI.

En cuanto a los marcadores biológicos (Tabla 5), los niveles del sRdIL-2 en el grupo de pacientes con concentraciones elevadas de B2M, fueron significativamente superiores comparados con los niveles del receptor en el grupo de pacientes con valores normales de B2M, p=0,01. También se observaron valores del sRdIL-2 significativamente aumentados, asociados al grupo de pacientes con niveles elevados de PCR respecto al grupo de pacientes con valores normales de PCR, p= 0,05.

No se obtuvieron resultados significativos asociados a los valores de LDH, AST, ALT, FALC, Albúmina, VSG e IL-6.

Tabla 4. Asociación de los niveles séricos del sRáIL-2 con las características clínico-patológicas en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Características		N	sRαIL-2 (M) pg/ml	Rango	P*
Edad	≤60 años >60años	29 14	3200 4440	400 – 12400 320 - 40000	0,57
Estadio Clínico	I-II III-IV	17 26	1520 3150	320 – 40000 400-40000	0,02
Estado Funcional Karnofsky	< 70 % ≥ 70%	3 40	3200 3500	500-3200 320-40000	0,48
Enfermedad Extraganglionar	≤1 >1	16 27	1580 3200	320-15600 320 – 40000	0,26
Enfermedad voluminosa	≤10 cm >10 cm	13 30	2280 5000	380 – 7200 320 – 40000	0,14
IPI	Bajo riesgo Alto riesgo	37 06	3000 7600	320-40000 1620-12400	0,16
Síntomas B	No Si	23 20	1320 4800	320 - 40000 320 – 40000	0,04
Enfermedad Abdominal	No Si	15 26	3200 4000	320-40000 400-40000	0,92
Compromiso de médula ósea	No Si	35 8	4000 1980	320-40000 480 –5200	0,13

sRdIL-2: Receptor alfa soluble de Interleuquina -2
IPI: Indice pronostico Internacional
M: mediana
*p significativa = 0,05. Prueba U-Mann-Whitney

Correlación de los niveles séricos de sRdIL-2 con las características clínico- patológicas y marcadores biológicos en los pacientes con LNH: Los niveles del sRdIL-2 correlacionaron de forma directa y significativa con el estadio clínico de los pacientes (r=0,33 p=0,047) y la presencia de síntomas B (r=0,42 p=0,05). No se determinaron correlaciones significativas para el resto de las condiciones clínicas evaluadas (Tabla 6).

El análisis de correlación con los marcadores biológicos mostró que los niveles del sRdIL-2 correlacionaron siginificativamente con los valores de B2M (r= 0,42 p=0,05) y PCR en forma directa (r=0,30 p= 0,05), no habiéndose detectado correlaciones significativas con el resto de los marcadores biológicos (Tabla 7).

Tabla 5. Asociación de los niveles séricos del sRdIL-2 con los marcadores biológicos en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Variables		N	sRαIL-2 (M) pg/ml	Rango	P*
LDH**	≤570 UI/L >570UI/L	38 5	4400 1160	320 – 40000 500 – 3200	0,24
B2M	≤3.4 mg/l >3.4 mg/l	31 12	920 3200	320-8000 380-40000	0,01
AST	≤38 U/L >38 U/L	40 3	3600 1040	320- 40000 680-1160	0,15
ALT	≤41 U/L >41 U/L	40 3	3000 5200	320-40000 4800-10000	0,26
FALC	≤290 U/L >290 U/L	33 10	3000 4200	320 – 40000 680 – 40000	0,21
Albúmina sérica	≤ 3,4 > 3,4	09 34	4100 3200	320 – 12000 380- 40000	0,82
VSG	≤ 15 >15 VD	3 21 09	4000 4800	2000-12400 320 – 40000	0,60
IL- 6	≤ 1,99 pg/ml > 1,99 pg/ml VD	15 23 05	4800 3000	380-40000 320 - 40000	0,42
PCR	≤6 mg/dl >6 mg/dl	22 21	2140 5200	320 – 40000 640-40000	0,05

sRdIL-2: Receptor alfa soluble de Interleuquina -2
PCR: Proteína C Reactiva FALC: Fosfatasa alcalina
B2M: Beta 2 microglobulina ALT: Alanina amino transferasa
AST: Aspartato amino transaminasa VD: Valor des conocido
VSG: Velocidad de sedimentación globular
LDH**: Lactato deshidrogenasa (100% del límite superior del valor de referencia)
Il-6: Interleukina -6
*p significativa = 0,05. Prueba U-Mann-Whitney

Tabla 6. Correlación de los niveles séricos del sRdIL-2 con las características clínico-patológicas en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Características	r	*p
Edad	0.16	NS
Estadio clínico	0.32	0.047
Estado funcional Karnofsky	0.162	NS
Enfermedad extraganglionar	0.23	NS
Enfermedad voluminosa	0.20	NS
IPI	0.02	NS
Síntomas B	0.42	0.05
Compromiso de médula ósea	0.003	NS

sRdIL-2: Receptor alfa soluble de Interleuquina -2
IPI: Indice. Pronóstico Internacional
*p significativa = 0,05 Coeficiente correlación Spearman.
NS: no significativo

Tabla 7. Correlación de los niveles del sRdIL-2 con los marcadores biológicos en pacientes con Linfoma No Hodgkin.

Variables	r	p*
LDH	0,15	NS
B2M	0,42	0,05
AST	0,08	NS
ALT	0,08	NS
FALC	0,32	NS
Albúmina	-0,20	NS
IL-6	0,14	NS
PCR	0,30	0,05

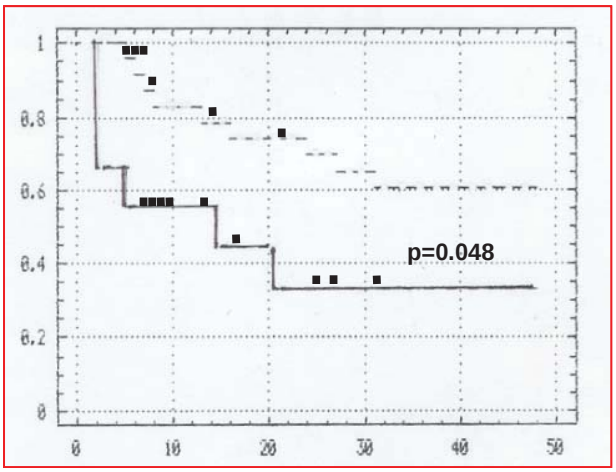
sRdIL-2: Receptor alfa soluble de Interleuquina -2
PCR: Proteína C Reactiva FALC: Fosfatasa alcalina
B2M: Beta 2 microglobulina AST: Aspartato amino transferasa
LDH: Lactato deshidrogenasa ALT: Alanina amino transferasa
Il-6: Interleukina -6
NS: no significativo
*p significativa = 0,05 Coeficiente correlación Spearman.

Niveles séricos de sRdIL-2 pretratamiento y evolución clínica: De acuerdo a la evolución clínica, el 16% de los pacientes entraron en remisión completa, 19% respondieron parcialmente, 8% progresaron y 22% fallecieron. Se detectaron niveles elevados del sRdIL-2 (>2000 pg/ml) en el 38% de los pacientes con respuesta completa, 58% de los pacientes con respuesta parcial, 50% de los pacientes que progresaron y en el 68% de los fallecidos, pero estos resultados no fueron estadísticamente significativos.

Niveles séricos de sRdIL-2 y sobrevida: El análisis unívariado de la sobrevida global de acuerdo a los niveles séricos del sRdIL-2 en los pacientes con LNH agresivos, indicó que para el tiempo de seguimiento de 4 años, los pacientes con valores elevados del sRdIL-2 (>2000 pg/ml) presentaron una probabilidad de sobrevida (18%) significativamente inferior comparada con la probabilidad de sobrevida global (59%) del grupo de pacientes con valores normales del sRdIL-2, p = 0,048 (Figura 1).

El tamaño de la muestra y la distribución de los datos (vivos y fallecidos), fueron limitantes para el análisis de la sobrevida en el grupo de los linfomas indolentes, igualmente para las curvas de la sobrevida libre de enfermedad en ambos grupos pronósticos (datos no mostrados).

Figura 1. Curva de la sobrevida global de acuerdo a los niveles del sRdIL-2 en pacientes con LNH agresivos. Método Kaplan Meier.



RdIL-2: Receptor á soluble Interleuquina-2
n: número pacientes,
Eventos: fallecidos Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses
*p significativa = 0.05 Análisis univariado Prueba Log Rank

Discusión

La profundización en el estudio de los factores pronósticos biológicos que complementan la información aportada por el IPI en pacientes con LNH ha adquirido un interés considerable.

EL sRdIL-2 se presenta en la literatura particularmente como un marcador biológico predictivo asociado con la sobrevida global y la respuesta al tratamiento en pacientes con LNH (11,12,14,15).

En el presente estudio, los pacientes con LNH presentaron niveles séricos del sRdIL-2 significativamente elevados antes de iniciar el tratamiento. La asociación de su incrementada expresión con el estadio clínico III-IV, síntomas B, niveles elevados de B2M y PCR, coinciden con los hallazgos previamente reportados en pacientes con LNH (11-15,23,24), de los cuales solo en el estudio de Pérez-Encina M., et al. (12) se analizaron pacientes con LNH agresivos, LNH indolentes y el grupo total, observándose una asociación significativa entre los niveles elevados del sRdIL-2 y el estadio clínico (enfermedad avanzada) en los tres grupos evaluados y una asociación con los síntomas B con el grupo total y los linfomas agresivos. La relación del sRdIL-2 con el estadio clínico y la

B2M es reflejo de la diseminación y proliferación del proceso tumoral y la asociación con los síntomas B y los niveles elevados de la PCR, nos indican su relación con la respuesta del paciente al tumor, el estado de inflamación y la activación celular.

Si bien el incremento en la expresión del sRdIL-2 no es un marcador específico de malignidad ya que los linfocitos y monocitos activados expresan el receptor (9,21), en nuestro trabajo los niveles del sRdIL-2 correlacionaron significativamente y de forma directa con las condiciones clínicas que reflejan la progresión y expansión de la enfermedad así como con las concentraciones de B2M, marcador biológico que refleja la actividad proliferativa del tumor. Estos resultados coinciden con los hallazgos de Pérez-Encina M., et al. (12), quienes demostraron la misma correlación en los tres grupos de pacientes evaluados. Estas observaciones apoyan la hipótesis de que la acumulación del sRdIL-2 en la sangre de los pacientes con LNH es consecuencia directa de su liberación por las células tumorales (22). También observamos la correlación directa entre el sRdIL-2, presencia de síntomas B y la PCR, lo cual refleja el estado de activación del sistema inmune y la respuesta inflamatoria, en la cual también participan las citoquinas pro-inflamatorias tales como la interleuquina -6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF) y sus receptores solubles, favoreciendo el estado de inflamación general (6,20,23).

En relación a los grupos pronósticos y los niveles del sRdIL-2, no se observaron diferencias entre los linfomas agresivos y los indolentes, contrario a los resultados de Pérez-Encina M., et al. (12), quienes reportaron niveles superiores del sRdIL-2 en los linfomas agresivos. En dicho trabajo el número de pacientes era comparable entre los grupos, no siendo así en nuestro caso, pudiendo influir esto en la significancia estadística, a pesar de las diferencias entre los valores de las medianas entre ambos grupos y el efecto de la distribución de los datos.

En nuestro estudio, si bien una proporción significativa de pacientes presentaron niveles del sRdIL-2 pretratamiento incrementados, no se observaron resultados significativos relacionados con la evolución clínica, probablemente debido al bajo número de pacientes.

En el análisis univariado de la sobrevida global, nuestro estudio determinó el valor pronóstico para el sRdIL-2. Los pacientes con LNH agresivos que expresaron niveles elevados del sRdIL-2 cursaron con una menor probabilidad de sobrevida global en comparación con el grupo de pacientes con niveles normales del sRdIL-2, no obstante no se demostró su valor pronóstico independiente en el análisis multivariado. Fabre-Guillevin E., et al. (15) reportaron resultados similares correlacionados con la sobrevida global, remisión completa y sobrevida libre de enfermedad, basados en valores de cut-off diferentes ($\leq$ 110 pg/ml), además en su trabajo analizaron los grupos de riesgo según el IPI de acuerdo a los niveles del sRdIL-2 y sus observaciones indicaron una menor sobrevida global y remisión completa en pacientes de riesgo intermedio con altos niveles del sRdIL-2. Por otra parte, Goto H., et al. (14) reportaron disminución de la probabilidad de sobrevida global en los pacientes con niveles elevados del sRdIL-2 (>2000 U/ml) en comparación con los pacientes con bajos niveles del mismo, mostrando ser un marcador independiente de la sobrevida global. Adicionalmente, al combinarlo con el IPI, sus resultados indicaron una menor probabilidad de sobrevida global en los pacientes con niveles elevados del sRdIL-2 y grupos de alto riesgo. Nitsu N., et al. (11) obtuvieron resultados concordantes con los nuestros respecto a la sobrevida global asociada a niveles elevados del sRdIL-2 (> 2000 U/ml y >3000 U/ml) y cuando se combinaron con el IPI no obtuvieron resultados significativos para la sobrevida global, no obstante el análisis multivariado mostró la independencia del marcador. El trabajo de Chopra G.S., et al. (5) coincide con el nuestro en cuanto al valor pronóstico del sRdIL-2 pretratamiento y además en su estudio determinaron niveles incrementados durante el tratamiento en pacientes con respuesta parcial y progresión de la enfermedad. Stasi R., et al. (25) determinaron diferencias significativas respecto a los niveles del sRdIL-2 entre pacientes con LNH respondedores y no respondedores.

Debido a la variabilidad de los resultados entre los trabajos reportados, es importante considerar los factores que determinan estas diferencias y dificultan la comparación de los mismos (15), tales como el tamaño de la muestra, las características clínico patológicas, la histología del tumor y la heterogeneidad de los subtipos histológicos, siendo recomendable la clasificación de la OMS para la posterior categorización de los grupos pronósticos. Desde el punto de vista metodológico, el método utilizado, la variabilidad de los criterios para establecer el valor del cut-off , así como el análisis estadístico aplicado, son determinantes en la reproducibilidad de los resultados.

En el presente estudio evaluamos la utilidad de la determinación de los niveles séricos del sRdIL-2 en pacientes con LNH. Los resultados sugieren que su expresión refleja el comportamiento biológico del tumor, la progresión y actividad de la enfermedad, considerándose la expresión de los niveles elevados, un marcador de mal pronóstico para la sobrevida global en los pacientes con LNH agresivos.

La profundización en el comportamiento de los niveles séricos del sRdIL-2 en los pacientes con LNH, permitiría complementar la información aportada por el IPI para la categorización de los pacientes y la selección de las estrategias terapéuticas.

Agradecimiento

Agradecemos al profesor Leovigildo García, profesor jubilado de la Cátedra de Matemática y Bioestadística de la Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, por la asesoría estadística.

Agradecemos a la Fundación BADAN por el financiamiento del estudio estadístico.

Referencias

1. Feldman AL, Pittaluga S, Jaffe ES. Classification and histopathology of the lymphomas. En Canellos G.P., Lister T.A., Young B., editors. The lymphomas. Saunders, Elsevier. Second Edition 2006 p.2-38.
2. Fisher RJ, Mauch PM, Friedberg JW. Non Hodgkin Lymphomas. En Cancer principles and Practice Oncology. Vincent De Vita Jr., Samuel Hullman, Steve A. Rosemberg. 7th Edition. Lippincott: Williams & Wilkins 2005. Capitulo 41-2; p.1957-1997.
3. Hennessy BT, Hanrahan EO, Daly PA. Non Hodgkin lymphoma: an update. The Lancet Oncology 2004; 5 : 341-352.
4. Evans LS, Hancock BW. Non hodgkin Lymphoma. Lancet 2003; 362:139-46.
5. Chopra C, Chitalkar PG. Cytokines as useful prognostic markers in lymphoma cases. MJAFI 2004; 60:45-49
6. Nicolaides C, Dimou S, Pavlidis N. Prognostic factors in agressive Non- Hodgking's lymphomas. Oncologist 1998; 3: 189-197
7. Vchiyama T, Broder S, Walman TA. A monoclonal antibody (anti-tac) reactive with activated and functionally mature human T Cells. Production of anti tac monoclonal antibody and distribution of tac (T) cells. J. Immunol 1981;126:1393-1403.
8. Robb RJ, Munck A, Smith KA. T cell growth factor receptors. Quantitation, specificity and biological relevance. J Exp Med. 1981;154:1455-1474
9. Rubin LA, Kuyman CC, Fritz ME, Biddison WE, Boutin B, Yarchoan R. Soluble interleuquin-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. Journal of Immunology 1985;135:3172-3177.
10. Barak V, Ginzburg M, Kalickman I, Polliack A. Serum soluble interleuquin-2 receptor levels are associated with clinical disease status and histopalogical grade in non Hodgkin´s lymphoma. Leukemia and Lymphoma 1992; 7:431-438.
11. Nitsu N, Jijima K, Chizuka A. High serum soluble interleuquin 2 receptor level is associated with poor outcome of aggressive non Hodgkin´s lymphoma. Eur J Haematol 2001;66:24-30.
12. Pérez-Encina M, Quintas A, Bendaña A, Rabuñal M, Bello J. Correlation and prognostic value of serum soluble ICAM-1, B2M microglobulin and IL-2ɑRs levels in non-Hodgkin´s lymphoma. Leukemia and lymphoma 1999; 33(5-6);:1551-556.
13. Janik J, Morris J, Pittaluga S, McDonald K, Raffeld M, Jaffe ES, et al. Elevated serum-soluble interleukin-2 receptor levels in patients with anaplasic large cell lymphoma. Blood 2004; 104:3355-3357.
14. Goto H, Tsurumi H, Takemura M, Ino-Shimomura Y, Kasanara S, Sawada M, et al. Serum-soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) level determines clinical outcome in patients with aggressive non-Hodgkin´s lymphoma: in combination with the International Prognostic Index J. Cancer Res Clin Oncol 2005; 131:73-79.
15. Fabre-Guillevin E, Tabrizi R, Coulon V. Monnereau A., Eghbali H., Soubeyran I., et al. Aggressive non –Hodgkin´s lymphoma: concomitant evaluation of interleuquin-2 soluble interleukin-2 receptor, interleukin -4, interleukin -6, interleukin -10 and correlation with outcome. Leukemia and lymphoma 2006; 47 (4): 603-611.
16. Shipp HA. A predictive model for aggressive non Hodgkin´s lymphomas. The International Non Hodgkin´s lymphomas prognostic factors proyect. N Engl J Med 1993; 329: 987-994.
17. Hermans J, Krol A, Groningen K, et al. International prognostic Index for aggressive non Hodgkin´s lymphoma is valid for all malignancy grades. Blood 1995; 88(4): 1460-63.
18. Harris NL, Jaffe ES, et al. World Health Organitation Classification of Neoplasic Diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: report of the clinical advisory committee meeting. The Haematology Journal 2000; 1:53-66.
19. Karnosfky et al. Clinical Oncology. P. Rubin Ed. American Cancer Society. 1983.
20. Zabner de Oziel P, Galizia C, Somoza R, Wallis V, Desenne J, Gonzalez M, et al. Valor pronóstico de los niveles de la Interleuquina-6 en Linfoma No Hodgkin. Act Cient de la Soc. Venez. de Bioanal. Espec. 2006;9(1):11-21.
21. Herrmann F, Cannistra SA, Levine G, Griffin JD. Expression of interleukin-2 receptors and binding of IL-2 by gamma interferon-induced human leukemic and normal monocytic cells. J Exp Med. 1985; 162: 1111-1116.
22. Chilosi M, Semenzato G, Vinante F, et al. Increased levels of soluble interleukin-2 receptor in non-Hodgkin's lymphomas. Relationship with clinical, histologic and phenotypic features. Am J Clin Pathol. 1989; 92:186-191.
23. Legoufee E, Rodriguez MC, Picot B, Richard B, Klein B, Commes T. C-Reactive Protein serum level is a valuable and sample prognostic marker in non –Hodgkin's lymphoma. Leukemia and Lymphoma 1998; 31: 351-357
24. Stasi R, Zinzani PL, Galieni P, Lanta VM, Damasio E, Dispensa E, et al. Prognostic value of serum IL-10 and soluble IL-2 receptor levels in aggressive non Hodgkin's lymphoma. British Journal of Haematology 1994; 88:770-777
25. Stasi R, Zinzani PL, Lanta VM, Damasio E, Dispensa E, Dammacco F, et al. Clinical implications of cytokine and soluble receptor measurements in patients with newly diagnosed aggressive non-Hodgkin's lymphomas. Eur J Haematol 1995; 54: 9-17