



Universitat Autònoma de Barcelona

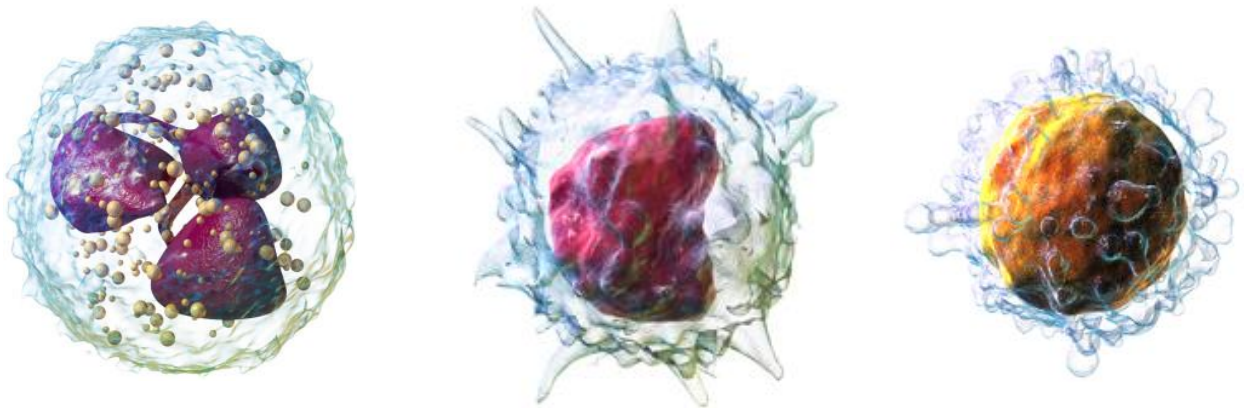
ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

-TESIS DOCTORAL-

**CAPACIDAD PRONÓSTICA DE LOS
PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN
SANGRE PERIFÉRICA PRE-TRATAMIENTO
EN LOS CARCINOMAS ESCAMOSOS DE
CABEZA Y CUELLO**



CRISTINA VALERO MAYOR

Universidad Autònoma de Barcelona

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

Programa de Doctorado en Cirugía y Ciencias Morfológicas (RD 99/2011)

2018

-TESIS DOCTORAL-

**CAPACIDAD PRONÓSTICA DE LOS
PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN
SANGRE PERIFÉRICA PRE-TRATAMIENTO
EN LOS CARCINOMAS ESCAMOSOS DE
CABEZA Y CUELLO**

CRISTINA VALERO MAYOR

Universidad Autónoma de Barcelona

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

Programa de Doctorado en Cirugía y Ciencias Morfológicas (RD 99/2011)

2018

Universidad Autónoma de Barcelona

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

Programa de Doctorado en Cirugía y Ciencias Morfológicas (RD 99/2011)

TESIS DOCTORAL - 2018

**CAPACIDAD PRONÓSTICA DE LOS
PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN
SANGRE PERIFÉRICA PRE-TRATAMIENTO
EN LOS CARCINOMAS ESCAMOSOS DE
CABEZA Y CUELLO**

Tesis presentada por
Cristina Valero Mayor
para optar al grado de doctor

Directores:

Dr. Xavier León Vintró

Profesor Titular de Universidad
Universidad Autónoma de Barcelona

Prof. Dr. Miquel Quer Agustí

Catedrático de Universidad
Universidad Autónoma de Barcelona

Dra. Montserrat López Vilas

Doctor en Medicina y Cirugía
Universidad Autónoma de Barcelona

Tutor:

Dr. Xavier León Vintró

Profesor Titular de Universidad
Universidad Autónoma de Barcelona

A tu, el meu etern company

Agradecimientos

Al Dr. Xavier León Vintró, por su inagotable inquietud y su dedicación. Por la gran pasión que tiene por nuestro trabajo, y por despertar en mi la curiosidad de seguir planteando preguntas y buscando respuestas en el fascinante mundo de la investigación. Por todo el conocimiento que ha compartido desinteresadamente conmigo, y por todas las horas dedicadas. Pero sobre todo, por brindarme ésta y muchas otras oportunidades.

Al Prof. Miquel Quer Agustí y a la Dra. Montserrat López Vilas, por su implicación y ayuda en la realización de este proyecto. Por todos los consejos y la experiencia que me han aportado, creyendo en este trabajo en todo momento.

A todos los compañeros que forman parte del servicio de Otorrinolaringología en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, en especial a la Dra. Laura Pardo Muñoz, por su gran aportación a este trabajo mediante la ayuda en la recogida de datos.

A mis padres y a mi hermana, quienes siempre han confiado y creído en mí. Por el incansable apoyo, permitiéndome en todo momento luchar por mis sueños. Por respetar todas y cada una de mis decisiones.

A mi marido, pues todos mis logros son nuestros logros; por ser el más paciente, aquel que nunca ha dejado de apostar por mí. Gracias por toda tu comprensión y por adaptarte siempre a todos mis cambios de rumbo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	11
1. Generalidades.....	13
2. Células hematopoyéticas como factores pronósticos en cáncer.....	19
3. Células hematopoyéticas como factores pronósticos en CECC	23
4. Comparación de los parámetros hematológicos en sangre periférica entre pacientes con CECC y sujetos sanos	59
5. Comparación del NLR entre pacientes con carcinomas de laringe y pacientes con lesiones pre-malignas y benignas de laringe	60
6. Comparación de los diferentes sistemas de puntuación pronósticos basados en la inflamación.....	62
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	65
MATERIAL Y MÉTODOS	69
RESULTADOS	83
1. Relación entre el número de neutrófilos pre-tratamiento y el pronóstico en los pacientes con CECC	85
2. Relación entre el número de monocitos pre-tratamiento y el pronóstico en los pacientes con CECC	97
3. Relación entre el número de linfocitos pre-tratamiento y el pronóstico en los pacientes con CECC	107
4. Relación entre el ratio entre neutrófilos y linfocitos pre-tratamiento (NLR) y el pronóstico en los pacientes con CECC.....	114
5. Valoración conjunta del recuento de neutrófilos, monocitos y linfocitos pre-tratamiento y su relación con el pronóstico en pacientes con CECC.....	124
6. Comparación de la capacidad pronóstica del recuento de neutrófilos, monocitos, linfocitos y del NLR.....	134
7. Capacidad pronóstica de los neutrófilos, monocitos y linfocitos y del NLR en los pacientes con carcinomas de orofaringe en función del estatus HPV	136

DISCUSIÓN	151
1. Inflamación y cáncer	153
2. Relación entre los parámetros hematológicos y las variables clínicas....	156
3. Parámetros hematológicos como factores pronósticos en CECC.....	163
4. Resumen-conclusión de los resultados.....	180
5. Comparación entre el microambiente tumoral y la sangre periférica	180
6. Limitaciones del estudio.....	181
7. Puntos fuertes del estudio.....	183
CONCLUSIONES	187
BIBLIOGRAFÍA	191
ANEXO	205

INTRODUCCIÓN

1. Generalidades

El estadiaje en cáncer de cabeza y cuello es el factor pronóstico más predictivo en el momento actual. Si analizamos la última edición de la clasificación TNM (8º edición, Diciembre 2016, UICC/AJCC), ésta incluye el tamaño del tumor primario, la afectación ganglionar, la presencia de metástasis a distancia y la presencia de ruptura extra-capsular. Esta última ha sido una de las novedades añadidas en la nueva edición del TNM. Sin embargo, estos parámetros no son suficientes para identificar a los pacientes con un riesgo mayor de recurrencia, ya que se observa una heterogeneidad significativa en cuanto a resultados oncológicos dentro de un mismo estadio. Disponer de información pronóstica adicional basada en marcadores fácilmente disponibles sería de evidente utilidad clínica.

Cada vez existe más evidencia de que la progresión tumoral podría estar influenciada por la respuesta inflamatoria sistémica. Este fenómeno fue descrito por primera vez por Virchow en 1876 mediante la demostración de la presencia de leucocitos en el tejido neoplásico¹.

Desde entonces se han tratado de encontrar diferentes marcadores de inflamación y se han creado escalas de puntuación en base a ellos. Por ejemplo, la proteína C reactiva (PCR) en suero elevada es utilizada por diversos autores como indicador de mal pronóstico en ciertos tumores malignos, incluidos carcinomas de próstata, ovario, pulmón y tracto gastrointestinal². La escala de puntuación pronóstica de Glasgow (GPS), es una escala basada en la inflamación que incluye la PCR y la albúmina en suero, y ha pasado a ser uno de los sistemas de puntuación más utilizados para determinar el pronóstico de los pacientes con cáncer²⁻⁷.

Otros marcadores disponibles de forma rutinaria son las células hematopoyéticas, descritas en múltiples estudios donde se vincula la carcinogénesis y la inflamación en ambas direcciones. Por un lado, la inflamación crónica promueve el desarrollo del tumor y, por otro lado, la mayoría de los tumores muestran un infiltrado de células relacionadas con la respuesta inflamatoria que estimula la progresión tumoral ⁸.

Las células hematopoyéticas, según la definición del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, son células inmaduras que se pueden transformar en todos los tipos de células sanguíneas, como glóbulos blancos (leucocitos), glóbulos rojos (eritrocitos) y plaquetas. Las células madre hematopoyéticas se encuentran en sangre periférica y en la médula ósea.

El presente estudio se centra en los glóbulos blancos, los leucocitos. Éstos se clasifican en dos categorías en base a su apariencia nuclear y a la presencia o no de gránulos:

1. Leucocitos mononucleares (agranulocitos)
2. Leucocitos polimorfonucleares (granulocitos)

Los leucocitos mononucleares incluyen los monocitos y los linfocitos, mientras que los leucocitos polimorfonucleares incluyen los neutrófilos, los basófilos y los eosinófilos.

Otra clasificación de los leucocitos se obtendría en base a la estirpe de la que provienen, que puede ser mieloide o linfoide:

1. Precursor mieloide: neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos
2. Precursor linfoide: linfocitos

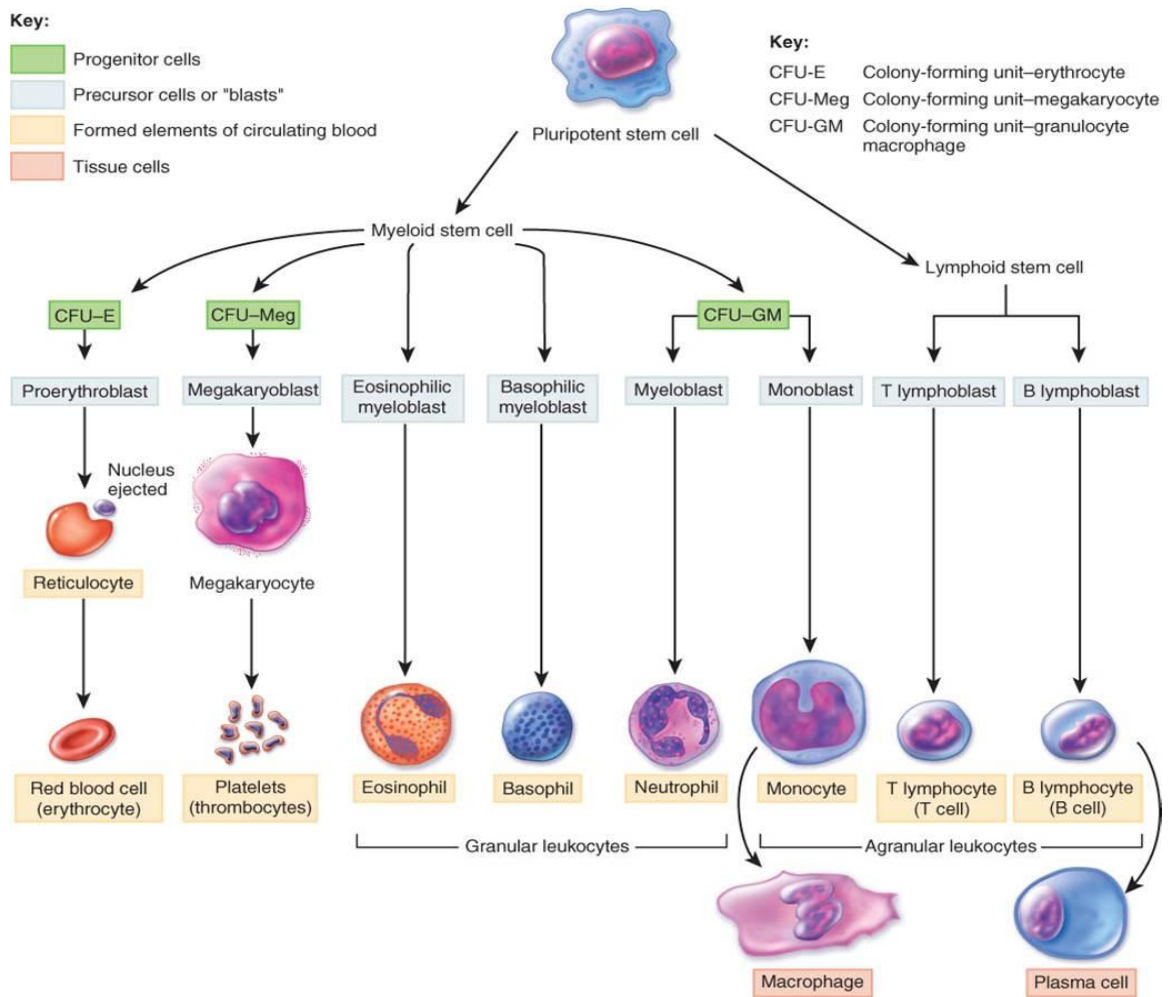


Figura 1. Esquema de la clasificación de las células hematopoyéticas (tomada de Tórtora⁹).

Tanto las células tumorales como el microambiente tumoral promueven una respuesta inflamatoria sistémica que aumenta los recuentos de neutrófilos y monocitos circulantes en sangre periférica. Esta respuesta está mediada a través de la liberación de sustancias relacionadas con el estrés oxidativo¹⁰, citocinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α)¹¹, la interleucina 1 α (IL-1 α)¹¹, o el factor de crecimiento transformante β (TGF- β)¹².

Además, el fracaso del sistema inmune en controlar y erradicar las células tumorales podría ser en parte responsable de la progresión del tumor. Un hallazgo común en los pacientes oncológicos es una disminución en los valores absolutos de ciertos subgrupos de linfocitos¹³.

Tanto en pacientes con carcinomas escamosos de cabeza y cuello (CECC) como en pacientes con melanoma o cáncer de mama, varios autores¹⁴⁻¹⁷ han descrito un incremento en la proporción de linfocitos T circulantes que se unen a la anexina V y que, por tanto, son destinados a la apoptosis. Tras estos estudios, Kuss y cols¹³ llevaron a cabo un trabajo donde se analizaban las proporciones y el recuento absoluto de linfocitos T y de sus subtipos en sangre periférica en pacientes con CECC comparándolo con un grupo control.

Se seleccionaron 146 pacientes con CECC y 54 controles sanos, a los que realizaron una analítica sanguínea previa al inicio del tratamiento. Determinaron el recuento absoluto y el porcentaje de linfocitos T y sus subtipos CD3+, CD4+ y CD8+ mediante citometría de flujo.

Encontraron un menor recuento absoluto de linfocitos T CD3+, CD4+ y CD8+ en los pacientes con CECC comparado con el grupo control, con diferencias estadísticamente significativas. No observaron diferencias significativas en cuanto a los porcentajes de los diferentes subgrupos de linfocitos T entre los pacientes con CECC y el grupo control.

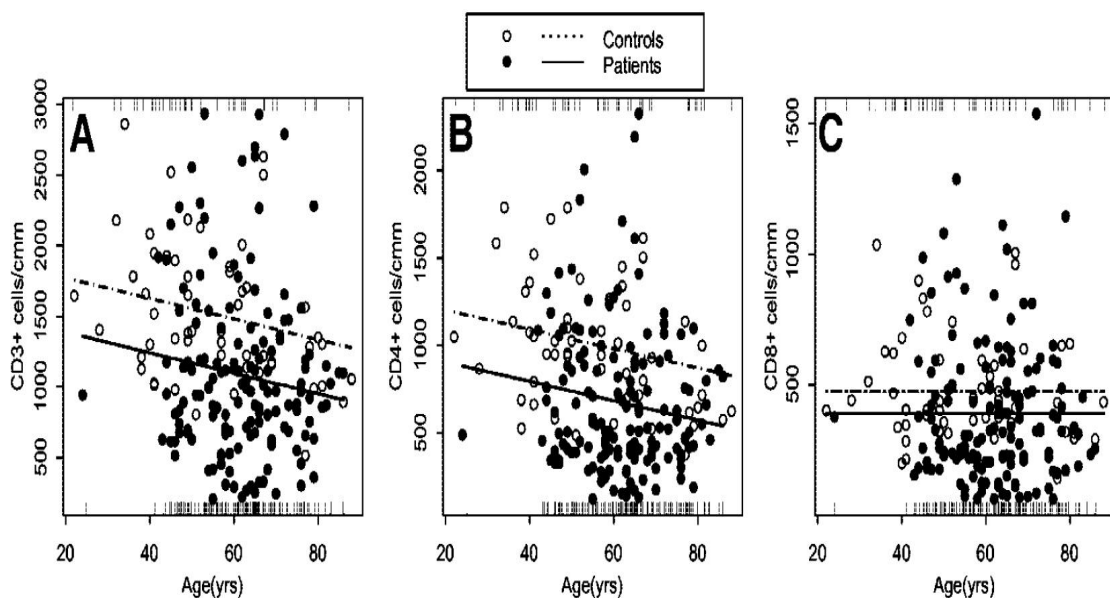


Figura 2. Recuento absoluto de linfocitos T CD3+ (A), CD4+ (B) y CD8+ (C) en sangre periférica en pacientes con CECC comparado con sujetos sanos según edad (tomada de Kuss¹³).

Existe un subgrupo de células mieloides que se expande en pacientes con cáncer; son las llamadas células mieloides supresoras. Se trata de células mieloides inmaduras que se encuentran elevadas en pacientes oncológicos. Estas células son capaces de suprimir los linfocitos T anti-tumorales y promover la angiogénesis tumoral^{18,19}. Algunos autores describen que un mayor número de estas células es un factor pronóstico en diferentes tipos de cáncer como el esofágico, el gástrico y el pancreático²⁰.

Recientemente se ha demostrado que las células madre y los precursores hematopoyéticos circulantes en el cáncer son predominantemente mieloides. Además, se ha observado que la frecuencia de precursores hematopoyéticos circulantes con potencial linfoide es significativamente menor en pacientes con cáncer, y que la expansión preferencial de las células precursoras es hacia células de la estirpe mieloide granulocítica²¹.

Existen múltiples estudios donde se ha demostrado que los pacientes con cáncer presentan un recuento de neutrófilos en sangre periférica más elevado que los individuos sanos²²⁻²⁴. Una de las explicaciones sería que las células tumorales secretan citocinas que estimulan la liberación de neutrófilos de la médula ósea.

El grado de inflamación sistémica medido mediante los parámetros hematológicos en sangre periférica se correlaciona con el resultado oncológico en algunos modelos tumorales²⁵. Estudios realizados en diferentes tipos de tumores sólidos han asociado un descenso en el control de la enfermedad y en la supervivencia con el aumento de los recuentos circulantes de neutrófilos y monocitos, con la disminución del recuento de linfocitos y con el aumento del ratio entre neutrófilos y linfocitos, conocido como “Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio” (NLR)^{3,26-29}.

En pacientes con CECC también se ha analizado la capacidad pronóstica de los neutrófilos, monocitos y linfocitos y del NLR^{18,22,30-44}. La mayoría de los autores coinciden en que un aumento en el NLR^{18,30-35,37-43}, un aumento en el recuento absoluto de neutrófilos^{18,22,34,43,44} o monocitos^{22,36,43} o una disminución en el recuento absoluto de linfocitos^{18,22,34} se asocia con un peor pronóstico.

Sin embargo, el tamaño de la muestra de algunos de estos estudios fue limitado, otros estudios sólo incluyeron pacientes con tumores localizados en una región anatómica o no evaluaron la capacidad pronóstica de los recuentos absolutos de neutrófilos, monocitos y linfocitos como marcadores independientes.

2. Células hematopoyéticas como factores pronósticos en cáncer

A continuación se detallan los diferentes estudios llevados a cabo en los últimos años que han analizado las células hematopoyéticas como factores pronósticos en cáncer, centrándonos posteriormente en aquellos que han analizado específicamente los pacientes con CECC.

Se han realizado múltiples meta-análisis en pacientes con tumores sólidos de diferentes localizaciones para analizar el papel pronóstico del NLR. Tanto Paramanathan y cols²⁷ como Templeton y cols²⁸ concluyeron que un NLR elevado se correlaciona con un peor resultado oncológico.

Paramanathan y cols²⁷ realizaron una revisión sistemática y un meta-análisis evaluando los Hazard Ratios (HR) para la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad en pacientes con tumores de diferentes localizaciones. Se seleccionaron un total de 49 estudios que contenían 14,282 pacientes.

Un NLR elevado se asoció con una peor supervivencia global (HR=1.92, IC 95% 1.64-2.24, $p < 0.001$) y una peor supervivencia libre de enfermedad (HR=1.99, IC 95% 1.80-2.20, $p < 0.001$). Se observó una heterogeneidad significativa con un I^2 (índice de heterogeneidad) de 77% y 97% para la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad respectivamente.

Probablemente, esta heterogeneidad se deba a las diferentes histologías incluidas y a los diferentes puntos de corte del NLR utilizados en cada estudio. El punto medio de corte para el NLR fue de 5.0.

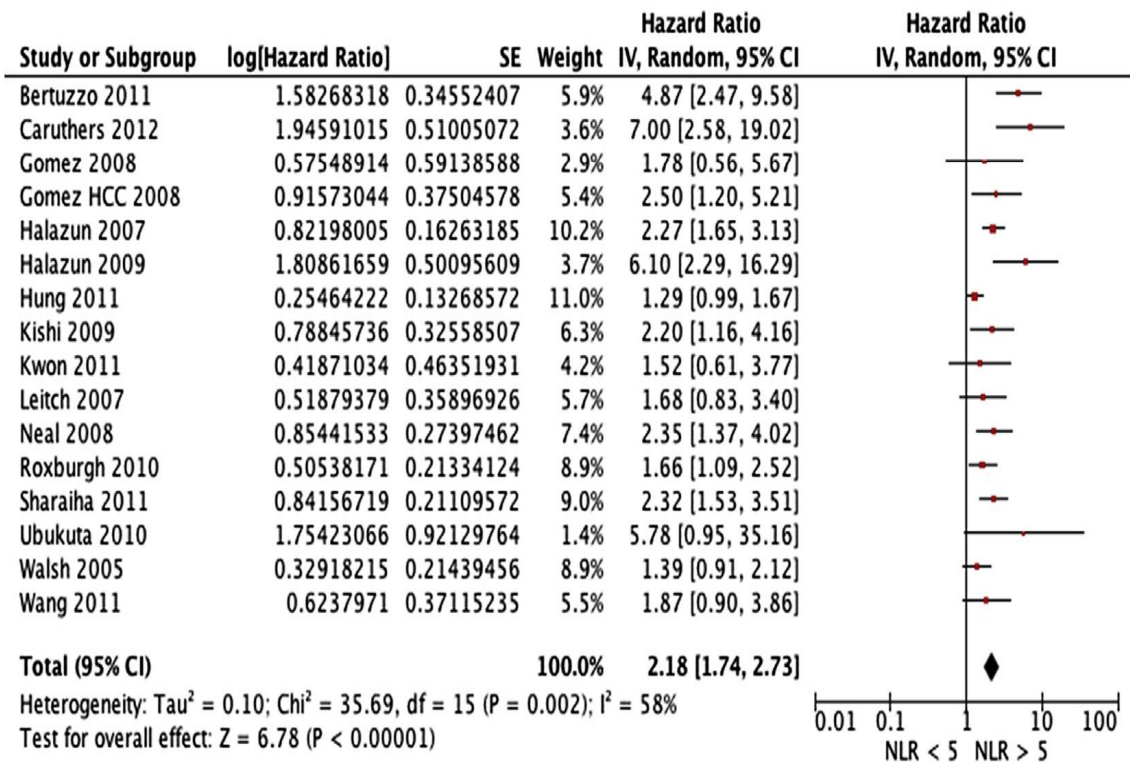


Figura 3. Análisis de NLR>5 como factor pronóstico (tomada de Paramanathan²⁷).

Templeton y cols²⁸ estudiaron la relación entre el NLR y la supervivencia global, la supervivencia específica, la supervivencia libre de progresión y la supervivencia libre de enfermedad. Fueron añadidos al análisis 100 estudios, con un total de 40,559 pacientes incluidos.

Para la supervivencia global, el punto medio de corte para el NLR fue de 4.0; aquellos pacientes que tenían un NLR >4.0 presentaban un HR de 1.81 (IC 95% 1.67-1.97, p<0.001). Para la supervivencia específica, el punto medio de corte para el NLR fue de 3.85; aquellos pacientes que tenían un NLR >3.85 presentaban un HR de 1.61 (IC 95% 1.36-1.91, p<0.001). Para la supervivencia libre de progresión, el punto medio de corte para el NLR fue de 3.0; aquellos pacientes que tenían un NLR >3.0 presentaban un HR de 1.63 (IC 95% 1.39-1.91, p<0.001). Finalmente, para la supervivencia libre de enfermedad, el punto medio de corte para el NLR fue de 5.0; aquellos pacientes que tenían un NLR >5.0 presentaban un HR de 2.27 (IC 95% 1.85-2.79, p<0.001).

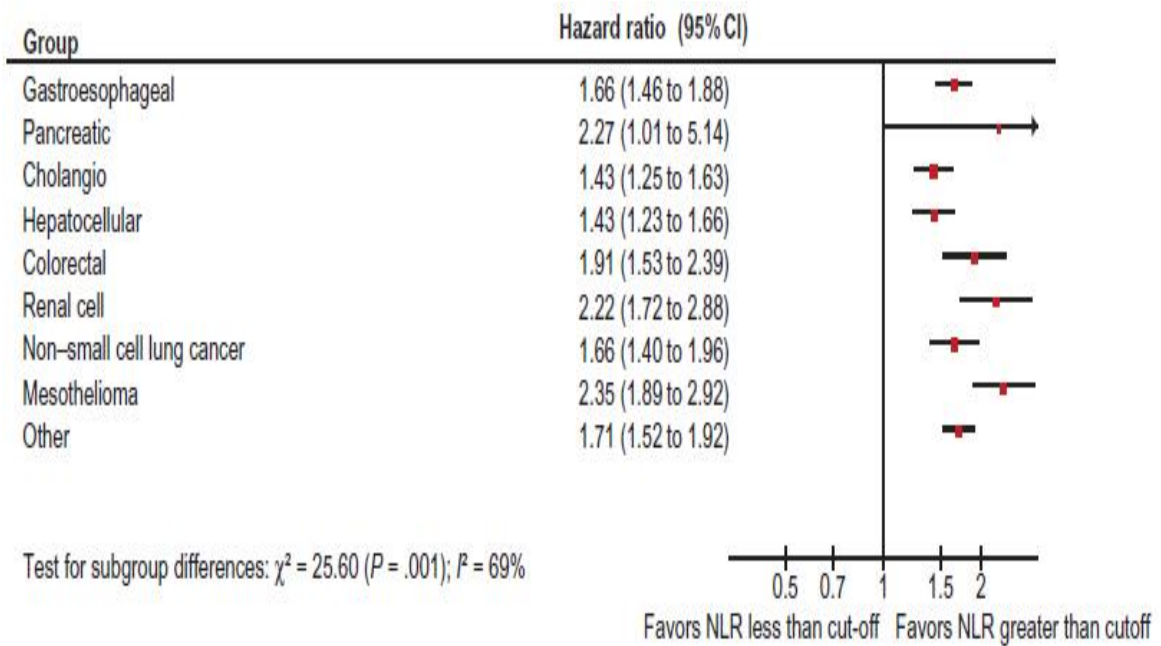


Figura 4. Forest plot mostrando los hazard ratio de la supervivencia global para un NLR mayor o menor que el punto de corte (tomada de Templeton²⁸).

Guthrie y cols³ realizaron una revisión sistemática en el 2013 para analizar la utilidad del NLR en predecir el resultado oncológico en pacientes con diferentes tipos de tumores. En el momento del estudio de Guthrie y cols, más de 60 estudios (>37,000 pacientes) habían examinado la utilidad clínica del NLR.

El NLR tenía un valor pronóstico independiente en:

1. Cohortes no seleccionadas (1 estudio, >12,000 pacientes)
2. Enfermedad operable (20 estudios, >4,000 pacientes)
3. Pacientes que recibieron tratamiento neoadyuvante y resección quirúrgica posterior (5 estudios, >1,000 pacientes)
4. Pacientes que recibieron quimioterapia / radioterapia (12 estudios, >2,000 pacientes)
5. Pacientes con enfermedad inoperable (6 estudios, >1,200 pacientes).

Además, los estudios posteriores (15 estudios, >8,500 pacientes) demostraron que el NLR se encontraba elevado en pacientes con enfermedad más avanzada, evidenciada por un aumento en el estadio TNM.

Concluyeron que el NLR tenía mayor utilidad pronóstica en los estadios avanzados así como en pacientes que requerían quimioterapia o aquellos con enfermedad inoperable.

3. Células hematopoyéticas como factores pronósticos en CECC

Carcinomas de nasofaringe:

En 2010, An y cols³⁰ realizaron un estudio retrospectivo en 363 pacientes diagnosticados de carcinomas nasofaríngeos analizando el NLR como factor pronóstico en analíticas sanguíneas previas al inicio del tratamiento. Utilizaron curvas ROC para seleccionar el punto de corte del NLR más apropiado, obteniendo 3.73 como resultado. Los pacientes con un NLR superior al punto de corte 3.73 contaron con una menor supervivencia específica y con un mayor porcentaje de metástasis a distancia.

La supervivencia específica a los 5 años de los pacientes con un NLR elevado fue de 59.6%, y en los pacientes con NLR no elevado fue de 76.6% ($p=0.03$). La supervivencia libre de metástasis a distancia a los 5 años fue de 69.7% y 86.6% en los pacientes con NLR elevado y no elevado, respectivamente ($p=0.002$). No encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación a la supervivencia libre de recidiva loco-regional entre los pacientes con NLR elevado y no elevado (78.5% vs 87.3%, $p=0.105$).

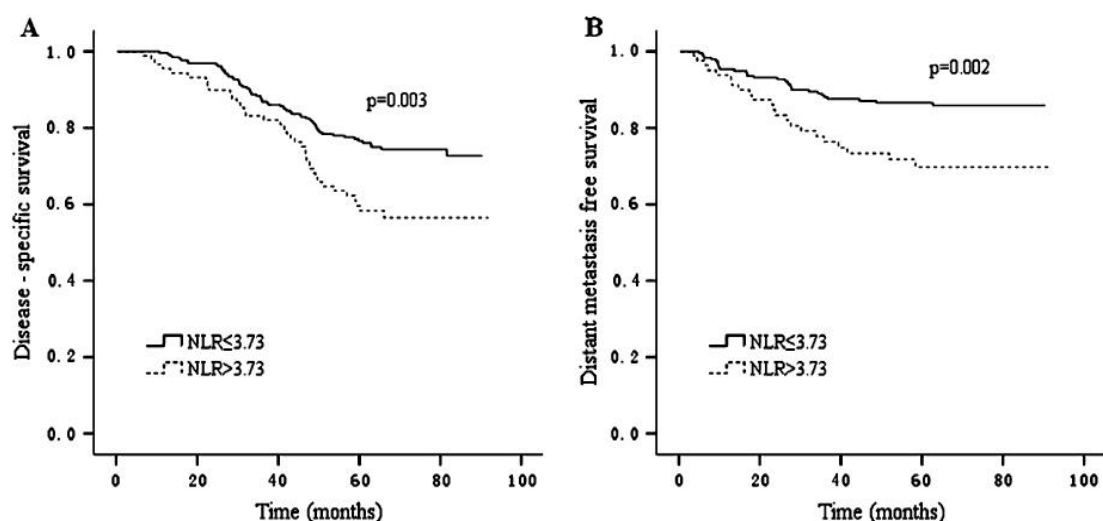


Figura 5. Análisis de la supervivencia específica (A) y la supervivencia libre de metástasis a distancia (B) según el valor del NLR (tomada de An³⁰).

Los autores realizaron un análisis multivariante donde comprobaron la capacidad pronóstica independiente del NLR.

Variable	Disease-specific survival		Metastasis-free survival	
	HR (95% CI)	P value	HR (95% CI)	P value
Gender	–	–	–	–
T status	1.42 (1.12–1.80)	0.004	–	–
N status	2.59 (1.27–1.99)	0.000	2.01 (1.46–2.77)	0.000
NLR	1.74 (1.15–2.62)	0.008	2.37 (1.37–4.10)	0.002

Tabla 1. Análisis multivariante añadiendo el NLR como variable independiente (tomada de An³⁰).

He y cols³¹ estudiaron el valor pronóstico no sólo del NLR, sino también del recuento absoluto y los porcentajes de neutrófilos, monocitos, linfocitos, eosinófilos y basófilos en sangre periférica. La muestra constaba de 1,410 pacientes con carcinomas nasofaríngeos estudiados de forma retrospectiva.

Analizaron la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión y los pacientes fueron separados en 4 grupos de acuerdo con los cuartiles de los parámetros hematológicos.

Observaron una asociación significativa entre el recuento absoluto de neutrófilos y la supervivencia global ($p=0.04$) pero no con la supervivencia libre de progresión ($p=0.14$). En el caso de los linfocitos, el recuento absoluto no mostró asociación con ninguna de las dos supervivencias ($p=0.73$ y $p=0.12$ respectivamente).

Tanto los porcentajes de neutrófilos y linfocitos como el NLR mostraron asociación con la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión ($p<0.05$).

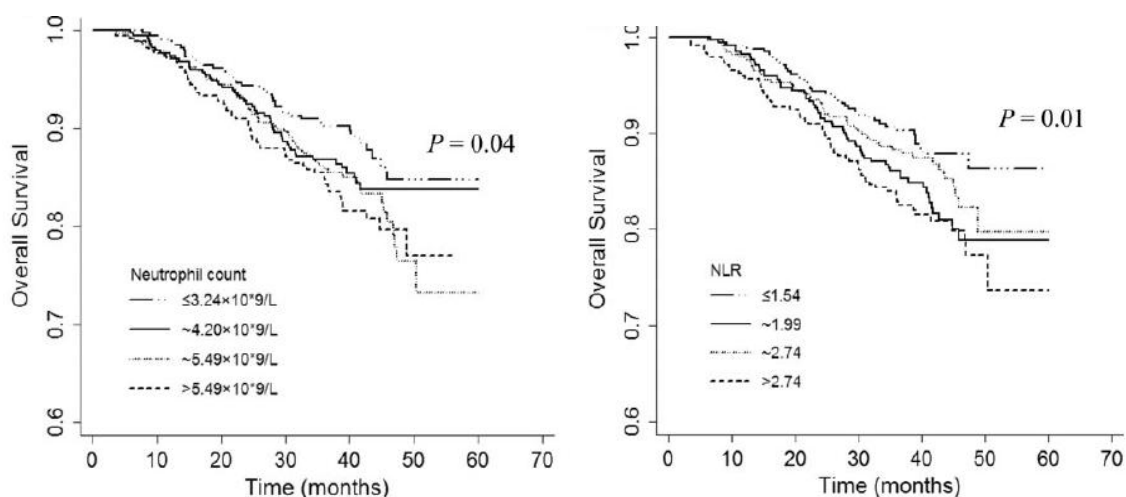


Figura 6. Curvas de supervivencia global según el recuento absoluto de neutrófilos y el NLR (tomada de He³¹).

En el análisis multivariante, los pacientes en el cuartil más elevado de porcentaje de neutrófilos y NLR mostraron un peor pronóstico, mientras que los pacientes en el cuartil más elevado de porcentaje de linfocitos contaron con un mejor pronóstico.

Variable*	HR [†] (95% CI)	
	Overall survival	Progression-free survival
Count, × 10⁹/L		
Neutrophil		
≤ 3.24	1.00 (reference)	1.00 (reference)
~ 4.20	1.17 (0.76–1.81)	1.21 (0.86–1.70)
~ 5.49	1.29 (0.84–1.96)	1.07 (0.76–1.52)
> 5.49	1.44 (0.95–2.18)	1.30 (0.93–1.83)
<i>p</i> for trend	.08	.22
Lymphocyte		
≤ 1.69	1.00 (reference)	1.00 (reference)
~ 2.06	1.05 (0.72–1.52)	0.94 (0.69–1.28)
~ 2.53	0.83 (0.56–1.24)	0.74 (0.54–1.03)
> 2.53	0.80 (0.53–1.20)	0.62 (0.44–0.87)
<i>p</i> for trend	.16	.002
Percentage, %		
Neutrophil		
≤ 54.0	1.00 (reference)	1.00 (reference)
~ 60.0	1.60 (1.05–2.44)	1.22 (0.85–1.74)
~ 66.8	1.26 (0.81–1.96)	1.30 (0.91–1.84)
> 66.8	1.62 (1.06–2.46)	1.55 (1.10–2.18)
<i>p</i> for trend	.09	.01
Lymphocyte		
≤ 24.0	1.00 (reference)	1.00 (reference)
~ 30.0	0.78 (0.54–1.13)	0.83 (0.61–1.13)
~ 35.4	0.68 (0.46–0.99)	0.74 (0.54–1.01)
> 35.4	0.71 (0.48–1.06)	0.61 (0.43–0.86)
<i>p</i> for trend	.05	.003
NLR		
≤ 1.54	1.00 (reference)	1.00 (reference)
~ 1.99	1.39 (0.91–2.12)	1.38 (0.96–1.97)
~ 2.74	1.12 (0.72–1.75)	1.32 (0.92–1.89)
> 2.74	1.57 (1.04–2.39)	1.68 (1.19–2.38)
<i>p</i> for trend	.09	.007

Tabla 2. Análisis multivariante para los diferentes parámetros hematológicos (tomada de He³¹).

No se obtuvieron resultados significativos al analizar la cifra de monocitos, eosinófilos o basófilos. Ninguno de ellos mostró asociación significativa con la supervivencia global ni con la supervivencia libre de progresión.

Jin y cols³² también estudiaron el NLR como predictor de supervivencia en los pacientes con carcinoma de nasofaringe, en este caso, metastásico. Obtuvieron una muestra de 229 pacientes con carcinoma nasofaríngeo metastásico que recibieron quimioterapia paliativa, en los que analizaron la capacidad pronóstica del recuento de neutrófilos, linfocitos y del NLR en relación a la supervivencia global y la respuesta al tratamiento.

Separaron a los pacientes por cuartiles según los parámetros hematológicos. Sus resultados muestran que tanto el recuento absoluto como el porcentaje elevado de neutrófilos se relacionan con una peor supervivencia global de forma significativa. En el caso de los linfocitos, sólo se obtuvieron resultados significativos con el porcentaje; a mayor porcentaje de linfocitos mejor supervivencia. Por último, un NLR elevado también se asoció de forma significativa con una peor supervivencia global.

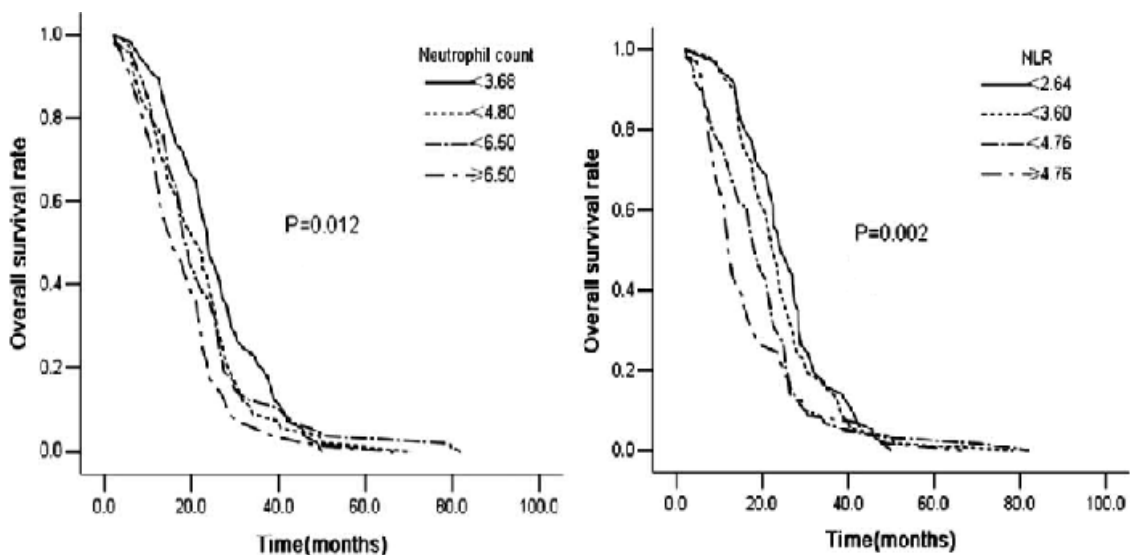


Figura 7. Curvas de supervivencia global según el recuento de neutrófilos y el NLR (tomada de Jin³²).

En el análisis multivariante sólo mantuvieron la capacidad pronóstica independiente el recuento absoluto de neutrófilos, el porcentaje de neutrófilos y el NLR.

Factors	OS		
	HR*	95% CI	p value
Neutrophil count, $\times 10^9/L$			
Quartile 1 (<3.68)	1		
Quartile 2 (<4.80)	1.291	0.889–1.876	.180
Quartile 3 (<6.50)	1.359	0.924–2.000	.119
Quartile 4 (≥ 6.50)	1.866	1.261–2.761	.002
Lymphocyte count, $\times 10^9/L$			
Quartile 1 (<1.00)	1		
Quartile 2 (<1.40)	0.611	0.414–0.901	.013
Quartile 3 (<1.80)	0.891	0.584–1.360	.592
Quartile 4 (≥ 1.80)	0.704	0.483–1.026	.068
Percentage of neutrophil, %			
Quartile 1 (<63.89)			
Quartile 2 (<69.49)	1.142	0.781–1.670	.493
Quartile 3 (<72.52)	2.310	1.564–3.412	< .001
Quartile 4 (≥ 72.52)	6.668	4.350–10.221	< .001
Percentage of lymphocyte, %			
Quartile 1 (<15.00)			
Quartile 2 (<19.74)	0.763	0.525–1.109	.156
Quartile 3 (<25.31)	0.640	0.441–0.928	.019
Quartile 4 (≥ 25.31)	0.624	0.431–0.905	.013
NLR			
Quartile 1 (<2.64)	1		
Quartile 2 (<3.60)	1.041	0.719–1.507	.831
Quartile 3 (<4.76)	1.440	0.992–2.092	.055
Quartile 4 (≥ 4.76)	1.906	1.310–2.771	.001

Tabla 3. Análisis multivariante de los parámetros hematológicos (tomada de Jin³²).

No encontraron diferencias significativas en la respuesta a la quimioterapia ni en el control de la enfermedad en función del NLR.

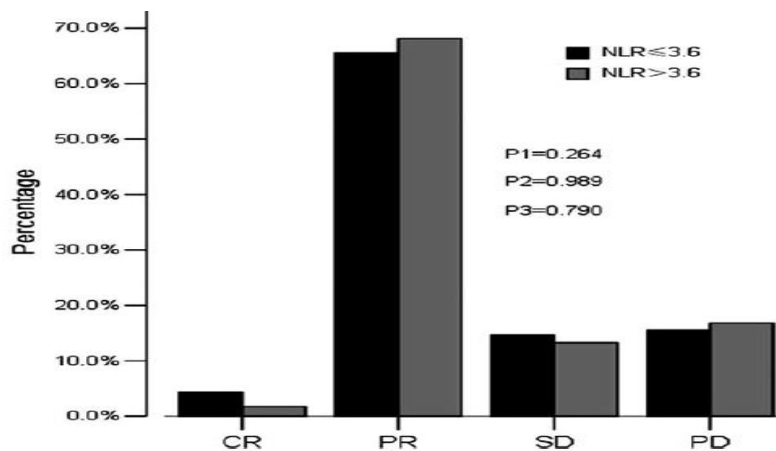


Figura 8. Correlación entre NLR y respuesta al tratamiento. CR= respuesta completa, PR= respuesta parcial, SD= estabilidad, PD= progresión (tomada de Jin³²).

Chang y cols³³ realizaron un estudio retrospectivo para identificar factores pronósticos en una muestra de 2,820 pacientes con carcinomas de nasofaringe tratados con radioterapia. Sus resultados identificaron como factores pronósticos independientes el sexo, la edad, la extensión local (T), la extensión regional (N), la anemia, la trombocitosis durante la radioterapia, la disminución continua de la hemoglobina y un NLR elevado. Posteriormente crearon un índice pronóstico asignando puntuaciones a los diferentes factores pronósticos independientes.

El área bajo la curva (AUC) del índice pronóstico fue mayor que el del sistema de estadiaje TNM: 0.697 (IC 95% 0.666-0.726) y 0.619 (IC 95% 0.587-0.650), respectivamente. La diferencia entre los dos sistemas fue significativa ($z=3.555$; $p<0.001$). Concluyeron que el índice pronóstico desarrollado basado en el recuento de células hematopoyéticas tuvo una mayor eficacia de predicción de la supervivencia específica a los 5 años que el sistema TNM de estadiaje en pacientes con carcinomas nasofaríngeos.

Sun y cols³⁴ estudiaron de forma retrospectiva los parámetros hematológicos (neutrófilos, linfocitos y NLR) en 251 pacientes con carcinomas nasofaríngeos. Determinaron los puntos de corte de las variables mediante curvas ROC tanto para la supervivencia libre de progresión como para la supervivencia global. El recuento total de neutrófilos no obtuvo capacidad pronóstica significativa en ninguno de los dos análisis.

Un recuento de linfocitos por debajo de $1.5 \times 10^9/L$ ($p=0.004$) y un NLR superior o igual a 2.7 ($p=0.001$) contaron con capacidad pronóstica en relación a la supervivencia libre de progresión en el análisis univariante. El NLR mostró capacidad pronóstica independiente al ser incluido en el análisis multivariante (HR=2.01; IC 95% 1.23–3.29; $p=0.005$).

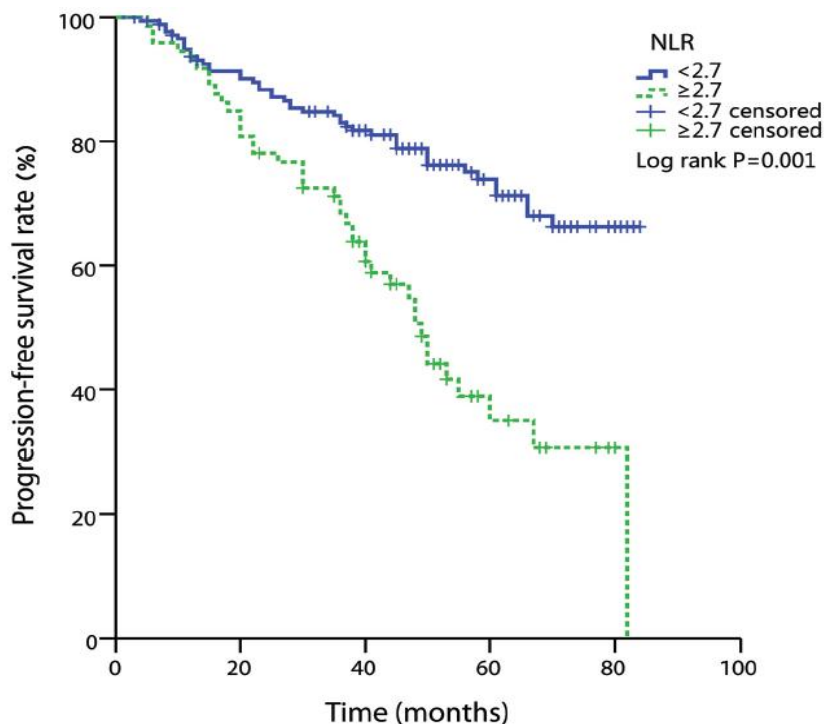


Figura 9. Curva de supervivencia libre de progresión según el valor del NLR (tomada de Sun³⁴).

En cuanto a la supervivencia global, un recuento de linfocitos por debajo de $1.5 \times 10^9/L$ ($p=0.016$) y un NLR superior o igual a 2.6 ($p=0.013$) contaron con capacidad pronóstica en el análisis univariante. Al incluir ambos en un análisis multivariante, ninguno de ellos mostró capacidad pronóstica independiente.

Posteriormente, también en carcinomas de nasofaringe, Aricigil y cols⁴⁵ estudiaron la capacidad pronóstica no sólo de los parámetros hematológicos descritos previamente, sino también de los factores pronósticos relacionados con las plaquetas, tal y como habían hecho previamente Rachidi y cols⁴⁶. Analizaron de forma retrospectiva 118 pacientes con carcinomas de nasofaringe diagnosticados entre 2006 y 2015.

Inicialmente lo compararon con un grupo control de sujetos sanos (n=120).

Features	Nasopharyngeal cancer group (n=118) (mean \pm SD)	Control group (n=120) (mean \pm SD)	P-value
Age (year)	49.22 \pm 14.5	50 \pm 9.2	0.790
Sex (male %/female %)	76.3/23.7	73.3/26.7	0.761
Mean platelet volume (fL)	7.72 \pm 1.44	10.27 \pm 1.15	0.001
Platelet count	233.656 \pm 67.951	248.233 \pm 48.885	0.299
Platelet distribution width 10 (GSD)	26.381 \pm 14.000	14.020 \pm 2.330	0.001
Plateletcrit (%)	0.523 \pm 0.790	0.824 \pm 0.950	0.126
White blood cell ($10^3/\mu\text{l}$)	6.762 \pm 2.630	6.763 \pm 1.475	0.999
Lymphocyte count	1.421 \pm 0.778	2.213 \pm 0.480	0.001
Neutrophil count	4.534 \pm 2.278	3.870 \pm 1.058	0.134
Neutrophil/lymphocyte ratio	4.293 \pm 3.320	1.793 \pm 0.500	0.001

Tabla 4. Comparación entre pacientes con carcinomas de nasofaringe y un grupo de control (tomada de Aricigil⁴⁵).

Observaron que los pacientes con cáncer de nasofaringe presentaban un mayor volumen plaquetario, una mayor amplitud de distribución plaquetaria, un menor recuento de linfocitos y un NLR más elevado que el grupo control de forma estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

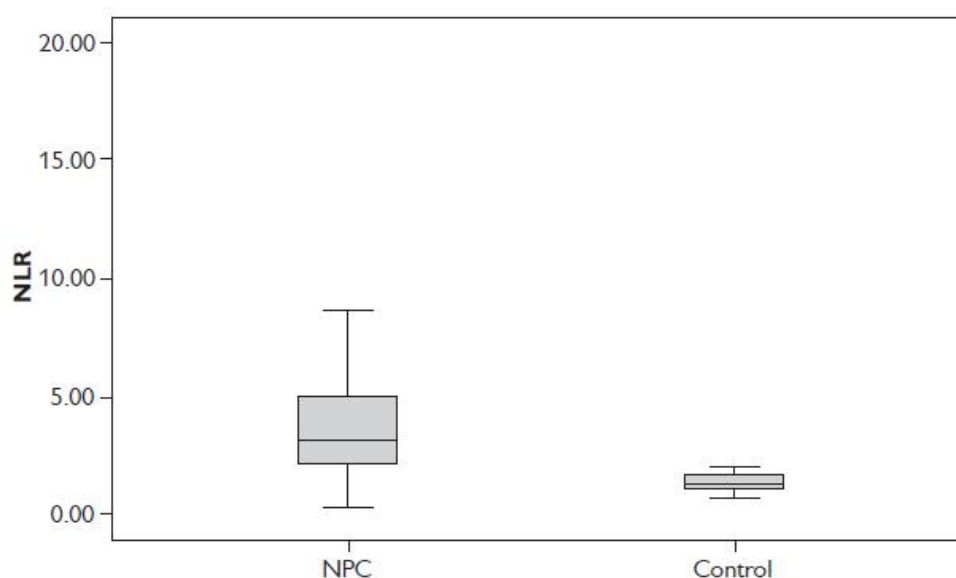


Figura 10. Mediana del NLR en el grupo de pacientes con carcinomas nasofaríngeos y en el grupo control (tomada de Aricigil⁴⁵).

Además analizaron si estos parámetros presentaban diferencias entre los pacientes con carcinomas nasofaríngeos en función de la aparición de metástasis a distancia.

Features	NPC with distant metastasis (n=24) (mean ± SD)	NPC without distant metastasis (n=94) (mean ± SD)	P-value
Age (year)	46.27 ± 17.939	49.6 ± 12.143	0.224
Sex (male %/female %)	66.7/33.3	78.7/21.3	0.768
Mean platelet volume (fL)	7.587 ± 1.010	7.575 ± 1.324	0.451
Platelet count	266.1 ± 64.347	236.7 ± 65.637	0.142
Platelet distribution width 10 (GSD)	31.87 ± 15.138	25.619 ± 14.265	0.042
Plateletcrit (%)	0.202 ± 0.680	0.586 ± 0.861	0.796
White blood cell (10 ³ /μl)	7.598 ± 3.052	6.939 ± 2.774	0.480
Lymphocyte count	1.335 ± 0.695	1.551 ± 0.886	0.142
Neutrophil count	5.544 ± 2.446	4.630 ± 2.394	0.318
Neutrophil/lymphocyte ratio	4.819 ± 2.358	4.362 ± 3.911	0.309

NPC – nasopharyngeal cancer

Tabla 5. Características clínicas y valores de los parámetros hematológicos según la presencia o no de metástasis a distancia (tomada de Aricigil⁴⁵).

Solamente la amplitud de distribución plaquetaria presentó diferencias significativas (p=0.042) en función de la existencia de diseminación de la enfermedad.

Xu y cols⁴⁷ establecieron y aplicaron nomogramas pronósticos para la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad en 1,230 pacientes con carcinomas nasofaríngeos diagnosticados entre 2009 y 2012. Consideraron además del TNM, otros posibles factores pronósticos entre los que incluían el NLR. El punto de corte de éste último fue de 2.70. Sus resultados mostraron que existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto al NLR (HR=1.53; IC95% 1.11-2.11; p=0.010).

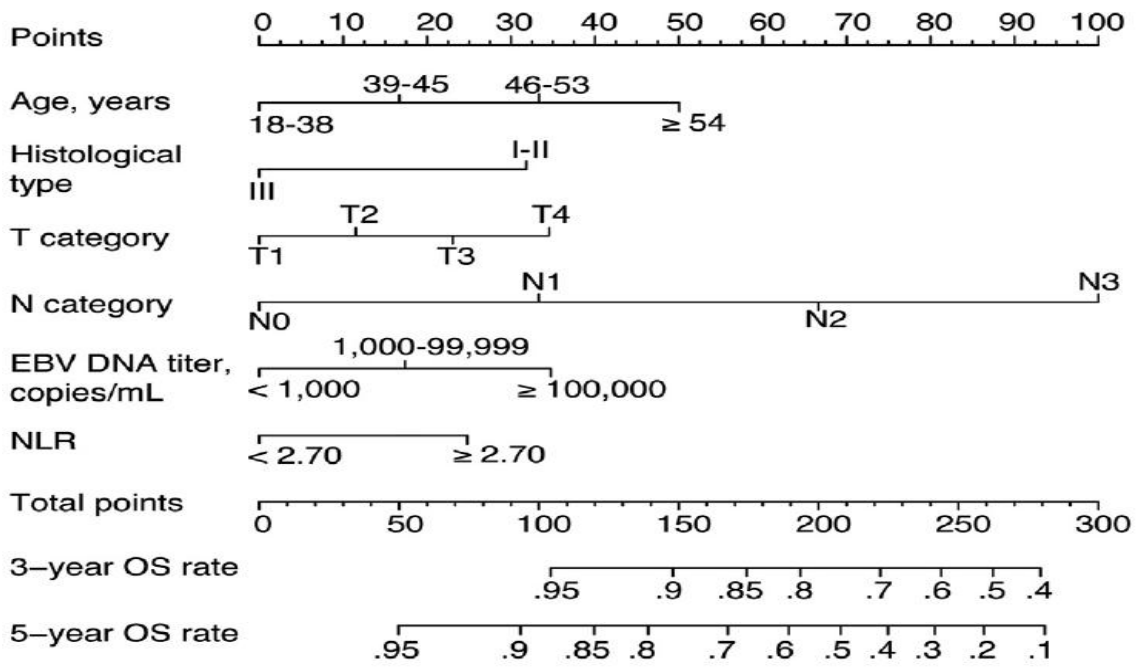


Figura 11. Nomograma pronóstico incluyendo el NLR (tomada de Xu ⁴⁷).

Observaron una excelente concordancia entre los nomogramas y las observaciones reales a los 3 y 5 años en cuanto a la supervivencia global y a la supervivencia libre de enfermedad.

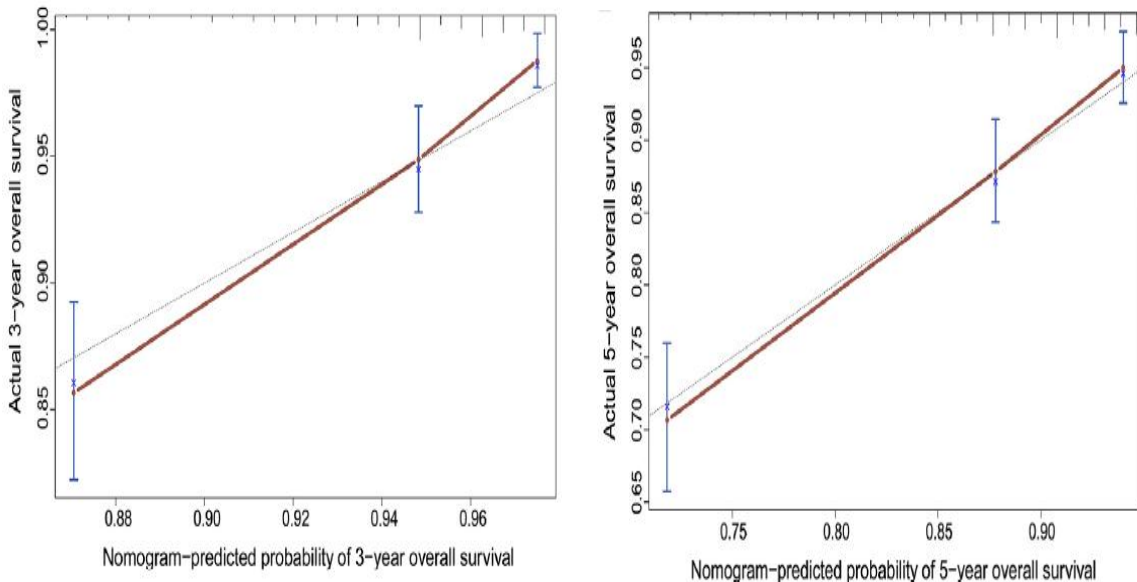


Figura 12. Diagramas de calibración de la supervivencia global a los 3 y 5 años (tomada de Xu ⁴⁷).

Además compararon la precisión pronóstica del nomograma con la de las ediciones 7ª y 8ª del sistema de estadificación TNM con respecto a la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad en pacientes con carcinomas nasofaríngeos.

El nomograma para la supervivencia global presentaba un índice c más alto que la 8ª edición del TNM (índice c=0.682, IC 95% 0.645-0.719) y que la 7ª edición (índice c=0.648, IC95% 0.608-0.688) con un valor de p no significativo de 0.063 y un valor de p significativo de 0.003, respectivamente. El nomograma para la supervivencia libre de enfermedad fue superior al de ambas ediciones del TNM; la 8ª (índice c=0.648, IC95% 0.607-0.673, p=0.041) y la 7ª (índice c=0.618, IC95% 0.585-0.651, p=0.003).

Posteriormente realizaron un análisis de partición recursiva (RPA), donde el NLR se retuvo en el modelo junto con la edad, la categoría N y el título de DNA del virus Epstein-Barr, creando los siguientes grupos de riesgo:

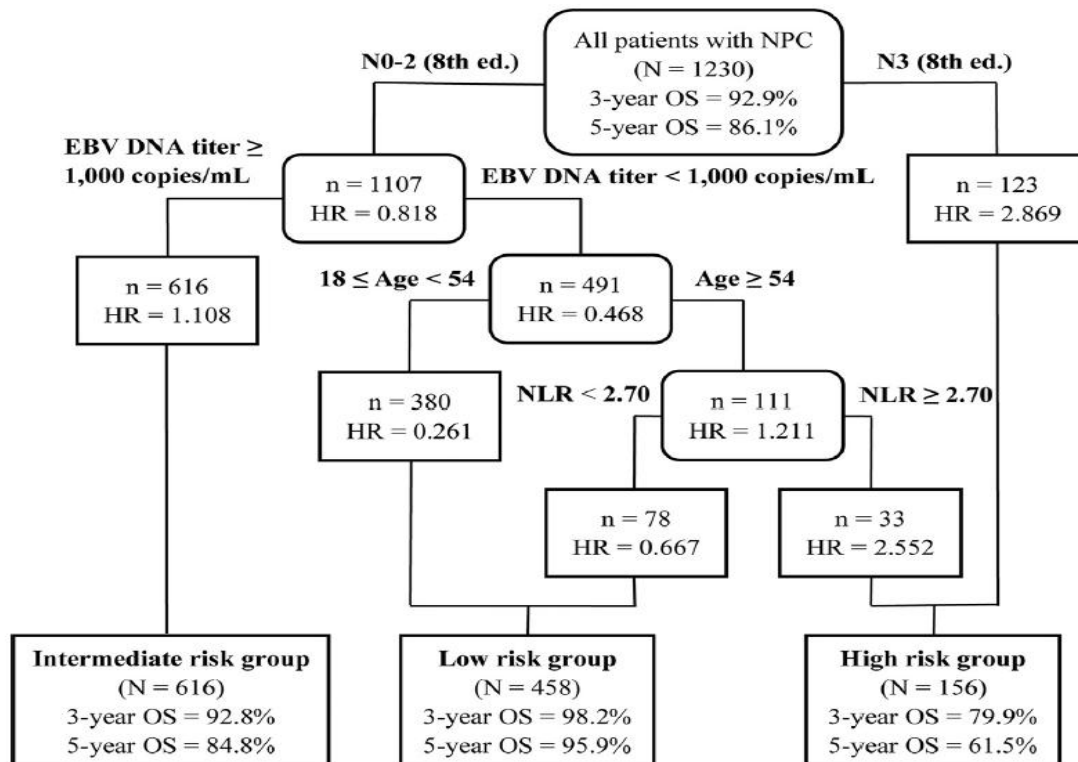


Figura 13. Estratificación de los pacientes en grupos de riesgo mediante un RPA (tomada de Xu⁴⁷).

La siguiente figura muestra la supervivencia global en función de los grupos de riesgo definidos mediante el RPA.

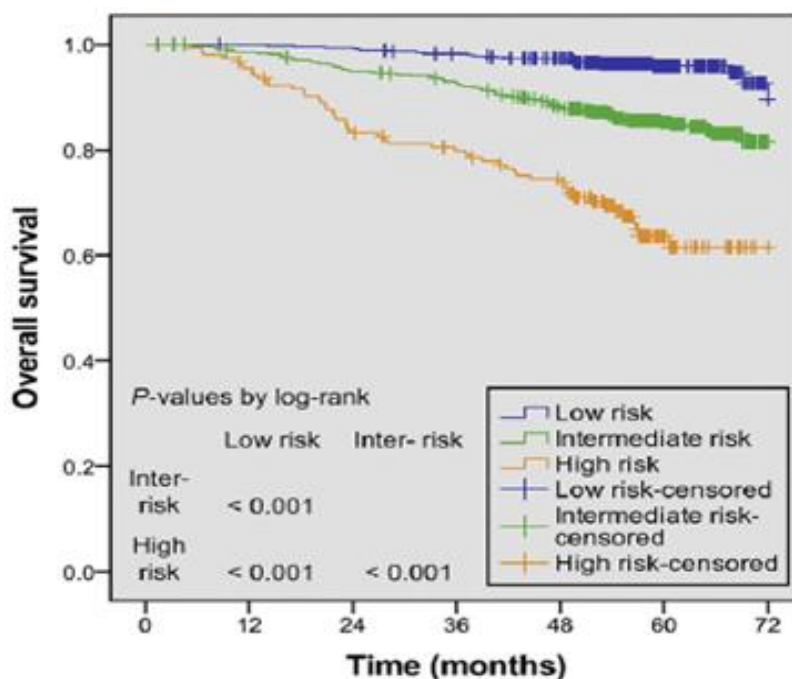


Figura 14. Supervivencia global según los grupos de riesgo definidos por el RPA (tomada de Xu⁴⁷).

Carcinomas de cavidad oral:

Perisanidis y cols³⁵ mostraron en su estudio cómo un NLR elevado actuaba como marcador independiente de una menor supervivencia específica en pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral. Seleccionaron 97 pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral tratados con quimioterapia neoadyuvante y posterior resección quirúrgica.

Mediante curvas ROC seleccionaron los puntos de corte del NLR y del recuento absoluto de neutrófilos y linfocitos más adecuados para predecir la mortalidad específica por cáncer. Para el NLR fue 1.9, para los neutrófilos $4.5 \times 10^9/L$ y para los linfocitos $1.9 \times 10^9/L$. El NLR (log-rank $p=0.018$) mostró un impacto significativo en la supervivencia específica, no así el recuento de neutrófilos (log-rank $p=0.086$) ni el de linfocitos (log-rank $p=0.073$).

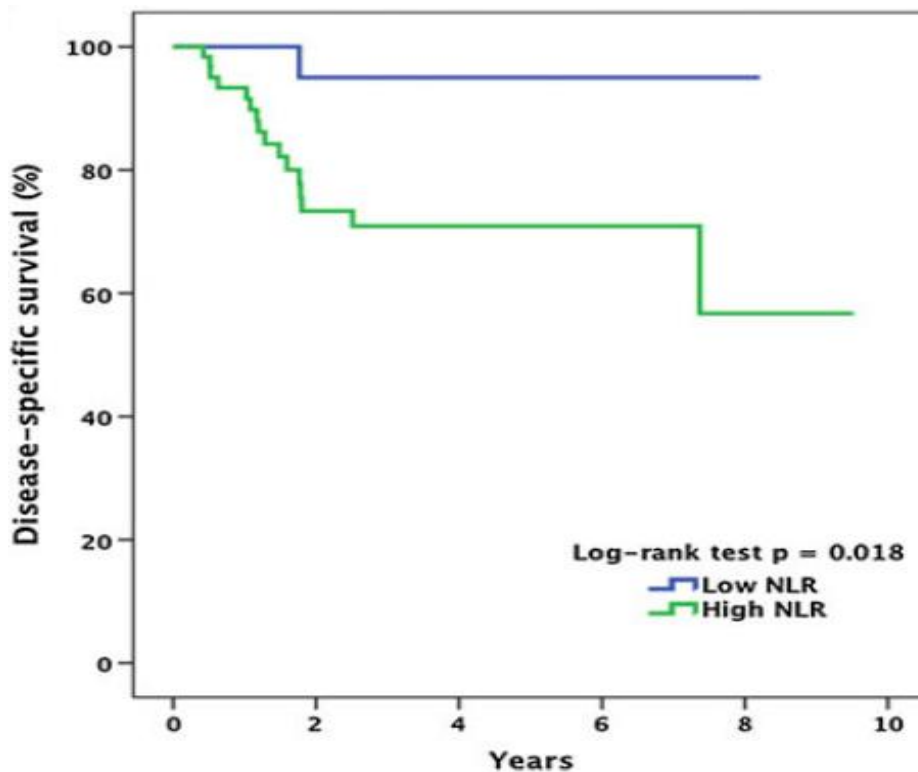


Figura 15. Supervivencia específica en función del NLR (tomada de Perisanidis³⁵).

En el análisis multivariante el NLR mantuvo su capacidad pronóstica de forma independiente (HR 10.37, IC 95% 1.28-84.08, p=0.029).

Tsai y cols³⁶, también en carcinomas de cavidad oral, analizaron la capacidad pronóstica no sólo del NLR, sino también del recuento total de leucocitos, neutrófilos, monocitos y linfocitos. Realizaron un estudio retrospectivo en 202 pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral. Utilizaron como punto de corte la mediana de los diferentes recuentos, y en el caso del NLR, el punto de corte previamente descrito por Dutta y cols⁴⁸.

En el análisis univariante sólo el recuento de monocitos ($>403 \times 10^9/L$) mostró asociación significativa con la supervivencia específica (p=0.003). Posteriormente, en el análisis multivariante, mantuvo la capacidad pronóstica (HR=7.93, IC 95% 1.43-14.04, p=0.014).

En las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier se observó como los pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral que presentaban un recuento elevado de monocitos tenían una supervivencia significativamente menor que los pacientes con un recuento bajo ($p=0.0002$).

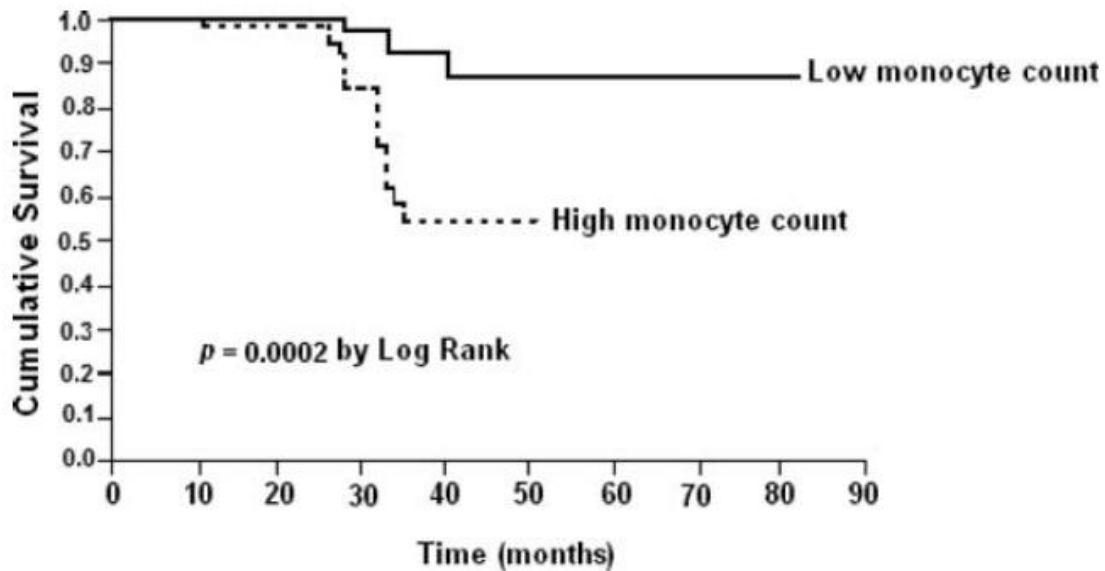


Figura 16. Curvas de supervivencia según el recuento de monocitos (tomada de Tsai³⁶).

Lee y cols⁴⁹ analizaron 396 pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral de forma retrospectiva con el objetivo de comparar el rendimiento pronóstico de la estadificación mediante el TNM con una nueva escala de estadificación que incorpora el NLR y las características histopatológicas tales como el grosor tumoral, la extensión extracapsular, el grado histológico, el estado de los márgenes y la invasión perineural. En el análisis multivariante sólo la invasión perineural, el NLR y los estadios avanzados de T y N (T3+T4 y N2) mantuvieron su capacidad pronóstica.

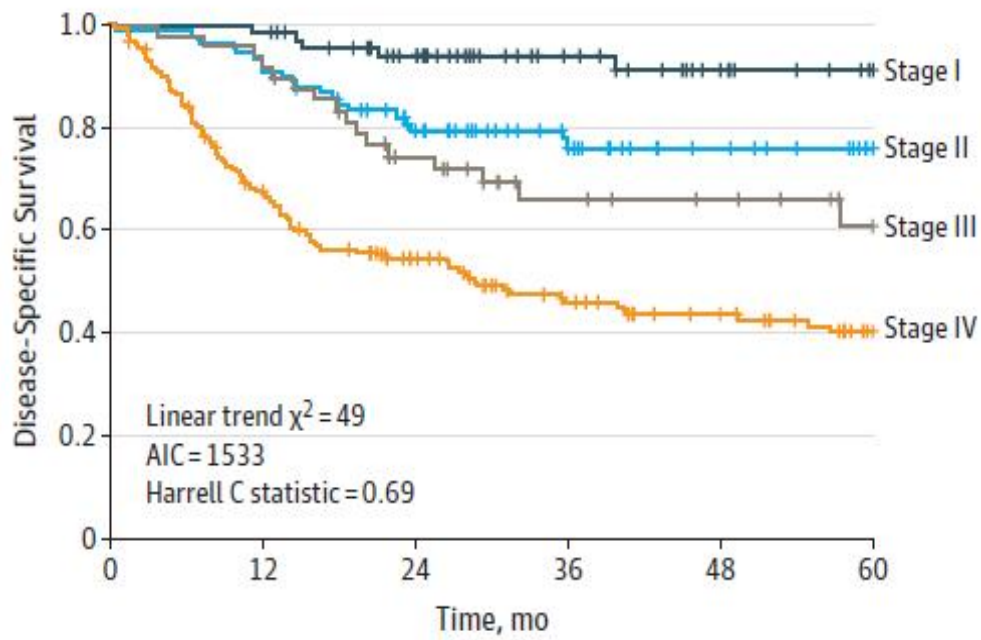
Variable	β Coefficient	aHR (95% CI)	Risk Score
High NLR (>2.37)	0.56	1.74 (1.23-2.46)	1
Perineural invasion	0.47	1.60 (1.11-2.30)	1
Advanced			
pT (T3 + T4)	0.47	1.59 (1.13-2.25)	1
pN (N2)	1.38	3.96 (2.78-5.63)	3

Tabla 6. Hazard ratios y coeficientes β para la supervivencia específica a los 5 años (tomada de Lee⁴⁹).

Con estas variables crearon una nueva escala de estadificación, la cual presentaba una mejor monotonidad, con un valor χ^2 de tendencia lineal mayor que el obtenido con el TNM (106 vs 49).

Comparado con el TNM, la nueva escala de estadificación también obtuvo una mejor capacidad discriminativa para la supervivencia específica a los 5 años, con un criterio de información de Akaike (AIC) más pequeño (1497 vs 1533) y un estadístico C de Herrell mayor (0.73 vs 0.69). Concluyeron que esta nueva estadificación aportaba una mejor clasificación que el TNM en los pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral.

AJCC staging system



New staging category

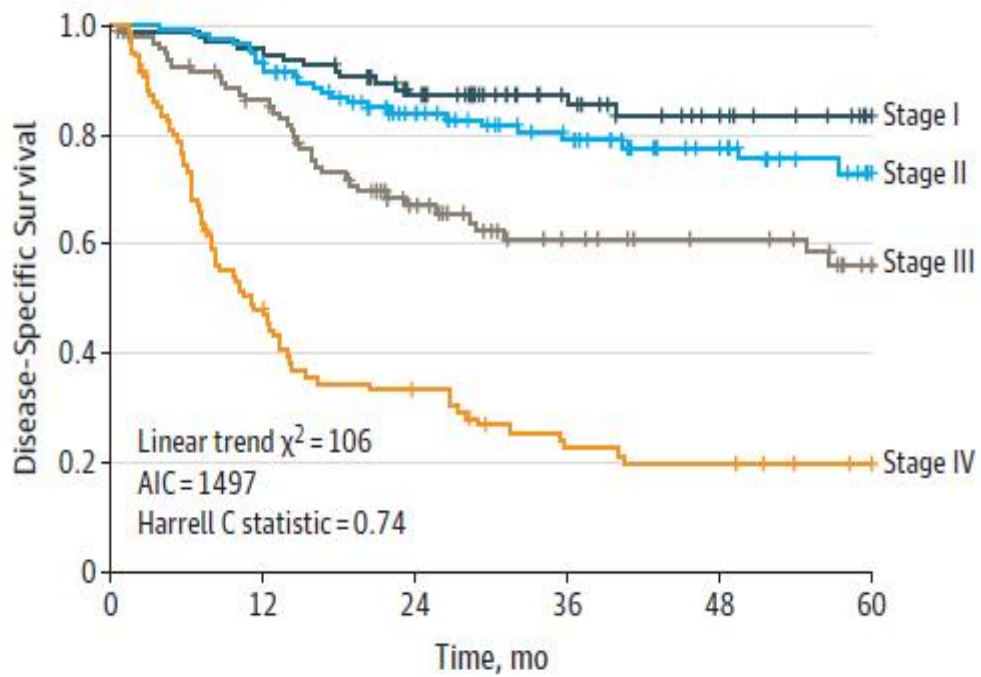


Figura 17. Curvas de Kaplan-Meier para la supervivencia específica a los 5 años comparando la clasificación de la AJCC (TNM) y la nueva escala de estadificación (tomada de Lee⁴⁹).

Carcinomas de orofaringe:

Young y cols³⁷ analizaron la capacidad pronóstica del NLR en 249 pacientes con carcinomas escamosos de orofaringe tratados con quimio-radioterapia con intención curativa. Consideraron como punto de corte del NLR aquel más citado en la bibliografía, que fue 5.0.

	LOCAL CONTROL*	REGIONAL CONTROL*	LOCOREGIONAL CONTROL*	DISTANT CONTROL*	DFS (INCLUDES DEATH AS EVENT)	OS
	<i>P value</i>					
Gender M vs F	0.450	0.115	0.113	0.579	0.331	0.213
Grade 1/2 vs 3	0.150	0.905	0.106	0.366	0.04	0.017
T stage 1/2 vs 3/4	0.000	0.174	0.000	0.020	0.000	0.000
N stage 0/1 vs 2/3	0.718	0.089	0.775	0.550	0.4290	0.226
No. concurrent cycles of chemotherapy 0/1 vs 2/3	0.099	0.249	0.149	0.605	0.117	0.133
Induction chemotherapy None vs induction	0.019	0.028	0.011	0.568	0.602	0.957
NLR <5 vs ≥ 5	0.000	0.019	0.001	0.042	0.012	0.017
PLR ≤150 vs >150 vs >300	0.073	0.894	0.457	0.520	0.187	0.043
Smoking status Non-smoker vs ex/current	0.207	0.146	0.113	0.012	0.043	0.053

Tabla 7. Análisis univariante (tomada de Young³⁷).

Como se observa en la tabla, el NLR mostró asociación estadísticamente significativa con el control local, regional, loco-regional, a distancia, con la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global.

A continuación se muestran las curvas de supervivencia de control local, regional y a distancia y de supervivencia global en relación con el NLR.

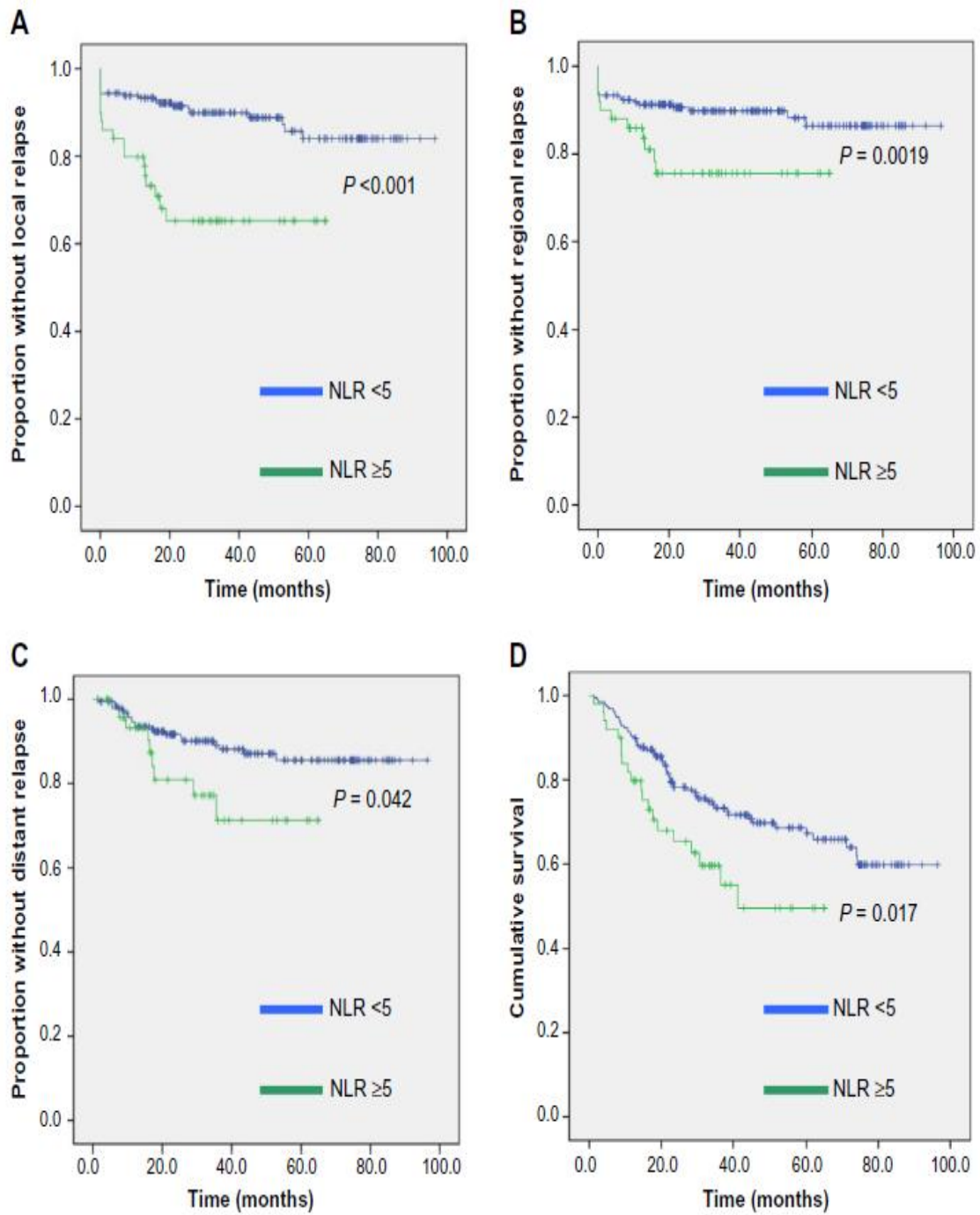


Figura 18. Curvas de supervivencia de control local (A), control regional (B), control a distancia (C) y de supervivencia global (D) de acuerdo con el valor del NLR (tomada de Young³⁷).

En el análisis multivariante la capacidad pronóstica independiente del NLR sólo se obtuvo en cuanto a control local, regional y loco-regional.

VARIABLE	HAZARD RATIO	95% CONFIDENCE INTERVAL	P VALUE
Local control			
T stage 3/4 vs 1/2	3.958	1.609–9.736	0.003
NLR \geq 5 vs $<$ 5	2.516	1.262–5.017	0.009
Regional control			
NLR \geq 5 vs $<$ 5	2.762	1.286–5.933	0.009
Locoregional control			
T stage 1/2 vs 3/4	3.263	1.536–6.929	0.002
NLR $<$ 5 vs \geq 5	2.072	1.105–3.886	0.023
Distant control			
T stage 3/4 vs 1/2	2.959	1.181–7.416	0.021
Overall survival			
Grade 3 vs 1/2	0.613	0.378–0.995	0.048
T stage 3/4 vs 1/2	2.474	1.453–4.210	0.001

Tabla 8. Análisis multivariante (tomada de Young³⁷).

Huang y cols²² analizaron en pacientes con carcinomas escamosos de orofaringe el valor pronóstico del recuento de neutrófilos, monocitos y linfocitos en sangre periférica estratificando según el estatus del Virus del Papiloma Humano (HPV).

Analizaron la supervivencia global y la supervivencia libre de recidiva en 702 pacientes con carcinomas escamosos de orofaringe (510 HPV positivos y 192 HPV negativos). Utilizaron la mediana del recuento de neutrófilos, monocitos y linfocitos para separar los pacientes en dos grupos (recuento elevado vs recuento bajo) tanto en los pacientes HPV positivos como en los HPV negativos.

En los pacientes HPV positivos se observó una peor supervivencia global y libre de recidiva en el grupo de pacientes con un recuento elevado tanto de neutrófilos como de monocitos. Los pacientes con un recuento elevado de linfocitos mostraron una mejor supervivencia libre de recidiva, pero no obtuvieron resultados estadísticamente significativos en cuanto a la supervivencia global.

En el análisis multivariante tanto el recuento elevado de neutrófilos como de monocitos se asociaron con un mayor riesgo de mortalidad y de recidiva; y el recuento elevado de linfocitos se asoció con un menor riesgo de mortalidad y de recidiva.

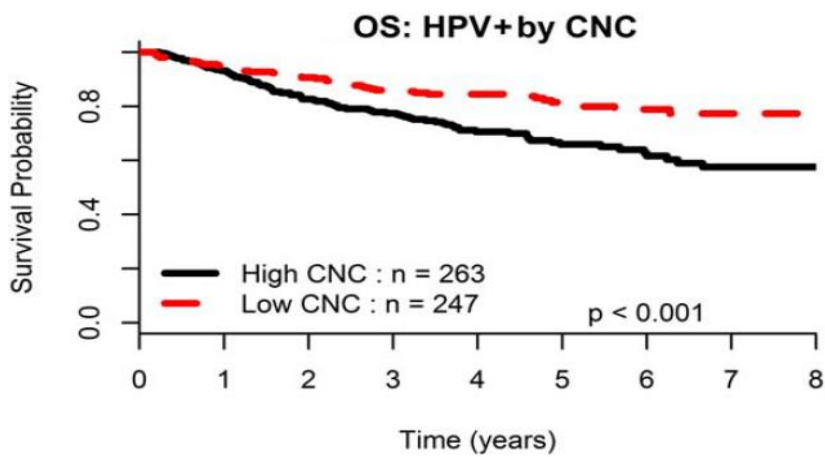


Figura 19. Curvas de supervivencia global según el recuento de neutrófilos en los pacientes HPV positivos (tomada de Huang²²).

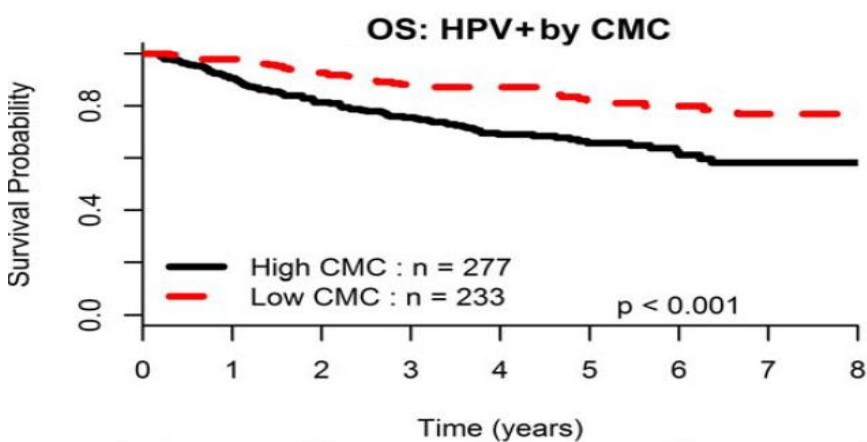


Figura 20. Curvas de supervivencia global según el recuento de monocitos en los pacientes HPV positivos (tomada de Huang²²).

En los pacientes HPV negativos se observó el mismo resultado en relación al recuento elevado de neutrófilos, pero el recuento elevado de monocitos sólo mostró una ligera reducción en la supervivencia global y libre de recidiva de forma no significativa, y no se obtuvieron diferencias en supervivencia en relación al recuento de linfocitos.

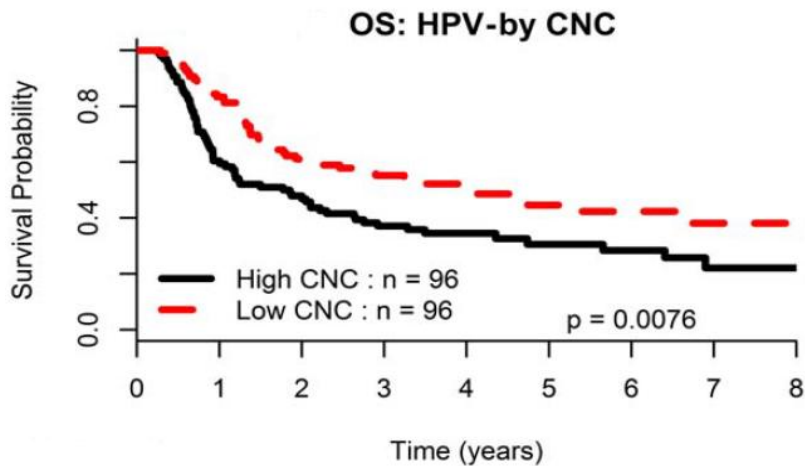


Figura 21. Curvas de supervivencia global según el recuento de neutrófilos en los pacientes HPV negativos (tomada de Huang²²).

En cambio en el análisis multivariante ninguno de los recuentos mostró capacidad pronóstica independiente ni en supervivencia global ni en supervivencia libre de recidiva.

En este estudio el valor pronóstico de los recuentos de neutrófilos, monocitos y linfocitos no pudo ser demostrado en los pacientes HPV negativos. Este hallazgo podría justificarse en parte por la mayor variación en la cifra de leucocitos en este grupo de pacientes (asociado probablemente a la inflamación que produce el consumo de tabaco) y/o el tamaño de muestra más pequeño. Es también plausible que la respuesta inmune juegue un papel más importante en la carcinogénesis de los tumores relacionados con virus en comparación con los tumores relacionados con el consumo de tabaco.

También en carcinomas de orofaringe, Gouw y cols⁵⁰ analizaron la capacidad pronóstica del recuento absoluto de leucocitos. Seleccionaron 234 pacientes con carcinomas de orofaringe tratados con radioterapia o quimio-radioterapia con intención radical. Consideraron leucocitosis un recuento absoluto de leucocitos por encima de $10.5 \times 10^9/L$.

Comparado los pacientes con leucocitosis con aquellos sin leucocitosis, la supervivencia global a los 3 años fue del 50% (IC95% 34–66%) vs 81% (IC95% 75–87%) ($p < 0.001$), y la supervivencia libre de enfermedad a los 3 años del 31% (IC95% 16–46%) vs 71% (IC95% 64–78%) ($p < 0.001$), respectivamente.

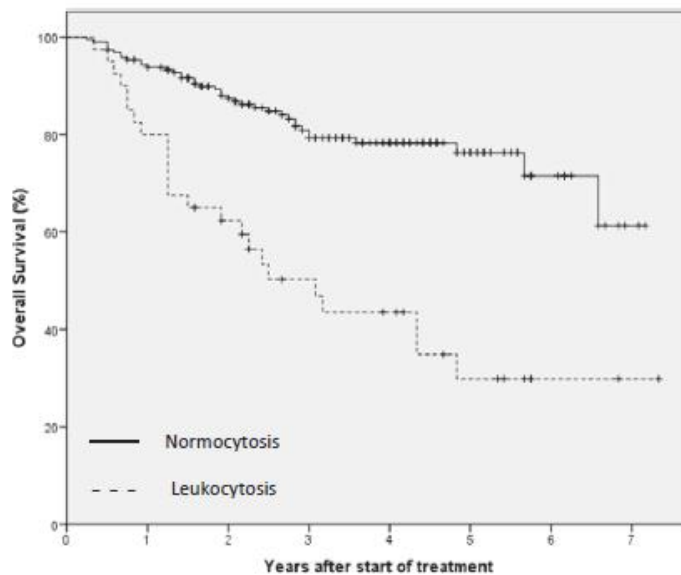


Figura 22. Supervivencia global en función de la presencia de leucocitosis (Tomada de Gouw⁵⁰).

Posteriormente diferenciaron a los pacientes en función del estatus HPV y analizaron de nuevo la supervivencia global y libre de enfermedad en función de la presencia de leucocitosis.

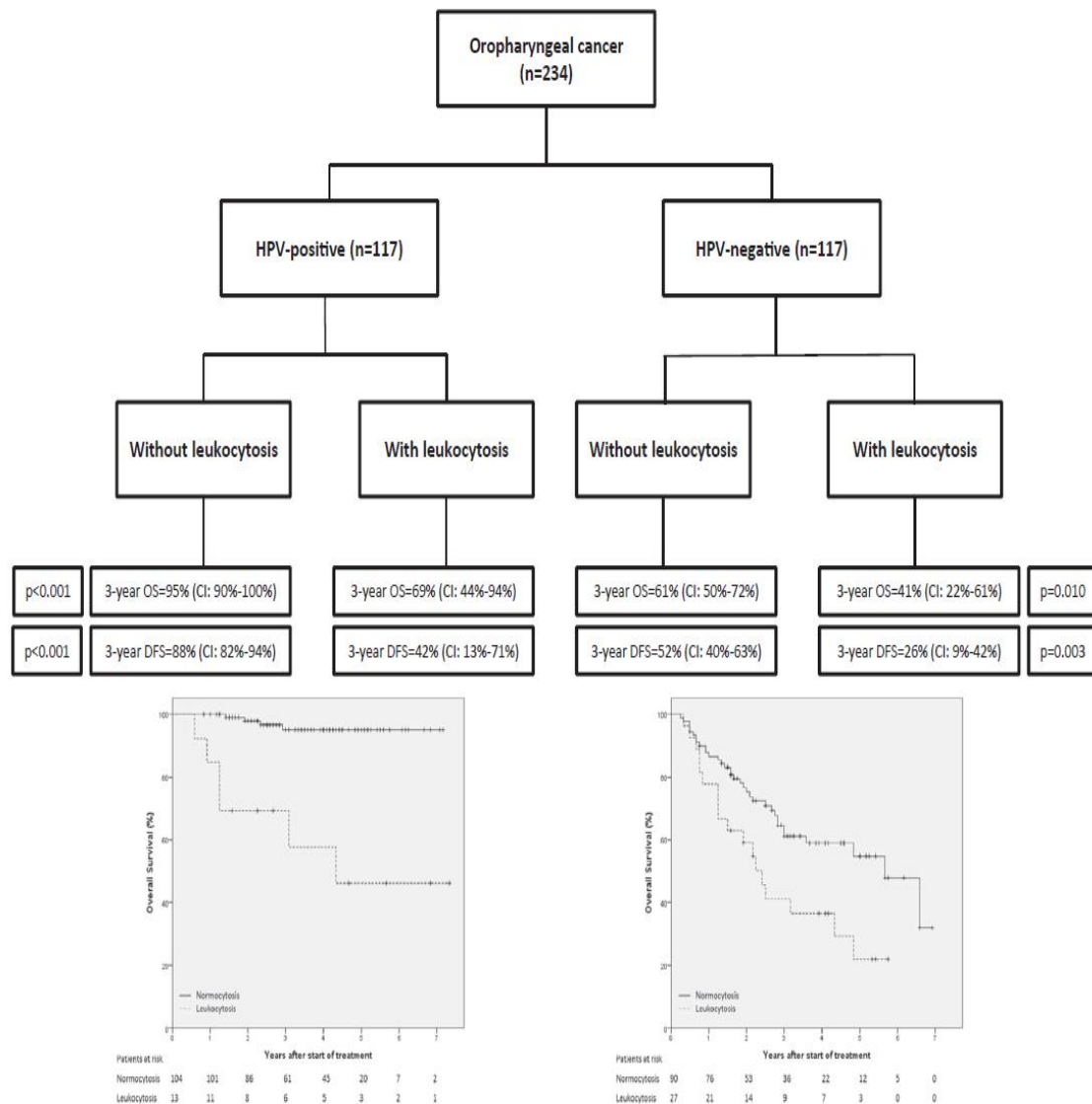


Figura 23. Supervivencia global (OS) y libre de enfermedad (DFS) en función del estatus HPV y la presencia de leucocitosis (Tomada de Gouw⁵⁰).

Sus resultados muestran como el impacto de la leucocitosis en el pronóstico en los pacientes con carcinomas escamosos de orofaringe es más pronunciado en el grupo de pacientes HPV positivos.

Realizaron dos análisis multivariantes considerando la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad como variables dependientes respectivamente, observando que el recuento absoluto de leucocitos y el estatus HPV mantenían su capacidad pronóstica de forma independiente.

Analizaron también de forma conjunta el estatus HPV y el recuento absoluto de leucocitos, obteniendo 4 grupos de pacientes: HPV positivos sin leucocitosis, HPV positivos con leucocitosis, HPV negativos sin leucocitosis y por último, HPV negativos con leucocitosis.

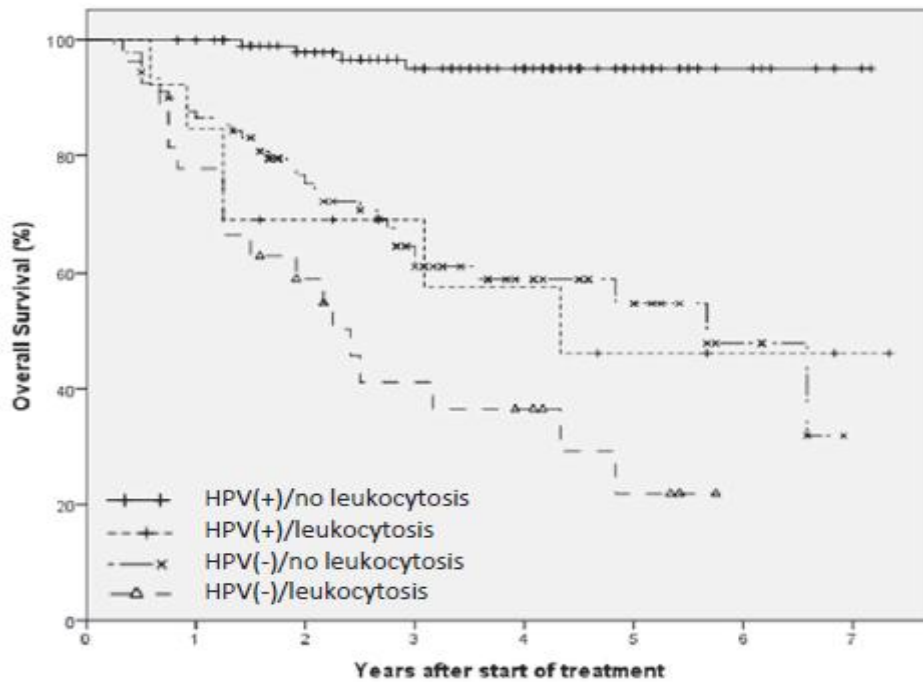


Figura 24. Supervivencia global en función del estatus HPV y la presencia de leucocitosis analizados de forma conjunta (Tomada de Gouw⁵⁰).

El grupo de pacientes HPV positivos sin leucocitosis obtuvo los mejores resultados en cuanto a supervivencia global (95%) y el grupo de pacientes HPV negativos con leucocitosis los peores resultados (41%). Los dos grupos restantes (HPV positivos con leucocitosis y HPV negativos sin leucocitosis) obtuvieron resultados intermedios.

Carcinomas de laringe:

Wong y cols³⁸, analizaron de forma retrospectiva la capacidad pronóstica del NLR en 140 pacientes diagnosticados de carcinomas escamosos sólo de localización laríngea. Estudiaron la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global clasificando a los pacientes mediante el cuartil del NLR.

Un NLR elevado (por encima del cuartil más alto: $NLR > 3.10$) se asoció con una peor supervivencia global ($p=0.014$) pero no con la supervivencia libre de enfermedad ($p=0.351$).

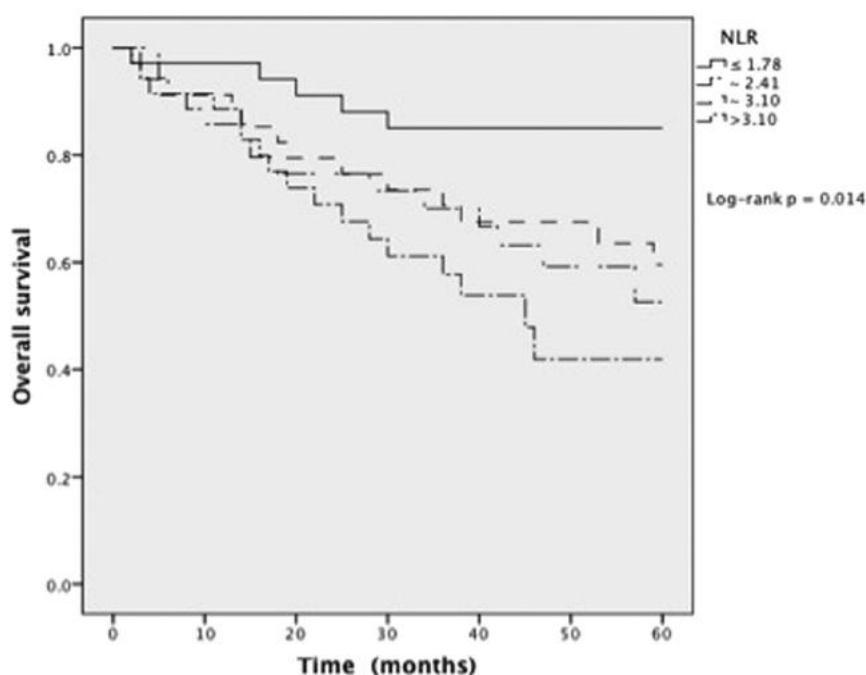


Figura 25. Supervivencia global según el valor del NLR (tomada de Wong³⁸).

El NLR se asoció con la supervivencia global (HR=3.00, IC 95% 1.28-6.97, $p=0.01$) en el análisis univariante, pero no con la supervivencia libre de enfermedad. En el análisis multivariante, el NLR mantuvo su capacidad pronóstica independiente; los pacientes en el cuartil más elevado del NLR tenían una supervivencia global significativamente menor comparado con el cuartil más bajo (HR=3.06; IC 95% 1.08-8.67, $p=0.04$).

Tumores de senos paranasales:

Turri-Zanoni y cols³⁹ analizaron el valor pronóstico del NLR en 215 pacientes con tumores de los senos paranasales (diferentes histologías) tratados mediante cirugía endoscópica nasosinusal. Los puntos de corte fueron determinados mediante curvas ROC; estos fueron 5.56 para la supervivencia global y 2.6 para la supervivencia libre de enfermedad.

Sus resultados muestran que los pacientes con tumores epiteliales (adenocarcinomas y carcinomas) que tienen un NLR más elevado presentan una supervivencia global y libre de enfermedad significativamente menor.

Histology	5-y OS		p value
	NLR <5.56	NLR ≥5.56	
ADC	82.2% ± 5%	57.1% ± 16.4%	.01*
Carcinoma	86.7% ± 5.2%	17.1% ± 15.5%	.0004*
ONB	100%	100%	NA
Melanoma	61.3% ± 16.7%	100%	.25
Miscellanea	95.6% ± 4.2%	NA	NA

Tabla 9. Supervivencia global a los 5 años según el valor del NLR (tomada de Turri-Zanoni³⁹).

En el análisis multivariante se pudo comprobar cómo el NLR es un factor pronóstico independiente para la supervivencia libre de enfermedad pero no para la supervivencia global. Los pacientes con NLR <2.6 mostraron un menor riesgo de recidiva (HR=0.39; IC 95% 0.20-0.76; p=0.02).

Carcinomas escamosos de cabeza y cuello de diferentes localizaciones:

Rassouli y cols⁴⁰, estudiaron el NLR como factor pronóstico en 273 pacientes con CECC (faringe, laringe, cavidad oral, nariz, senos paranasales y glándulas salivales). Utilizaron un RPA para encontrar los puntos de corte que clasifican a los pacientes en diferentes grupos de riesgo en relación a la mortalidad específica y al riesgo de recurrencia. En su estudio, un NLR ≥ 4.27 predijo una proporción más elevada de recurrencia ($p < 0.0001$).

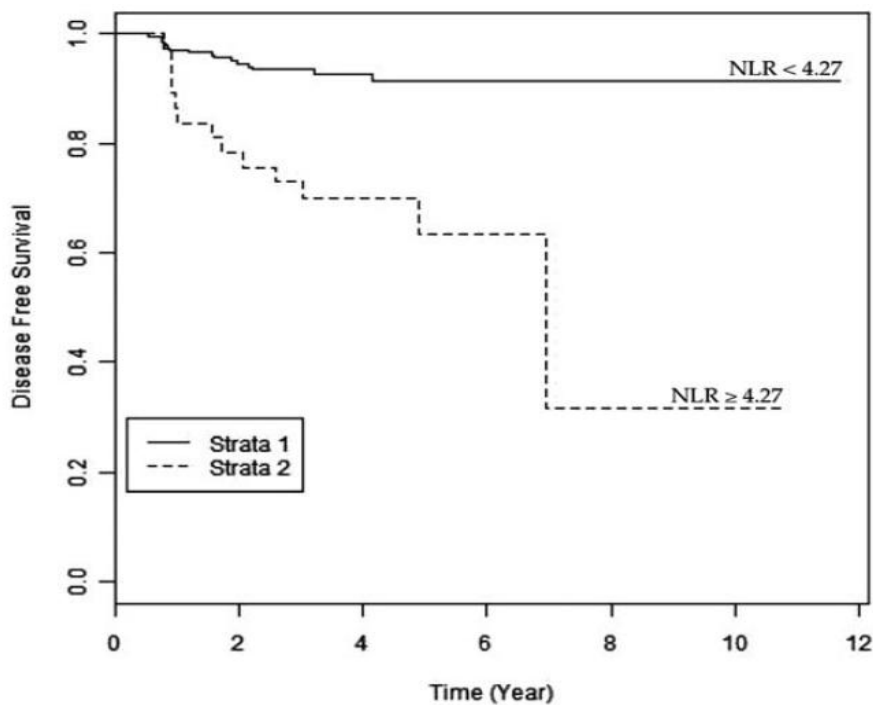


Figura 26. Curvas de supervivencia libre de enfermedad según el valor del NLR (tomada de Rassouli⁴⁰).

Haddad y cols⁴¹ analizaron la asociación entre el NLR y el resultado clínico en pacientes con CECC localmente avanzado tratados con quimio-radioterapia radical. Estudiaron la supervivencia global, libre de metástasis y libre de recidiva loco-regional. Su muestra fue de 46 pacientes. Seleccionaron como puntos de cortes del NLR 5.0 (como estudios previos realizados por otros autores) y 3.3 (mediana de su serie).

La supervivencia global a los 2 años de los pacientes con $NLR \geq 5.0$ respecto los pacientes con $NLR < 5.0$ fue de 89% vs 61% ($p=0.017$). La supervivencia libre de metástasis fue de 84% vs 64% ($p=0.083$), y la supervivencia libre de recidiva loco-regional del 81% vs 70% ($p=0.17$). Cuando se analizó con la mediana del NLR (3.3) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

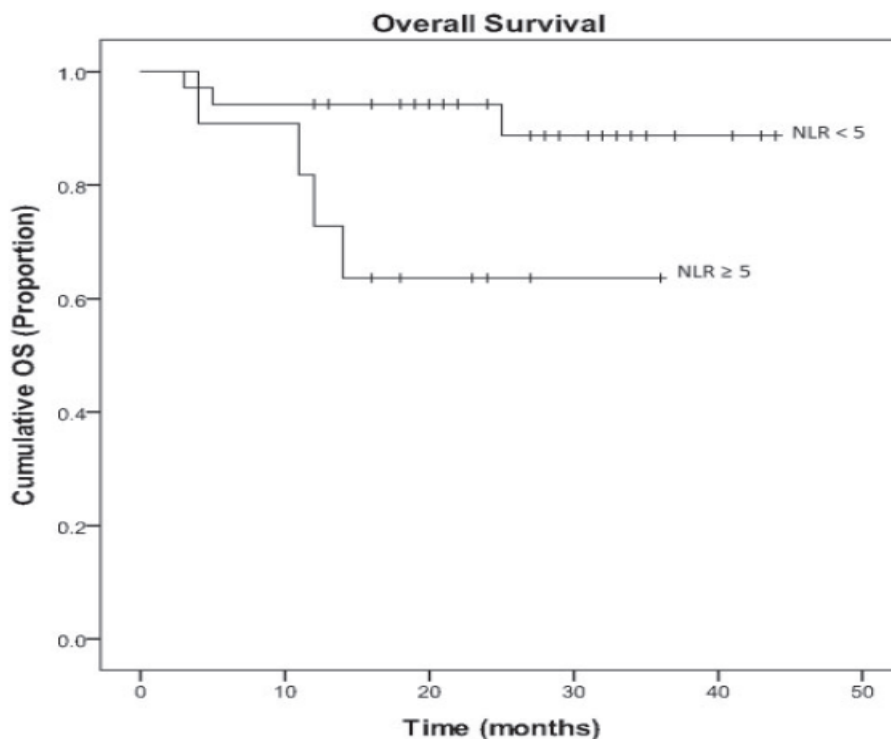


Figura 27. Supervivencia global en función del NLR (tomada de Haddad⁴¹).

Los autores defienden que sólo han encontrado resultados con el punto de corte $NLR \geq 5.0$ porque un mayor NLR reflejaría tanto la mortalidad por cáncer como por otras causas, dado que el NLR también se ha definido como predictor de supervivencia en la mortalidad de causa cardíaca⁵¹.

Posteriormente, Rachidi y cols¹⁸ realizaron un estudio en pacientes con CECC (cavidad oral, faringe y laringe) para analizar la relación entre los diferentes parámetros hematológicos (neutrófilos, linfocitos y NLR) y la supervivencia. La muestra contó con 543 pacientes. Separaron a los pacientes en terciles según el recuento de los parámetros hematológicos y estudiaron su asociación con la supervivencia global.

Encontraron que los recuentos de neutrófilos y linfocitos se correlacionaban de forma inversa ($r=-0.11$, $p=0.009$).

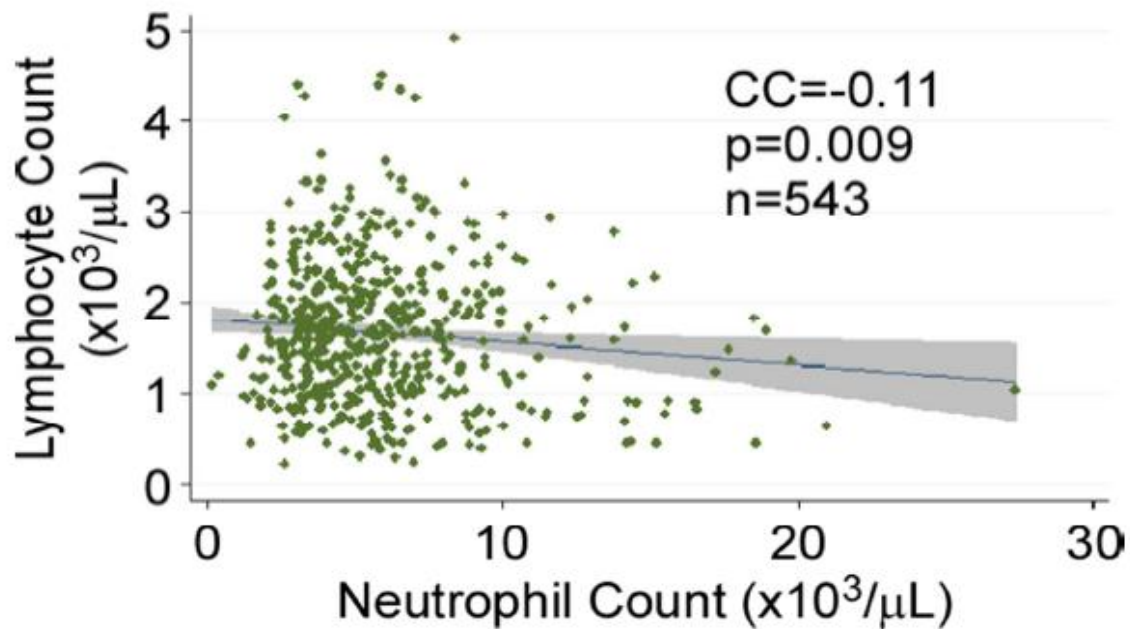


Figura 28. Correlación entre el recuento de neutrófilos y el de linfocitos (tomada de Rachidi¹⁸).

Además, cuanto mayor fuera el tercil de la categoría recuento de neutrófilos, peor era la supervivencia global.

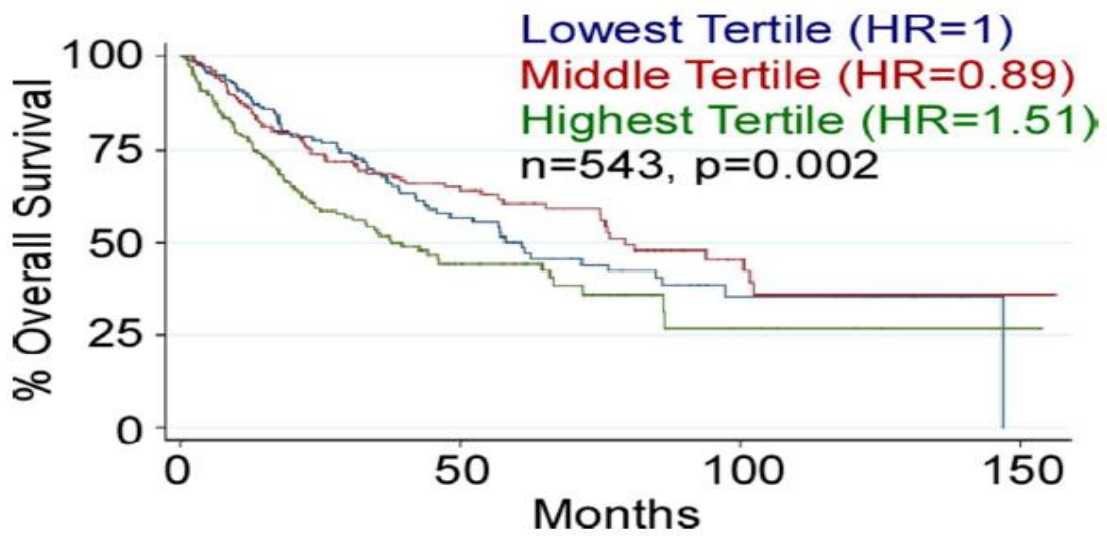


Figura 29. Supervivencia global según el tercil del recuento de neutrófilos (tomada de Rachidi ¹⁸).

En relación a los linfocitos, los resultados son en la dirección inversa; aquellos con un tercil menor en el recuento de linfocitos, contaron con una menor supervivencia global.

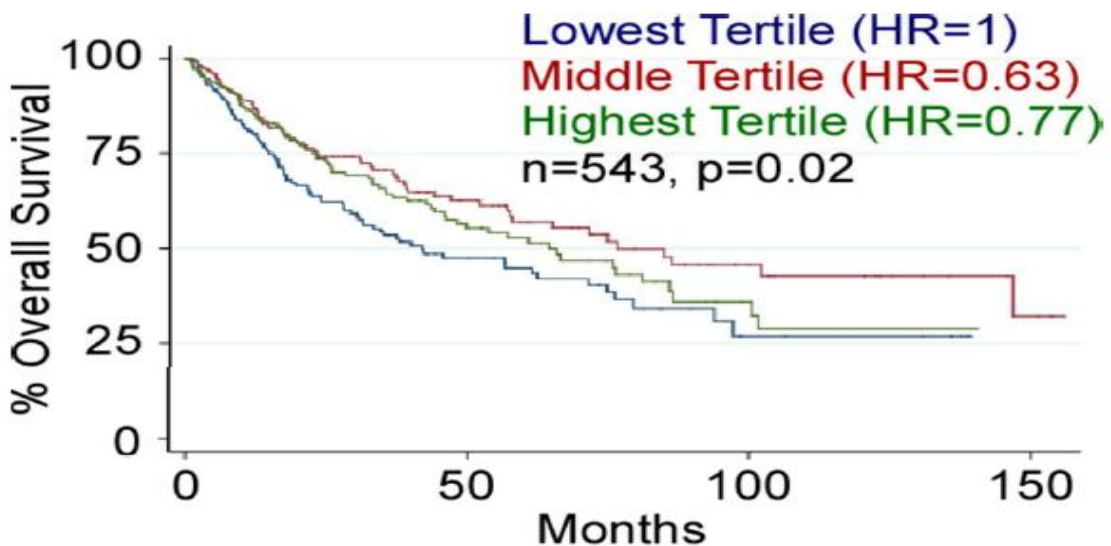


Figura 30. Supervivencia global según el tercil del recuento de linfocitos (tomada de Rachidi ¹⁸).

Por último, los pacientes con un NLR elevado, presentaban una peor supervivencia global que los pacientes con NLR en los terciles medio e inferior.

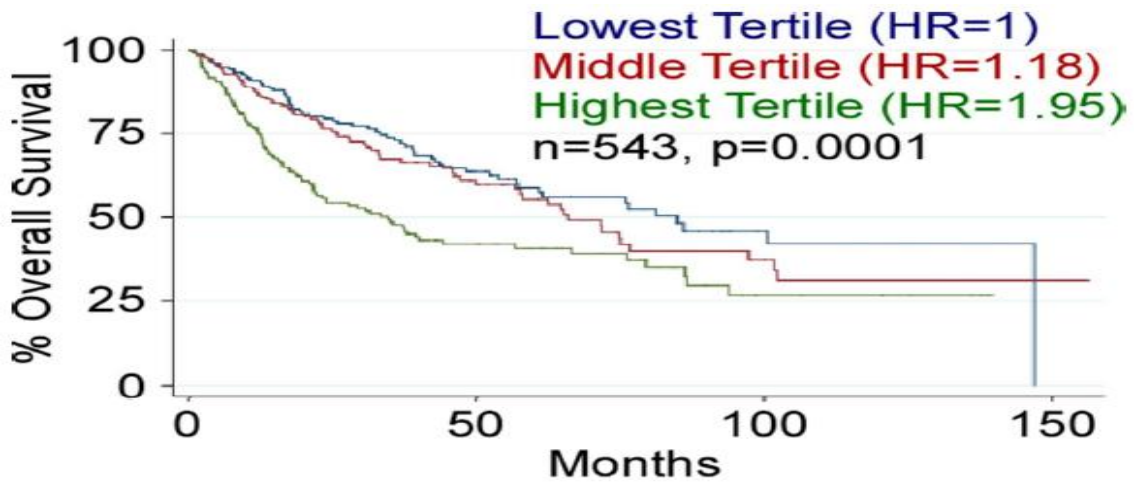


Figura 31. Supervivencia global según el tercil del NLR (tomada de Rachidi ¹⁸).

También analizaron el valor del NLR según el estatus HPV, obteniendo diferencias estadísticamente significativas. Los pacientes HPV positivos (NLR=2.73) contaron con un NLR menor que los HPV negativos (NLR=4.75, p=0.039).

Los pacientes HPV positivos con un NLR en el tercil más elevado, contaron con una menor supervivencia global respecto los HPV positivos con un NLR en los terciles menores (p=0.083).

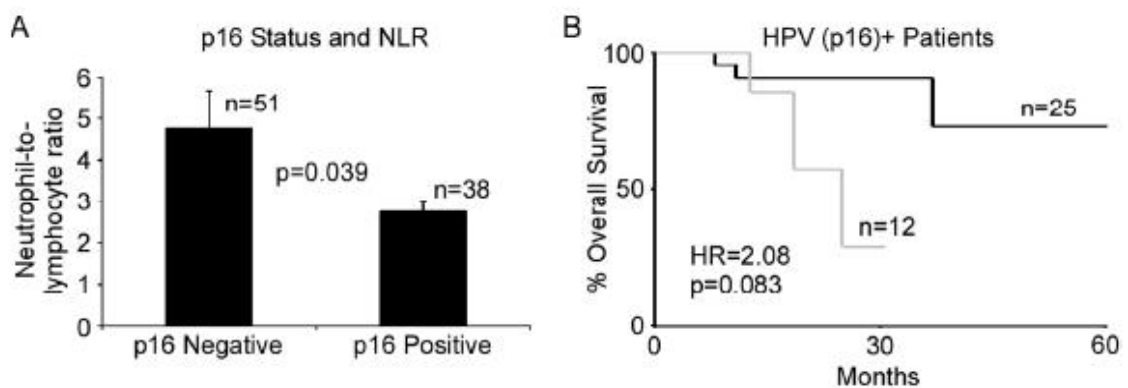


Figura 32. Valores del NLR en función del status HPV (A) y supervivencia global en función de los terciles del NLR en pacientes HPV positivos (B) (tomada de Rachidi ¹⁸).

En 2016, Kano y cols⁴² analizaron el valor pronóstico del NLR en pacientes con CECC (orofaringe, hipofaringe y laringe) tratados con quimio-radioterapia con intención radical. Realizaron un estudio retrospectivo, con una muestra de 285 pacientes con carcinomas escamosos de las localizaciones especificadas previamente. Seleccionaron los puntos de corte de los diferentes ratios mediante curvas ROC; en el caso del NLR el punto de corte fue de 1.92. Sus resultados muestran que un NLR elevado se relaciona de forma significativa con una peor supervivencia global y libre de enfermedad. Al realizar un análisis multivariante, el NLR no mostró capacidad pronóstica independiente.

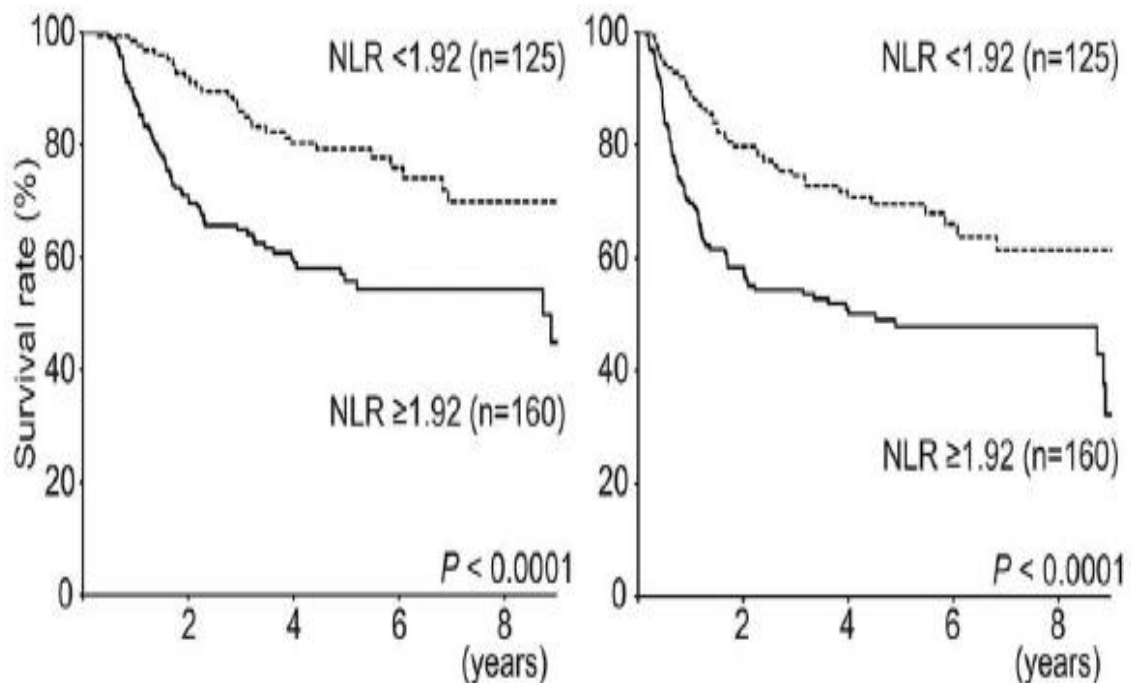


Figura 33. Supervivencia global (izquierda) y supervivencia libre de enfermedad (derecha) en función del NLR (tomada de Kano⁴²).

Posteriormente, Rosculet y cols⁴³ analizaron también la capacidad pronóstica del NLR y del recuento de neutrófilos en pacientes con CECC. La muestra estaba formada por 123 pacientes tratados con quimio-radioterapia. Utilizaron la mediana como punto de corte (NLR=2.7 y neutrófilos=4.49x10⁹/L).

Obtuvieron una peor supervivencia global en los pacientes con un NLR por encima de la mediana (HR=3.01, IC 95% 1.18-7.70, p=0.021) y en los pacientes con un recuento absoluto de neutrófilos por encima de la mediana (HR=2.92, IC 95% 1.14-7.49, p=0.026).

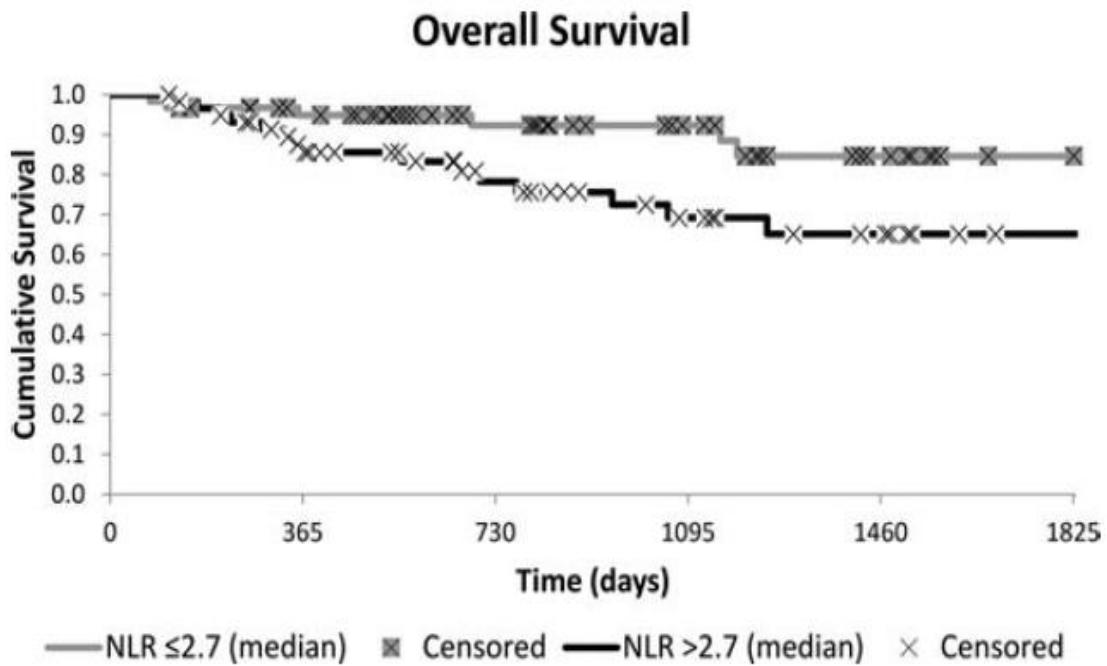


Figura 34. Supervivencia global según el valor del NLR (tomada de Rosculet⁴³).

También observaron una peor supervivencia libre de recurrencia en los pacientes con un NLR por encima de la mediana (HR=2.63, IC 95% 1.14-6.06, p=0.023) y en los pacientes con un recuento absoluto de neutrófilos por encima de la mediana (HR=2.56, IC 95% 1.11-5.91, p=0.027).

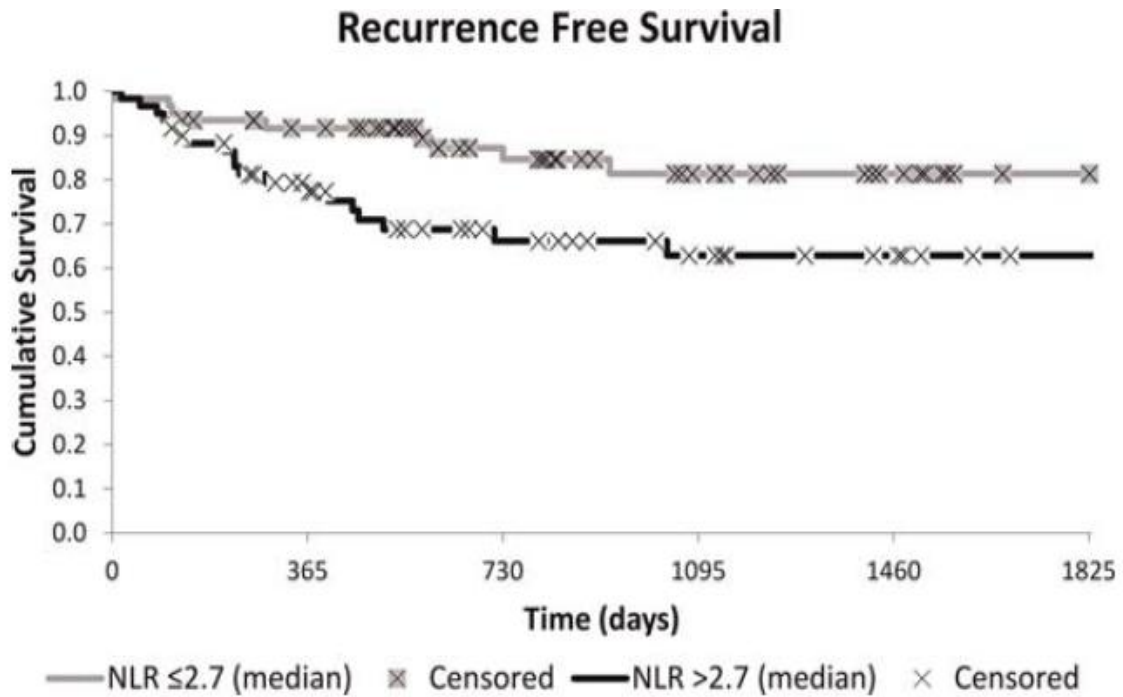


Figura 35. Supervivencia libre de recidiva según el valor del NLR (tomada de Rosculet⁴³).

Al realizar un análisis multivariante, el NLR y el recuento absoluto de neutrófilos mantenían su capacidad pronóstica de forma independiente para las dos supervivencias estudiadas. Al incluir en el modelo la variable HPV, tanto el NLR como el recuento absoluto de neutrófilos perdían su capacidad pronóstica independiente.

Schernberg y cols⁴⁴ analizaron de forma retrospectiva 193 pacientes con CECC localmente avanzados tratados con quimio-radioterapia concomitante. En este caso, el objetivo de su estudio fue examinar el valor pronóstico de la leucocitosis y la neutrofilia, definidas como un recuento de leucocitos y neutrófilos superior a 10 y $7.5 \times 10^9/L$, respectivamente.

En el análisis univariante, tanto la leucocitosis como la neutrofilia se asociaron de forma altamente significativa con una peor supervivencia global y una peor supervivencia libre de progresión ($p < 0.001$). En el análisis multivariante, tan sólo la leucocitosis se asoció con una peor supervivencia global y libre de progresión (HR=1.9; IC95% 1.1-3.1; $p=0.018$ y HR=1.7; IC95% 1.0-2.7; $p=0.033$, respectivamente).

Variable	Overall Survival				Progression-Free Survival			
	Univariate	Multivariate Cox analysis			Univariate	Multivariate analysis		
	p	HR	95%CI	p	p	HR	95%CI	p
Leukocytosis	< 0.001	1.9	1.1 – 3.1	0.018	< 0.001	1.7	1.0 – 2.7	0.033
Anemia	< 0.001	--	--	0.131	< 0.001	--	--	0.112
Thrombocytosis	< 0.001	--	--	0.559	< 0.001	--	--	0.196
PS 1-2 (vs. 0)	0.002	--	--	0.433	0.001	--	--	0.596
Current smoker	< 0.001	2.4	1.5 – 3.9	0.001	< 0.001	2.4	1.5 – 3.8	< 0.001
HPV -/ unknown (vs. positive)	< 0.001	4.5	1.4 – 14.5	0.013	< 0.001	2.6	1.1 – 6.0	0.033
T4 (vs. ≤T3)	< 0.001	--	--	0.125	< 0.001	--	--	0.145
N2-3 (vs. N0-1)	0.001	2.0	1.1 – 3.4	0.018	0.001	1.9	1.2 – 3.2	0.011
CDDP < 3 (vs. 3)	< 0.001	2.3	1.4 – 3.7	0.001	< 0.001	2.2	1.4 – 3.4	< 0.001

Tabla 10. Resultados del análisis univariante y multivariante (tomada de Schernber⁴⁴).

A los 5 años de seguimiento, la supervivencia global estimada fue del 67% (IC 95% 63-71%) para pacientes que no tenían leucocitosis inicialmente frente al 26% (IC 95% 19-33%) en los pacientes que sí presentaban leucocitosis inicialmente.

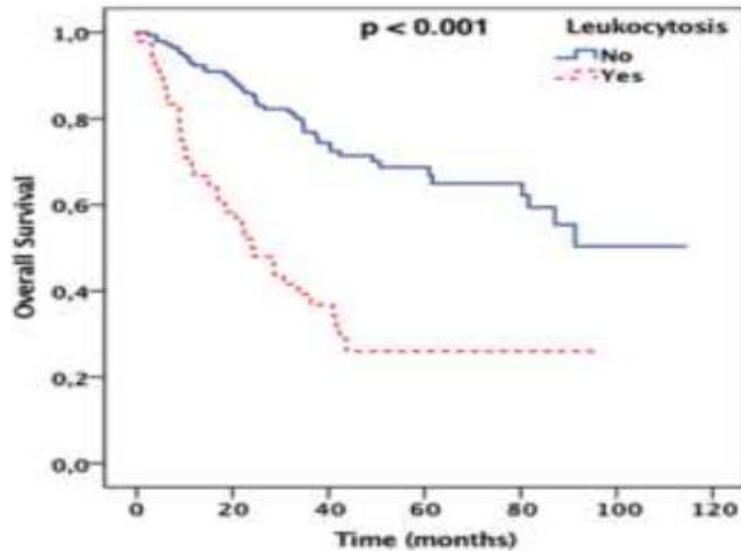


Figura 36. Supervivencia global según la presencia de leucocitosis (tomada de Schernberg⁴⁴).

La supervivencia libre de progresión fue del 62% (IC 95% 58-66%) para los pacientes que no tenían leucocitosis inicial frente al 18% (IC 95% 12-24%) de los pacientes con leucocitosis inicial.

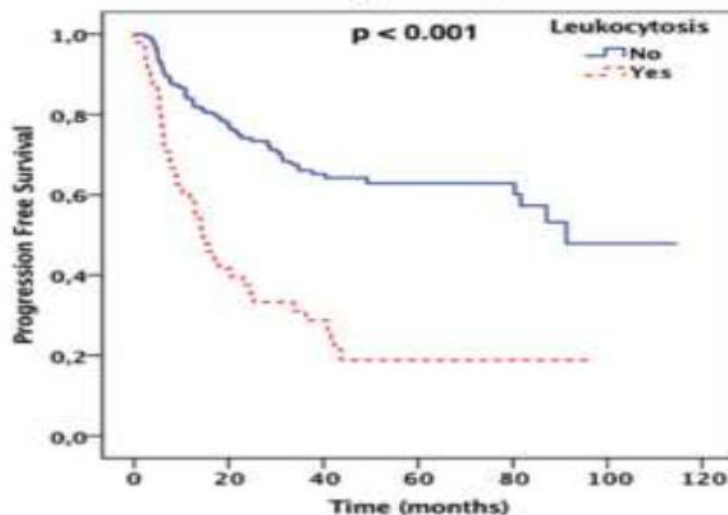


Figura 37. Supervivencia libre de progresión según la presencia de leucocitosis (tomada de Schernberg⁴⁴).

4. Comparación de los parámetros hematológicos en sangre periférica entre pacientes con CECC y sujetos sanos

Trellakis y cols⁵² analizaron los parámetros hematológicos en sangre periférica de pacientes con CECC comparándolos con un grupo control de sujetos sanos. La muestra fue recolectada de forma prospectiva, cogiendo muestras de sangre de 114 pacientes con CECC antes de iniciar cualquier tratamiento oncológico y de 41 sujetos voluntarios sanos.

Sus resultados muestran que los pacientes con CECC presentaban un mayor número de leucocitos, un mayor número de polimorfonucleares (PMN), un NLR más elevado, y una mayor proteína C reactiva en sangre periférica que los sujetos sanos. Además, a medida que la enfermedad local (T) aumentaba, también aumentaban estos parámetros.

Marker	T category	Mean (SD)	Median	Range	p*
Leukocytes (nl ⁻³)	Controls	5.76 (1.92)	5.21	3.12, 9.93	† < 0.001
	T1-T4	8.80 (2.72)	8.21	4.15, 18.44	‡ = 0.007
PMN (%)	Controls	49.6 (6.5)	48.3	41.4, 63.4	† < 0.001
	T1-T4	67.1 (9.4)	68.5	46.4, 88.4	‡ = 0.006
	T1	63.5 (6.9)	64.6	51.3, 73.1	§ = 0.055
	T2	63.3 (10.1)	68.8	46.4, 74.6	> 0.1
	T3	66.1 (5.2)	66.7	57.4, 73.0	
	T4	71.0 (10.5)	71.1	51.7, 88.4	
PMN (nl ⁻³)	Controls	2.73 (1.13)	2.49	1.35, 5.47	† < 0.001
	T1-T4	6.12 (2.74)	5.46	2.67, 14.16	‡ = 0.003
	T1	5.13 (2.54)	4.28	2.84, 10.28	§ = 0.030
	T2	5.16 (1.47)	5.39	3.31, 8.04	= 0.048
	T3	5.06 (1.04)	4.75	3.90, 7.32	
	T4	7.54 (3.35)	7.10	2.67, 14.16	
NLR	Controls	1.43 (0.50)	1.28	0.89, 2.82	† < 0.001
	T1-T4	3.97 (2.46)	3.50	1.24, 12.82	‡ < 0.001
	T1	2.64 (0.83)	2.56	1.32, 4.01	§ = 0.003
	T2	2.95 (1.15)	3.42	1.24, 4.35	= 0.027
	T3	3.21 (0.77)	3.33	1.88, 4.74	
	T4	5.40 (3.18)	4.38	1.29, 12.82	
CRP (mg/ml)	Controls	0.45 (0.87)	0.10	0, 3.60	† < 0.001
	T1-T4	1.99 (3.04)	1.00	0, 19.10	‡ = 0.001
	T1	0.73 (0.86)	0.40	0, 2.60	§ = 0.004
	T2	1.52 (2.68)	0.50	0, 12.90	= 0.001
	T3	1.26 (1.29)	0.80	0, 4.50	
	T4	3.19 (4.05)	1.85	0.1, 19.10	

Tabla 11. Sumario estadístico de los parámetros hematológicos y la proteína C reactiva en los pacientes con CECC y sexo masculino (tomada de Trellakis⁵²).

5. Comparación del NLR entre pacientes con carcinomas de laringe y pacientes con lesiones pre-malignas y benignas de laringe

Kum y cols⁵³ analizaron la existencia de diferencias en el NLR entre pacientes con carcinomas escamosos de laringe y pacientes con lesiones benignas o pre-malignas de laringe. Realizaron un estudio retrospectivo basado en 209 pacientes que fueron sometidos a una biopsia de laringe entre 2010 y 2014. Separaron los pacientes en 3 grupos: lesiones laríngeas benignas, lesiones laríngeas pre-malignas y carcinomas escamosos de laringe. La media del valor de NLR en los diferentes grupos fue de 2.12 ± 0.86 , 2.32 ± 0.68 y 3.46 ± 1.51 , respectivamente, y la diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0.001$).

	1Benign (n=80) Mean±SD	2Precancerous (n=63) Mean±SD	3SCC (n=66) Mean±SD	p
Age (years)	47.33±12.63	57.14±9.88	63.45±9.57	
MPV (fl)	9.91±1.72	9.99±1.29	9.78±1.55	0.745
PDW (fl)	14.38±2.38	13.66±2.37	14.35±2.58	0.160
WBC (103/U)	8.00±1.95	7.89±1.87	8.39±2.06	0.321
Platelet (103/U)	262.33±66.85	237.34±58.97	254.10±73.88	0.085
Neutrophil (103/U)	4.77±1.57	5.15±1.60	5.34±1.77	0.106
Lymphocyte (103/U)	2.41±0.70	2.26±0.51	2.06±0.81	0.013**
NLR	2.12±0.86	2.32±0.68	3.46±1.51	0.001** 1-2p=0.031** 2-3p=0.068 1-3p=0.001**
	n (%)	n (%)	n (%)	Total n (%)
Gender Male	63 (78.7%)	54 (85.7%)	64 (97.0%)	181 (86.6%)
Female	17 (21.3%)	9 (14.3%)	2 (3.0%)	28 (13.4%)

Tabla 12. Características según el tipo de lesión laríngea (tomada de Kum⁵³).

Las comparaciones apareadas realizadas para determinar el grupo que causó la diferencia en el NLR revelaron que la media del NLR de los pacientes con lesiones pre-malignas y de los pacientes con carcinomas escamosos fue significativamente más elevada que la media del NLR de los pacientes con lesiones benignas ($p=0.031$ y $p=0.001$, respectivamente). Sin embargo, la diferencia entre la media del NLR de los grupos con lesiones pre-malignas y de los pacientes con carcinomas escamosos no fue significativa ($p=0.068$).

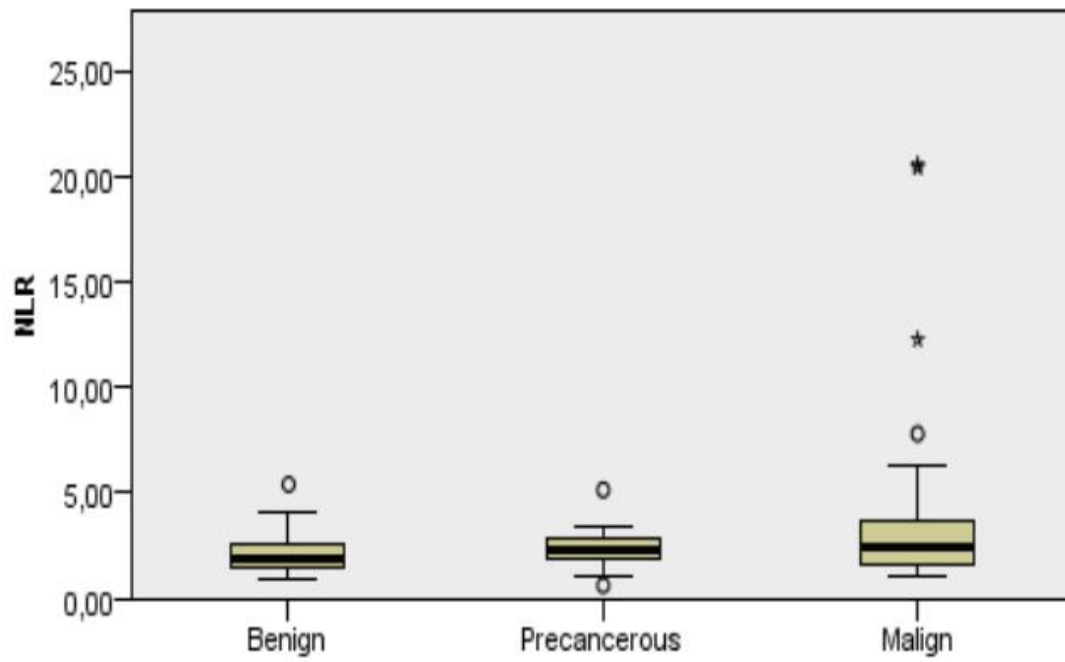


Figura 38. Medias de los valores del NLR según el tipo de lesión laríngea (tomada de Kum⁵³).

6. Comparación de los diferentes sistemas de puntuación pronósticos basados en la inflamación

Selzer y cols⁵ estudiaron la supervivencia global en 361 pacientes con CECC localmente avanzados. De acuerdo con sus resultados el sistema de puntuación que mejor predecía el pronóstico era la escala de puntuación pronóstica de Glasgow (GPS), seguida del NLR.

Eder-Czembirek y cols⁵⁴ analizaron 144 pacientes con CECC localmente avanzados, en este caso sólo de cavidad oral. Analizaron entre otros, el recuento de neutrófilos, el NLR, la PCR, y la combinación de PCR y recuento de neutrófilos.

Consideraron como puntos de corte una PCR >10mg/L, un recuento de neutrófilos >7.5x10⁹/L y un NLR >1.9. Un recuento elevado de neutrófilos (HR=2.22; p=0.01), una PCR elevada (HR=1.74, p=0.03), y la combinación de PCR y neutrófilos elevados (HR=2.40; p=0.01) obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la supervivencia global.

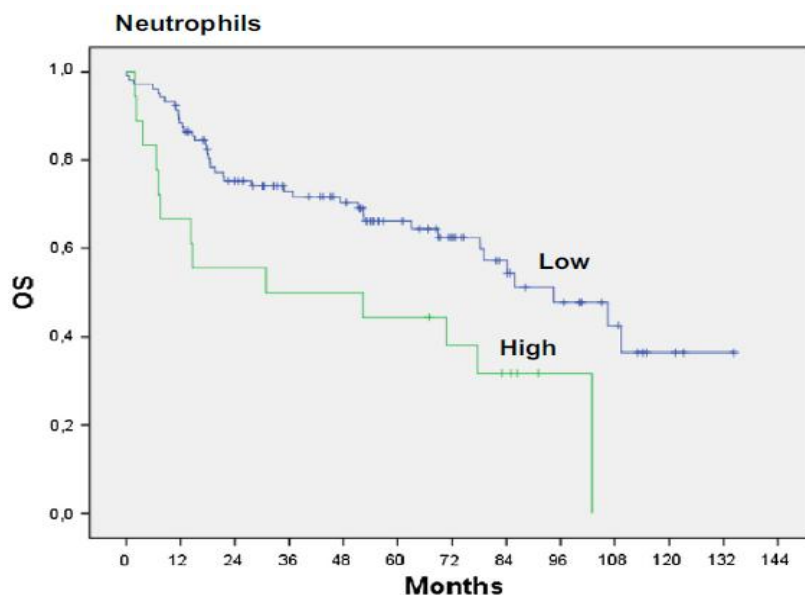


Figura 39. Supervivencia global según el recuento de neutrófilos (tomada de Eder-Czembirek⁵⁴).

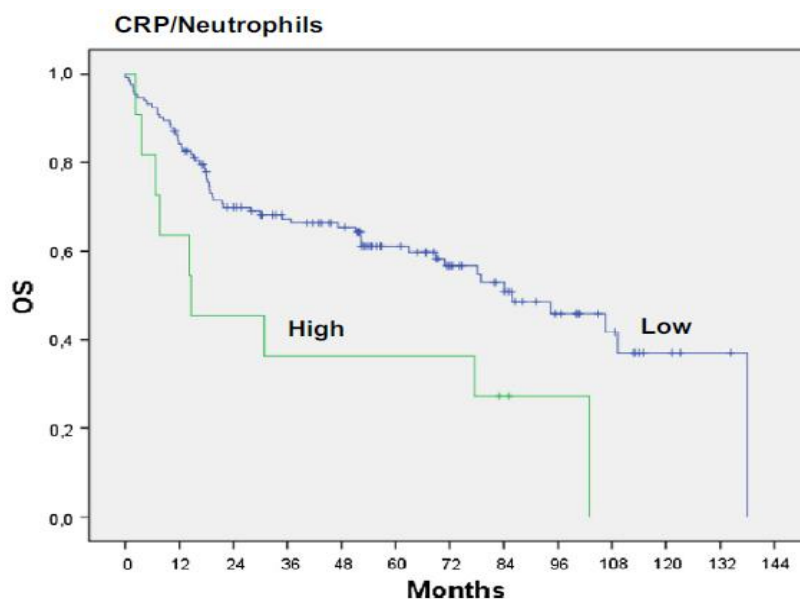


Figura 40. Supervivencia global según la combinación del recuento de neutrófilos y la PCR (tomada de Eder-Czembirek ⁵⁴).

En el análisis multivariante ninguno de los factores descritos mantuvo su capacidad pronóstica.

	HR	CI (95%)	p-value
<i>(a) Univariate analysis</i>			
T4 vs T1-3	1.2	0.67-2.11	0.84
N2b-3 vs N0-2a	1.61	0.92-2.83	0.09
RG 4 vs 1-3	3.58	2.14-5.98	<0.00
CRP high vs low	1.74	1.05-2.89	0.03
Neu high vs low	2.22	1.18-4.18	0.01
NLR high vs low	1.16	0.65-2.06	0.62
Fibr high vs low	1.33	0.80-2.18	0.27
CRP/Neu high vs low	2.4	1.18-4.86	0.01
<i>(b) Multivariate analysis</i>			
RG 4 vs 1-3	4.23	2.26-7.75	<0.00
CRP high vs low	1.19	0.6-2.36	0.62
Neu high vs low	0.95	0.32-2.82	0.93
CRP/Neu high vs low	2.7	0.68-10.75	0.16

Tabla 13. Análisis univariante y multivariante según los diferentes factores pronósticos (tomada de Eder-Czembirek ⁵⁴).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

En los pacientes con carcinomas escamosos de cabeza y cuello (CECC) los parámetros hematológicos en sangre periférica analizados de forma previa al inicio del tratamiento pueden contar con capacidad pronóstica.

OBJETIVOS

El objetivo general del presente estudio es valorar la capacidad pronóstica de los recuentos de neutrófilos, monocitos, linfocitos y del ratio entre neutrófilos y linfocitos (NLR) en sangre periférica pre-tratamiento en una gran serie de pacientes con CECC tratados consecutivamente en una sola institución.

Como objetivos específicos se plantearon:

1. Analizar la relación entre los parámetros hematológicos y las variables clínicas en los pacientes con CECC.
2. Analizar la existencia de correlación estadística entre los diferentes parámetros hematológicos.
3. Evaluar la capacidad pronóstica de los parámetros hematológicos en relación a la supervivencia específica y a la supervivencia libre de recidiva local, regional y a distancia.
4. Analizar la existencia de diferencias en los parámetros hematológicos en los pacientes con carcinomas de orofaringe en función del estatus del Virus del Papiloma Humano (HPV).
5. Evaluar si los parámetros hematológicos podrían ser considerados como biomarcadores pronósticos en los CECC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

La información utilizada para la realización del presente estudio se obtuvo de una base de datos que, de forma prospectiva, recoge información referente a las características epidemiológicas, tumorales, terapéuticas y de seguimiento de los pacientes con tumores malignos de cabeza y cuello diagnosticados y tratados en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau desde 1985⁵⁵.

Se incluyeron inicialmente en el estudio los pacientes con carcinomas escamosos localizados a nivel de la cavidad oral, orofaringe, hipofaringe y laringe diagnosticados y tratados en nuestro centro entre Enero de 2000 y Diciembre de 2012. Se consideró tan sólo a los pacientes que presentaron un tumor índice de cabeza y cuello, excluyendo del presente análisis a pacientes con segundas neoplasias o neoplasias sucesivas. La muestra inicial estaba formada por 1,189 pacientes con tumores de estas características.

Todos los pacientes fueron evaluados por el Comité de Oncología y la decisión terapéutica se basó en los protocolos terapéuticos institucionales existentes para cada una de las localizaciones del tumor.

Se creó una hoja de recogida de datos específica para la inclusión de los parámetros hematológicos de los pacientes. Posteriormente se fusionaron los datos de los parámetros hematológicos con los correspondientes a la base de datos que contiene la información clínica de los pacientes.

Analíticas

HISTOF: NNEO: NRECT: NREC: DATAH: DPTT:

ANALITICA: FANAL: Marcadores tumorales: DATAIQ:

Glucosa-mmol/L	<input type="text"/>	Hemoglobina-g/L	<input type="text"/>	Neutròfils-%	<input type="text"/>
Urea-mmol/L	<input type="text"/>	Hematòcrit-L/L	<input type="text"/>	Neutròfilsabsoluts-x10E9/L	<input type="text"/>
Creatinina-µmol/L	<input type="text"/>	Hematies-x10E12/L	<input type="text"/>	Eosinòfils-%	<input type="text"/>
Filtratglomerular-mL/min/173m2	<input type="text"/>	VCM-fL	<input type="text"/>	Eosinòfilsabsoluts-x10E9/L	<input type="text"/>
Bilirubinatotal-µmol/L	<input type="text"/>	CCMH-g/L	<input type="text"/>	Basòfils-%	<input type="text"/>
AST(GOT)-U/L	<input type="text"/>	HCM-pg	<input type="text"/>	Basòfilsabsoluts-x10E9/L	<input type="text"/>
ALT(GPT)-U/L	<input type="text"/>	RDW-%	<input type="text"/>	Monòcits-%	<input type="text"/>
Fosfataaalcalina-U/L	<input type="text"/>	Plaquetes-x10E9/L	<input type="text"/>	Monòcitsabsoluts-x10E9/L	<input type="text"/>
GGT-U/L	<input type="text"/>	VPM-fL	<input type="text"/>	Limfòcits-%	<input type="text"/>
Proteinatotal-g/L	<input type="text"/>	Plaquetòcrit-%	<input type="text"/>	Limfòcitsabsoluts-x10E9/L	<input type="text"/>
Albúmina-g/L	<input type="text"/>	Leucòcits-x10E9/L	<input type="text"/>		

Registro: de 1338

Figura 41. Base de datos de recogida de los parámetros hematológicos utilizada en el estudio.

La información referente a los parámetros hematológicos se recogió de forma retrospectiva a partir de las analíticas de laboratorio de rutina. Los intervalos de normalidad de los parámetros hematológicos utilizados en nuestro laboratorio son los siguientes:

Parámetro hematológico	Intervalo de normalidad ($\times 10^9/L$)
Leucocitos	3.80 – 11.00
Neutrófilos	1.80 – 7.00
Eosinófilos	0.05 – 0.50
Basófilos	0.00 – 0.10
Monocitos	0.30 – 1.00
Linfocitos	1.00 – 4.00

Tabla 14. Intervalos de normalidad de los parámetros hematológicos de nuestro laboratorio.

Los criterios de inclusión específicos utilizados en el estudio fueron:

1. Diagnóstico anatomopatológico confirmado de carcinoma escamoso
2. Localización del tumor: cavidad oral, orofaringe, hipofaringe o laringe
3. Diagnóstico realizado entre Enero de 2000 y Diciembre de 2012
4. Contar con una analítica realizada en el período de las 4 semanas previas al inicio del primer tratamiento del tumor
5. La analítica debía contener como mínimo:
 - a. Recuento absoluto del total de leucocitos
 - b. Recuento absoluto de neutrófilos
 - c. Recuento absoluto de linfocitos
 - d. Recuento absoluto de monocitos
6. Contar con un seguimiento mínimo de 2 años

De los 1,189 pacientes considerados inicialmente, 824 pacientes cumplieron con todos los criterios de inclusión, formando la muestra del estudio. Las causas más comunes de exclusión fueron un intervalo de más de 4 semanas entre la realización de la analítica de sangre y el inicio del tratamiento o la ausencia en la analítica de todos los parámetros hematológicos requeridos.

La siguiente tabla incluye información sobre la edad y el sexo, el consumo de tabaco y alcohol, la localización del tumor, la extensión local y regional del tumor, el grado histológico y el tratamiento de los pacientes incluidos en el estudio.

		Número de pacientes	%
Edad (media / desviación estándar) años		62.2 / 11.1	
Sexo	Hombres	717	87.0%
	Mujeres	107	13.0%
Tabaco	No	93	11.3%
	< 20 cig/día	140	17.0%
	≥ 20 cig/día	591	71.7%
Alcohol	No	199	24.2%
	< 80 gr/día	340	41.3%
	≥ 80 gr/día	285	34.6%
Localización	Cavidad oral	119	14.4%
	Orofaringe	203	24.6%
	Hipofaringe	82	10.0%
	Laringe	420	51.0%

		Número de pacientes	%
T	1	199	24.2%
	2	235	28.5%
	3	244	29.6%
	4	146	17.7%
N	0	456	55.3%
	1	98	11.9%
	2	234	28.4%
	3	36	4.4%
Grado histológico	Bien diferenciado	101	12.3%
	Moderadamente diferenciado	642	77.9%
	Pobrememente diferenciado	81	9.8%
Tratamiento	Paliativo	35	4.2%
	Cirugía	158	19.2%
	Cirugía + Radioterapia	77	9.4%
	Cirugía + Químio-radioterapia	33	4.0%
	Radioterapia	271	32.9%
	Químio-radioterapia	250	30.3%

Tabla 15. Características de los pacientes incluidos en el estudio.

Se categorizó a los pacientes tratados con intención radical (n=789, 95.8%) en función del tipo de tratamiento realizado, considerando un grupo de pacientes tratados de forma quirúrgica, que agrupaba los pacientes tratados de forma exclusiva con cirugía y aquellos que de forma post-operatoria recibieron un tratamiento adyuvante con radioterapia o quimio-radioterapia (n=268, 32.6%), y un grupo de pacientes tratados con radioterapia que incluyó a los pacientes tratados con radioterapia o quimio-radioterapia sin cirugía previa (n=521, 63.2%).

El seguimiento medio de los pacientes fue de 4.49 años (desviación estándar (DE) de 3.86 años). Durante el período de seguimiento, 219 pacientes (26.6%) presentaron recurrencia local del tumor, 132 pacientes (16.0%) recurrencia regional, y 74 pacientes (9.0%) metástasis a distancia. Un total de 251 pacientes (30.5%) murieron a causa de la progresión tumoral.

Cohorte de pacientes con tumores de localización orofaríngea

En el caso de los pacientes con carcinomas escamosos localizados en orofaringe, analizamos el estatus del Virus del Papiloma Humano (HPV) mediante la identificación de ADN viral en las muestras de biopsia mediante el sistema SPF-10 PCR/DEIA/LiPA25. Para todos los casos que resultaron HPV positivos, se procedió a la extracción de ARN y a la detección del nivel de expresión del E6*I mRNA mediante RT-PCR.

Se contó con información relativa al estatus del HPV en 125 de los pacientes con carcinomas de orofaringe. De dichos 125 pacientes, el 19,2% eran HPV positivos (n=24) y el 80,8% eran HPV negativos (n=101). De los 24 pacientes HPV positivos, 22 de ellos contaron con un virus genotipado como HPV 16.

La siguiente tabla muestra la distribución de variables como la edad y el sexo, el consumo de tóxicos y la extensión local y regional de la enfermedad en función del estatus HPV.

		HPV negativos	HPV positivos	p
		N (%)	N (%)	
Edad	<50 años	20 (19.5%)	3 (12.5%)	0.496
	50-65 años	58 (57.4%)	13 (54.2%)	
	>65 años	23 (22.8%)	8 (33.3%)	
Sexo	Hombres	90 (89.1%)	18 (75.0%)	0.095
	Mujeres	11 (10.9%)	6 (25.0%)	
Tabaco	No	1 (1.0%)	9 (37.5%)	0.0001
	<20 cig/día	14 (13.9%)	5 (20.8%)	
	≥20 cig/día	86 (85.1%)	10 (41.7%)	
Alcohol	No	11 (10.9%)	12 (50.0%)	0.0001
	<80 gr/día	29 (28.7%)	8 (33.3%)	
	≥80 gr/día	61 (60.4%)	4 (16.7%)	
T	T1-T2	43 (42.6%)	16 (66.7%)	0.042
	T3-T4	58 (57.4%)	8 (33.3%)	
N	N0	30 (29.7%)	4 (16.4%)	0.197
	N+	71 (70.3%)	20 (83.3%)	

Tabla 16. Distribución de las variables clínicas en función del estatus HPV.

Se pudo apreciar una tendencia en los pacientes con tumores HPV positivos a contar con un mayor porcentaje de pacientes del sexo femenino, un menor consumo de tabaco y alcohol, y una categoría menor en la extensión local de la enfermedad.

Análisis de datos

Inicialmente se analizó la relación entre los valores absolutos de los parámetros hematológicos (neutrófilos, monocitos y linfocitos) y las variables como la edad, el sexo, la localización del tumor primario, la extensión local y regional del tumor, el grado histológico y el consumo de tabaco y alcohol. Posteriormente se exploró la relación entre estas variables clínicas y el NLR.

Para la evaluación de la capacidad pronóstica de los diferentes parámetros hematológicos se consideró la supervivencia específica, así como la supervivencia libre de recidiva local, regional y a distancia.

En primer lugar se procedió a evaluar la capacidad pronóstica de los diferentes parámetros hematológicos estudiados de acuerdo con su distribución cuartil.

Posteriormente se procedió a utilizar un análisis de partición recursiva (RPA) para evaluar la relación entre los valores absolutos de los parámetros hematológicos y el control de la enfermedad, considerando la supervivencia específica como la variable dependiente. Se evaluaron mediante el RPA cada uno de los parámetros hematológicos, obteniendo puntos de corte y nodos terminales específicos. Posteriormente se calculó la supervivencia específica, la supervivencia libre de recidiva local, libre de recidiva regional y libre de metástasis a distancia de acuerdo con las categorías obtenidas con el RPA.

Se analizó la influencia de los diferentes parámetros hematológicos en función del estadiaje tumoral (estadios iniciales vs estadios avanzados) y en función del tratamiento recibido (cirugía vs radioterapia).

Finalmente, se ajustó un modelo multivariante, incluyendo como variables independientes la localización del tumor primario, la extensión local y regional del tumor, el grado histológico y las categorías obtenidas con el RPA, considerando como variable dependiente la supervivencia específica.

Todos los análisis previamente descritos se realizaron para cada parámetro de forma independiente. Posteriormente se analizaron todos los parámetros hematológicos de forma conjunta incluyéndolos como variables independientes en un RPA.

Por último, se analizaron de forma específica los pacientes con carcinomas de orofaringe en función del estatus HPV. Se analizó la existencia de diferencias en los parámetros hematológicos según el estatus HPV. Se repitieron para esta cohorte de pacientes todos los análisis realizados en la totalidad de pacientes estudiados.

Estudio estadístico

Se definió como supervivencia específica el período desde el momento del diagnóstico hasta la fecha de muerte a causa del tumor. Se definió como supervivencia libre de enfermedad el período existente entre el diagnóstico de la enfermedad y la fecha de diagnóstico de una recidiva local, regional o a distancia.

Se utilizó la prueba t de student y el análisis de la varianza para comparar los recuentos celulares con las variables clínicas. La correlación entre los diferentes recuentos celulares se evaluó mediante la prueba de correlación de Pearson. La comparación de la capacidad pronóstica de los diferentes parámetros hematológicos analizados se realizó mediante curvas ROC⁵⁶.

Inicialmente se clasificaron los recuentos de neutrófilos, monocitos y linfocitos, y el valor del NLR en categorías basadas en la distribución mediante cuartiles en toda la muestra. El cuartil superior incluía a los pacientes con los recuentos más altos, y el menor, agrupaba a los pacientes con recuentos más bajos.

Se incluyó el valor continuo de los parámetros hematológicos en un RPA (método CHAID), seleccionando la supervivencia específica como variable dependiente.

Las curvas de supervivencia se calcularon de acuerdo con el método de Kaplan-Meier. Se compararon las diferencias de supervivencia utilizando la prueba log-rank.

Finalmente se realizó un análisis multivariante utilizando el modelo de regresión de riesgo proporcional de Cox considerando la supervivencia específica como variable dependiente. Como variables independientes se consideraron: la localización del tumor primario, la extensión local (T1-T2 vs T3-T4), la extensión regional (N0 vs N+), el grado histológico y la categoría recuento de neutrófilos, monocitos, linfocitos y NLR definida mediante el RPA específico para cada uno de los parámetros hematológicos estudiados.

En todos los análisis se consideró como significativo un valor de $p < 0.05$.

El análisis estadístico se realizó con software SPSS v. 17.0 (SPS, Chicago, IL) y software Sigma-Plot.

El presente estudio fue desarrollado en el contexto de un proyecto de investigación con la ayuda de la beca del Instituto de Salud Carlos III (FIS PI14/01918). Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), una forma de construir Europa.

Todos los procedimientos fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona. La investigación cumplió con los principios descritos en la Declaración de Helsinki.

Debido a la naturaleza retrospectiva del estudio, no se consideró necesario el consentimiento informado de los pacientes.

RESULTADOS

1. Relación entre el número de neutrófilos pre-tratamiento y el pronóstico en los pacientes con CECC

La siguiente tabla muestra los valores promedio de la cifra de neutrófilos previa al inicio del tratamiento en función de variables como la edad, el sexo, el consumo de tabaco y alcohol, la localización del tumor índice, la categoría de extensión local y regional del tumor y el grado histológico.

		Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	p
Edad	<50 años	5.83	0.001
	50-65 años	5.38	
	>65 años	4.92	
Sexo	Hombres	5.35	0.001
	Mujeres	4.67	
Tabaco	No	4.27	0.001
	<20 cig/día	4.92	
	≥ 20 cig/día	5.50	
Alcohol	No	4.85	0.001
	<80 gr/día	5.03	
	≥ 80 gr/día	5.83	
Localización	Cavidad oral	4.78	0.001
	Orofaringe	5.63	
	Hipofaringe	6.14	
	Laringe	5.05	
T	1	4.30	0.001
	2	4.96	
	3	5.61	
	4	6.49	

		Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	p
N	0	4.95	0.001
	1	5.67	
	2	5.61	
	3	5.88	
Grado histológico	Bien diferenciado	4.84	0.087
	Moderadamente diferenciado	5.35	
	Pobrementemente diferenciado	5.09	

Tabla 17. Valores promedio de la cifra de neutrófilos según diferentes variables clínicas.

Se observaron diferencias significativas entre la cifra de neutrófilos y varias de las variables analizadas. A medida que aumentó la edad de los pacientes, disminuyó de forma significativa la cifra de neutrófilos, que resultó también inferior para las pacientes del sexo femenino. Los pacientes con un mayor consumo de tabaco y alcohol contaron con un recuento de neutrófilos significativamente superior al resto. También se incrementó de forma significativa el recuento de neutrófilos a medida que aumentaba la categoría de extensión local o regional de la enfermedad.

Finalmente, algunas de las localizaciones primarias del tumor como la hipofaringe tuvieron un promedio en la cifra de neutrófilos superior al resto de localizaciones, en tanto que este promedio fue más reducido en el caso de los pacientes con tumores localizados en la cavidad oral.

En una primera aproximación, se analizó la supervivencia específica en función de la distribución cuartil de la cifra de neutrófilos previa al tratamiento.

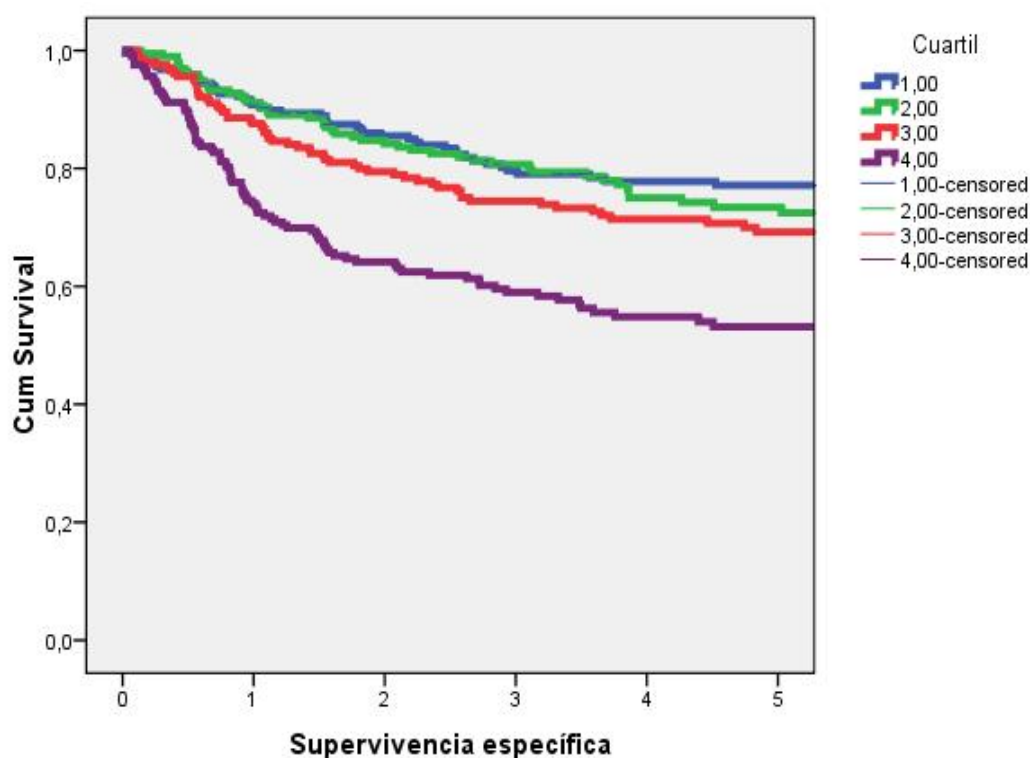


Figura 42. Supervivencia específica según la categoría cuartil del recuento de neutrófilos en sangre periférica pre-tratamiento.

Se observó una disminución ordenada en la supervivencia específica a medida que se incrementaba la cifra de neutrófilos, con un empeoramiento especialmente evidente para los pacientes incluidos en el 4º cuartil, el cuartil con un recuento más elevado de neutrófilos ($p=0.0001$).

A partir de un análisis de partición recursiva (RPA), y considerando la supervivencia específica como la variable dependiente, se obtuvo un árbol de clasificación con tres nodos terminales con puntos de corte en los valores de 4.80 y 7.99 neutrófilos $\times 10^9/L$.

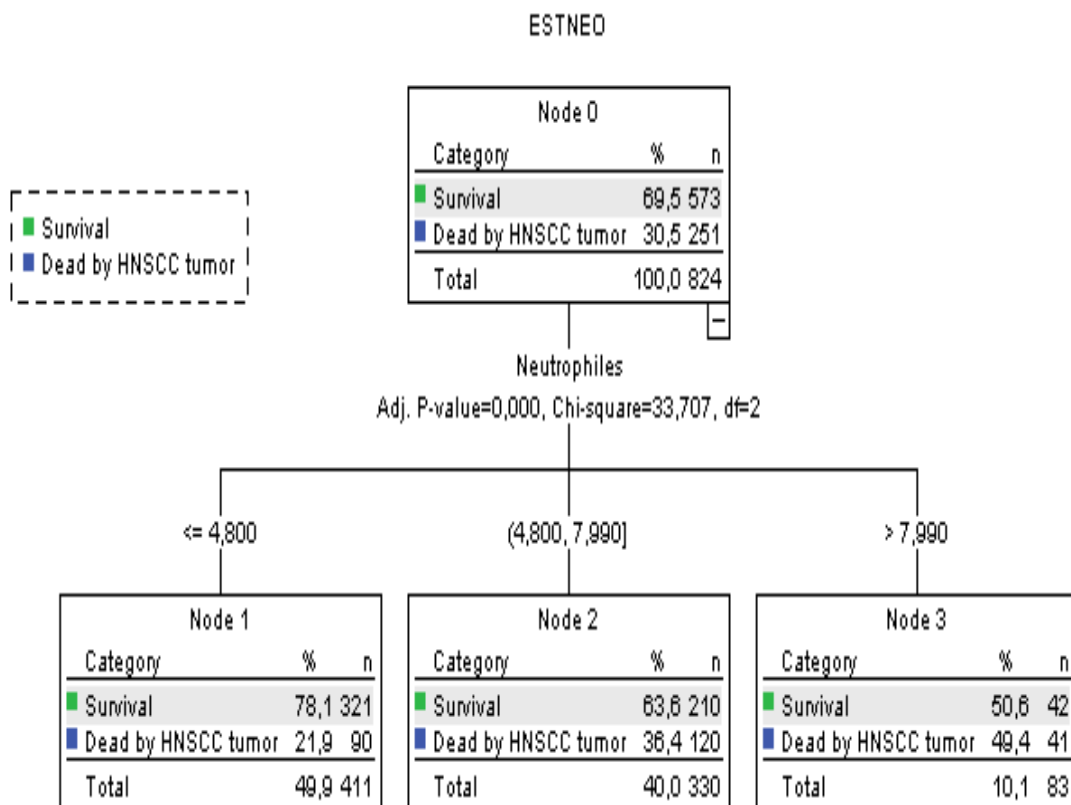


Figura 43. Árbol de clasificación del recuento de neutrófilos obtenido con un RPA.

De acuerdo con las categorías obtenidas a partir de esta clasificación, existieron diferencias significativas en la supervivencia específica en función de la cifra de neutrófilos ($p=0.0001$). La supervivencia específica a los 5 años para los pacientes con una cifra de neutrófilos pre-tratamiento $<4.80 \times 10^9/L$ ($n=411$, 49.9%) fue del 78.2% (IC 95% 73.9-82.5%), para los pacientes con una cifra de neutrófilos entre $4.80-7.99 \times 10^9/L$ ($n=330$, 40.0%) fue del 61.4% (IC 95% 55.7-67.1%), y para los pacientes con una cifra de neutrófilos $>7.99 \times 10^9/L$ ($n=83$, 10.1%) fue del 47.4% (IC 95% 35.8-59.0%).

La siguiente figura muestra las curvas de supervivencia específica en función de las categorías establecidas en la cifra de neutrófilos pre-tratamiento según el RPA.

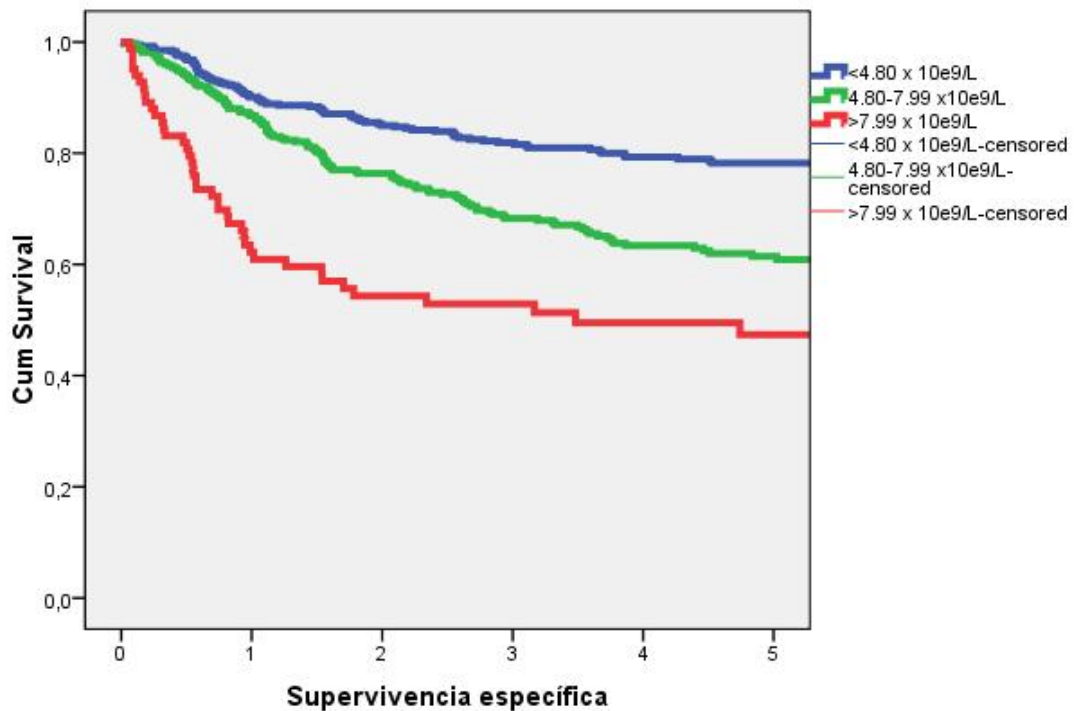


Figura 44. Curvas de supervivencia específica según la categoría recuento de neutrófilos obtenida con el RPA.

Se llevó a cabo una determinación del control local, regional y a distancia en función de las categorías definidas a partir del RPA.

Las siguientes figuras muestran las curvas de supervivencia libre de recidiva local, regional y a distancia en función de los valores en la cifra pre-tratamiento de neutrófilos.

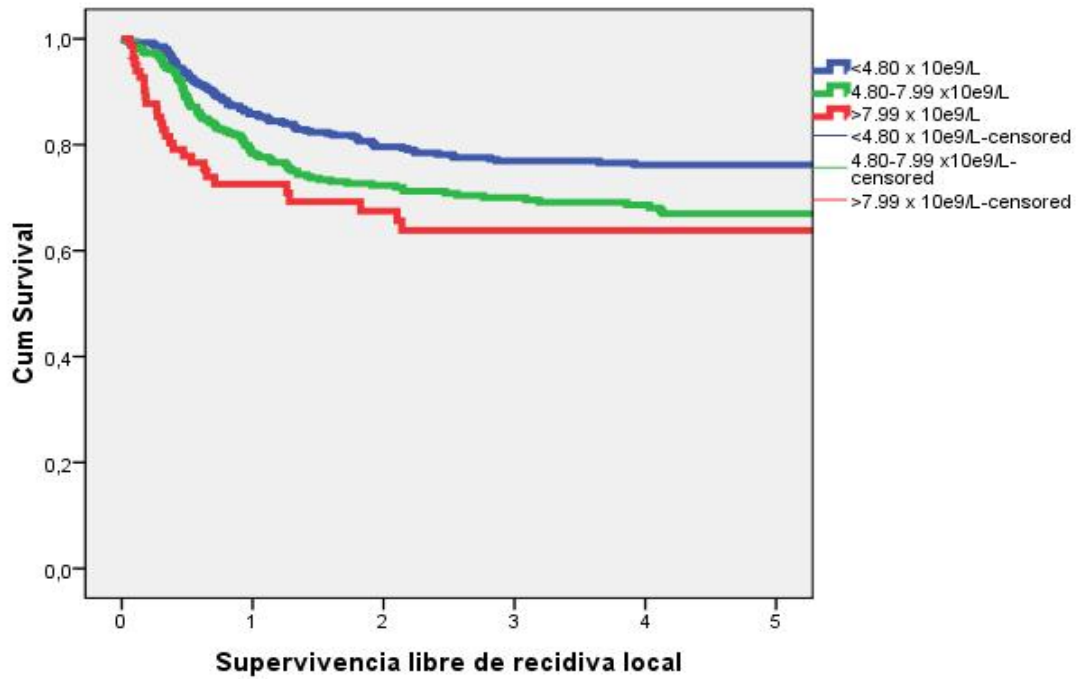


Figura 45. Curvas de supervivencia libre de recidiva local en función de los valores en la cifra pre-tratamiento de neutrófilos.

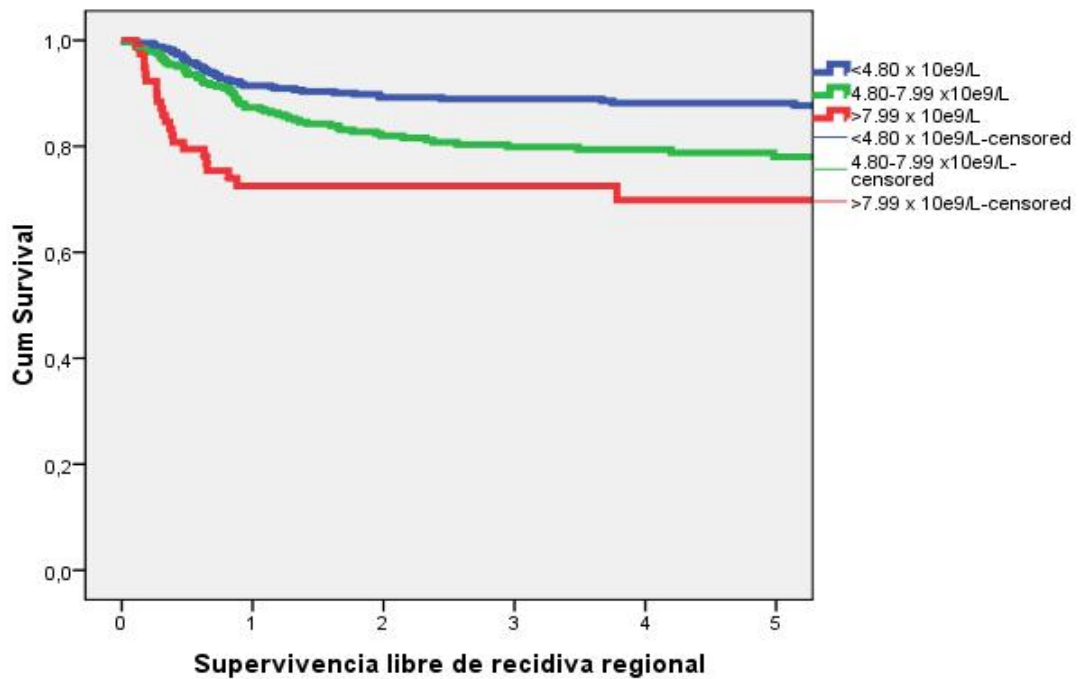


Figura 46. Curvas de supervivencia libre de recidiva regional en función de los valores en la cifra pre-tratamiento de neutrófilos.

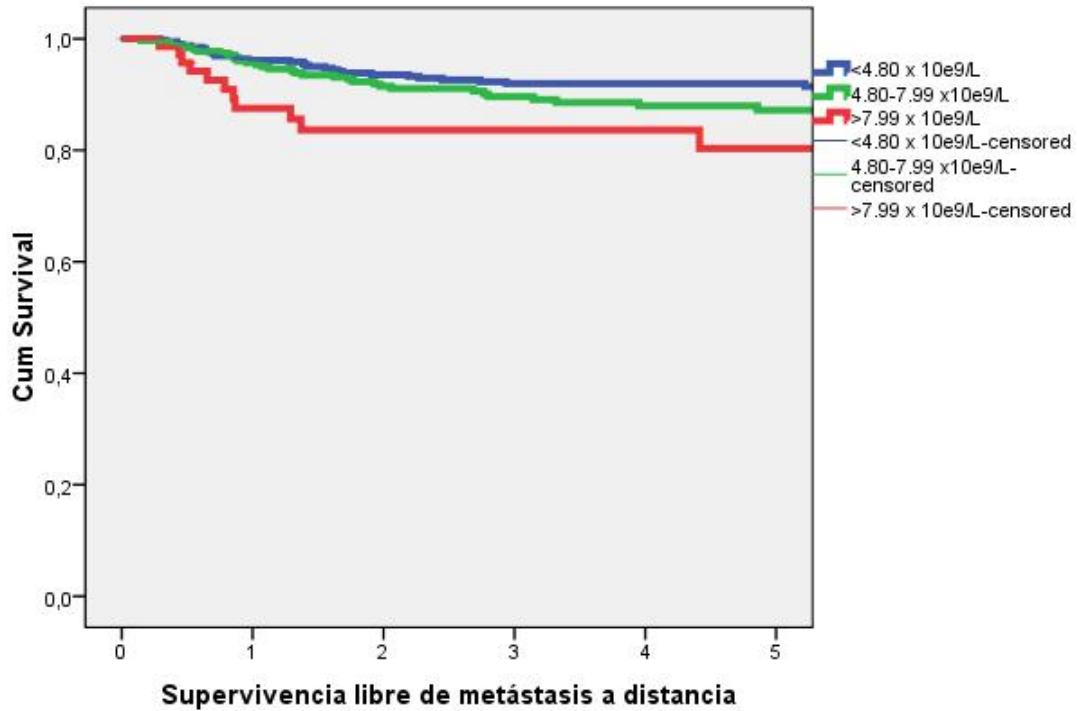


Figura 47. Curvas de supervivencia libre de metástasis a distancia en función de los valores en la cifra pre-tratamiento de neutrófilos.

Existieron diferencias significativas en la supervivencia libre de recidiva local ($p=0.003$), regional ($p=0.0001$) y a distancia ($p=0.018$) en función de la cifra de neutrófilos previa al tratamiento.

Se analizó la influencia de la cifra de neutrófilos previa al tratamiento en función de características de los pacientes tales como el estadiaje tumoral (tumores iniciales con estadios II-II vs tumores avanzados con estadios III-IV) o el tipo de tratamiento realizado (cirugía vs radioterapia).

Las siguientes tablas muestran la distribución de los pacientes en función de las categorías en la cifra de neutrófilos pre-tratamiento de acuerdo con estas variables.

	Nodos terminales según el RPA			Total
	<4.80 x 10 ⁹ /L	4.80-7.99 x10 ⁹ /L	>7.99 x 10 ⁹ /L	
Estadio I-II	192 63.6%	102 33.8%	8 2.6%	302 100.0%
Estadio III-IV	219 42.0%	228 43.7%	75 14.4%	522 100.0%
Total	411 49.9%	330 40.0%	83 10.1%	824 100.0%

Tabla 18. Distribución de los pacientes en función de las categorías de la cifra de neutrófilos pre-tratamiento según el estadiaje tumoral.

	Nodos terminales según el RPA			Total
	<4.80 x 10 ⁹ /L	4.80-7.99 x10 ⁹ /L	>7.99 x 10 ⁹ /L	
Cirugía +/- RT /QT-RT	129 48.1%	116 43.3%	23 8.6%	268 100.0%
RT / QT-RT	272 52.2%	199 38.2%	50 9.6%	521 100.0%
Total	401 50.8%	315 39.9%	73 9.3%	789 100.0%

* Sólo se incluyeron en el estudio los pacientes tratados con intención radical
RT= Radioterapia, QT= Quimioterapia

Tabla 19. Distribución de los pacientes en función de las categorías de la cifra de neutrófilos pre-tratamiento según el tratamiento recibido.

No se encontró una relación significativa entre la cifra de neutrófilos y el pronóstico en los pacientes con tumores iniciales ($p=0.066$).

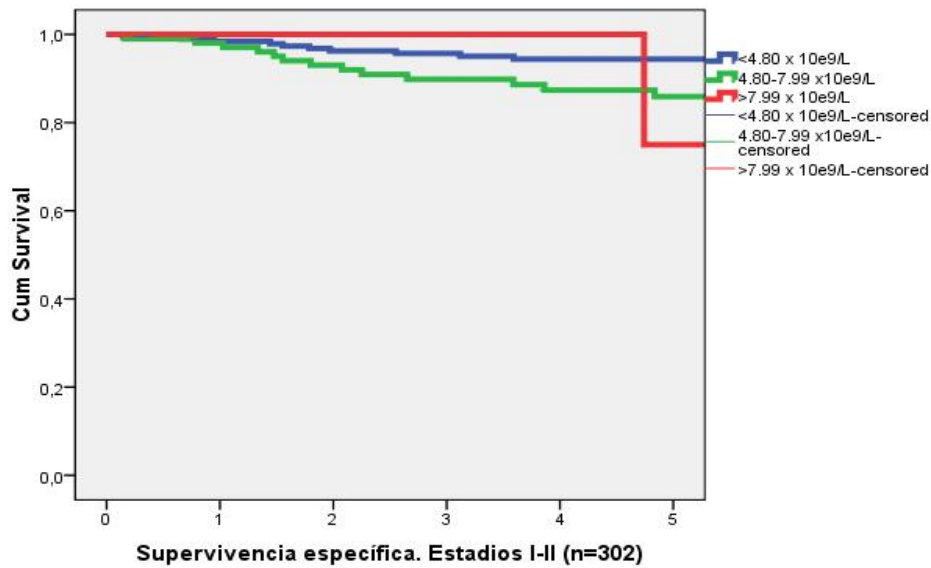


Figura 48. Curvas de supervivencia específica según la cifra de neutrófilos en los estadios iniciales I-II.

Por el contrario, sí se alcanzó la significación estadística ($p=0.001$) al analizar a los pacientes con estadios avanzados.

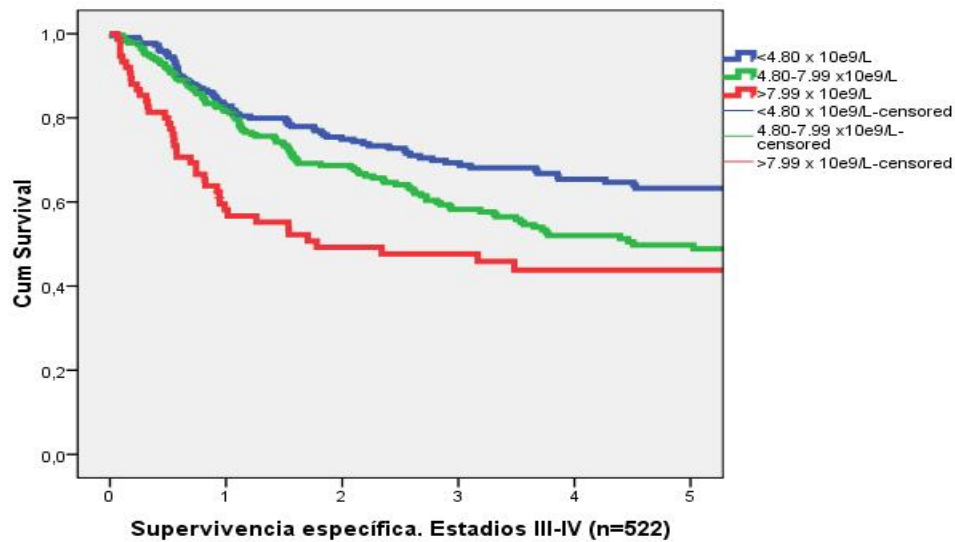


Figura 49. Curvas de supervivencia específica según la cifra de neutrófilos en los estadios avanzados III-IV.

Tanto para los pacientes tratados de forma quirúrgica ($p=0.0001$) como para los tratados con radioterapia ($p=0.0001$) se encontró una relación significativa entre la cifra de neutrófilos y la supervivencia específica.

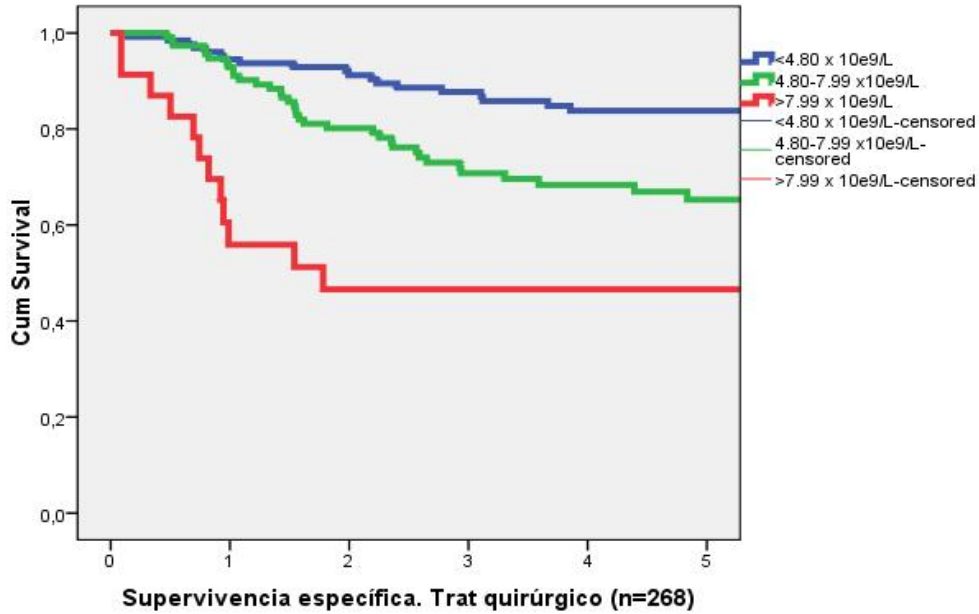


Figura 50. Curvas de supervivencia específica según la cifra de neutrófilos en los pacientes tratados con cirugía.

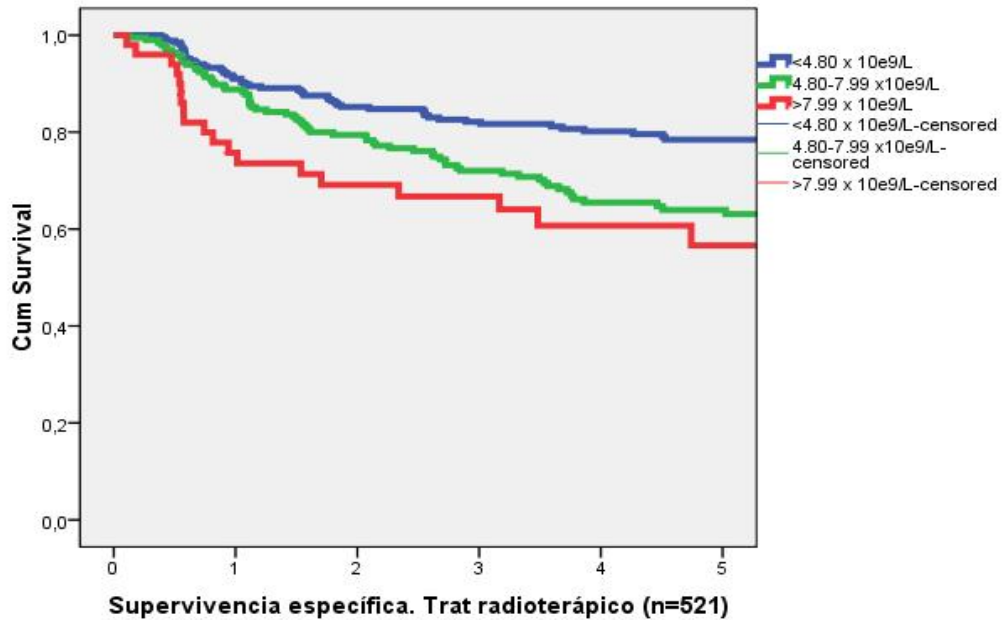


Figura 51. Curvas de supervivencia específica según la cifra de neutrófilos en los pacientes tratados con radioterapia.

Se llevó a cabo un análisis multivariante considerando la supervivencia específica como la variable dependiente e incluyendo en el modelo la localización del tumor primario, la categoría de extensión local (T1-2 vs T3-4) y regional (N0 vs N+) del tumor, el grado histológico, y la categoría cifra de neutrófilos pre-tratamiento definida con el RPA como variables independientes.

		HR	IC 95%	p
Localización	Cavidad oral	1		
	Orofaringe	0.69	0.48-0.99	0.046
	Hipofaringe	0.61	0.39-0.95	0.03
	Laringe	0.47	0.33-0.69	0.0001
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	3.03	2.24-4.09	0.0001
Extensión regional	N0	1		
	N+	2.20	1.62-2.98	0.0001
Grado histológico	Bien diferenciado	1		
	Moderadamente diferenciado	1.20	0.72-2.00	0.489
	Pobrementemente diferenciado	1.16	0.62-2.18	0.638
Neutrófilos	$\leq 4.80 \times 10^9/L$	1		
	$4.80-7.99 \times 10^9/L$	1.43	1.08-1.89	0.012
	$\geq 7.99 \times 10^9/L$	1.91	1.30-2.80	0.001

Tabla 20. Análisis multivariante.

Además de variables con capacidad pronóstica conocida como son la localización del tumor primario, o la extensión local y regional de la enfermedad, la categoría recuento de neutrófilos se mostró como una variable con capacidad pronóstica independiente.

Considerando como categoría de referencia a los pacientes con un recuento de neutrófilos $\leq 4.80 \times 10^9/L$, los pacientes con un recuento de neutrófilos entre $4.80-7.99 \times 10^9/L$ tuvieron un riesgo de morir como consecuencia del CECC 1.43 veces superior (IC 95% 1.08-1.89, $p=0.012$), y los pacientes con un recuento de neutrófilos $\geq 7.99 \times 10^9/L$ un riesgo 1.91 veces superior (IC 95% 1.30-2.80, $p=0.001$).

2. Relación entre el número de monocitos pre-tratamiento y el pronóstico en los pacientes con CECC

Un primer elemento a considerar fue analizar si existía una correlación significativa entre el valor de neutrófilos y monocitos en sangre periférica en la determinación llevada a cabo de forma previa al tratamiento.

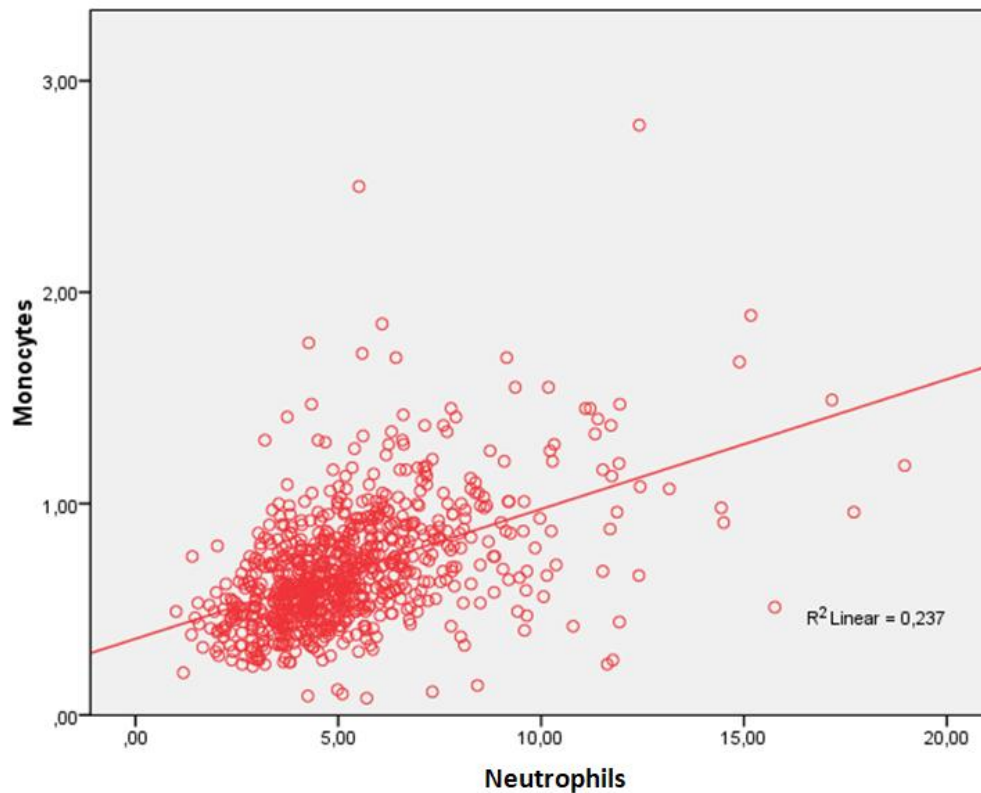


Figura 52. Correlación entre la cifra de monocitos y de neutrófilos.

El coeficiente de correlación entre la cifra de neutrófilos y monocitos fue de 0.487 ($p=0.0001$), mostrando una correlación significativa entre neutrófilos y monocitos. En menor medida, se observó correlación entre monocitos y linfocitos ($r=0.286$; $p=0.0001$).

Posteriormente se analizó la existencia de relación entre el valor de los monocitos y diferentes variables clínicas.

		Monocitos ($\times 10^9/L$)	p
Edad	<50 años	0.74	0.022
	50-65 años	0.69	
	>65 años	0.65	
Sexo	Hombres	0.70	0.001
	Mujeres	0.57	
Tabaco	No	0.55	0.001
	<20 cig/día	0.66	
	≥ 20 cig/día	0.77	
Alcohol	No	0.61	0.001
	<80 gr/día	0.68	
	≥ 80 gr/día	0.73	
Localización	Cavidad oral	0.62	0.001
	Orofaringe	0.76	
	Hipofaringe	0.73	
	Laringe	0.65	
T	1	0.61	0.001
	2	0.64	
	3	0.70	
	4	0.80	

		Monocitos ($\times 10^9/L$)	p
N	0	0.65	0.002
	1	0.70	
	2	0.73	
	3	0.74	
Grado histológico	Bien diferenciado	0.65	0.523
	Moderadamente diferenciado	0.68	
	Pobrementemente diferenciado	0.68	

Tabla 21. Valores promedio de la cifra de monocitos según diferentes variables clínicas.

Al igual que sucedió en el caso de los neutrófilos, se observó una relación significativa entre el valor de los monocitos y variables como la edad, el sexo, los antecedentes de consumo de tóxicos, la localización del tumor y su extensión local y regional.

Existieron diferencias significativas en la supervivencia específica en función de la distribución cuartil del recuento de monocitos ($p=0.0001$), con una disminución progresiva en la supervivencia a medida que se incrementaba su cifra. Las diferencias entre las curvas sucesivas contaron con una mayor capacidad de discriminación que la alcanzada al analizar la distribución cuartil de los neutrófilos, en la que las diferencias en supervivencia aparecieron a expensas básicamente del 4º cuartil.

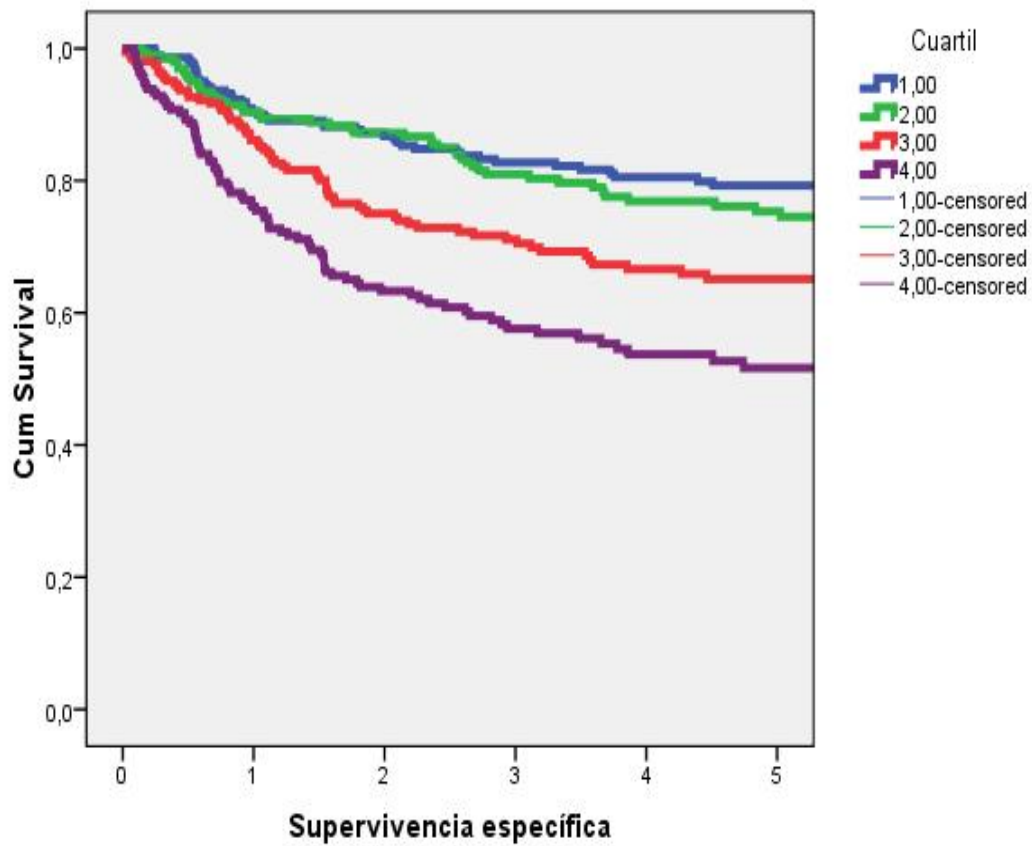


Figura 53. Supervivencia específica según la categoría cuartil del recuento de monocitos en sangre periférica pre-tratamiento.

Mediante un RPA se obtuvo una clasificación de los pacientes en función del número de monocitos, considerando la supervivencia específica como la variable dependiente, con unos puntos de corte en los valores de 0.580 y 1.010 monocitos $\times 10^9/L$.

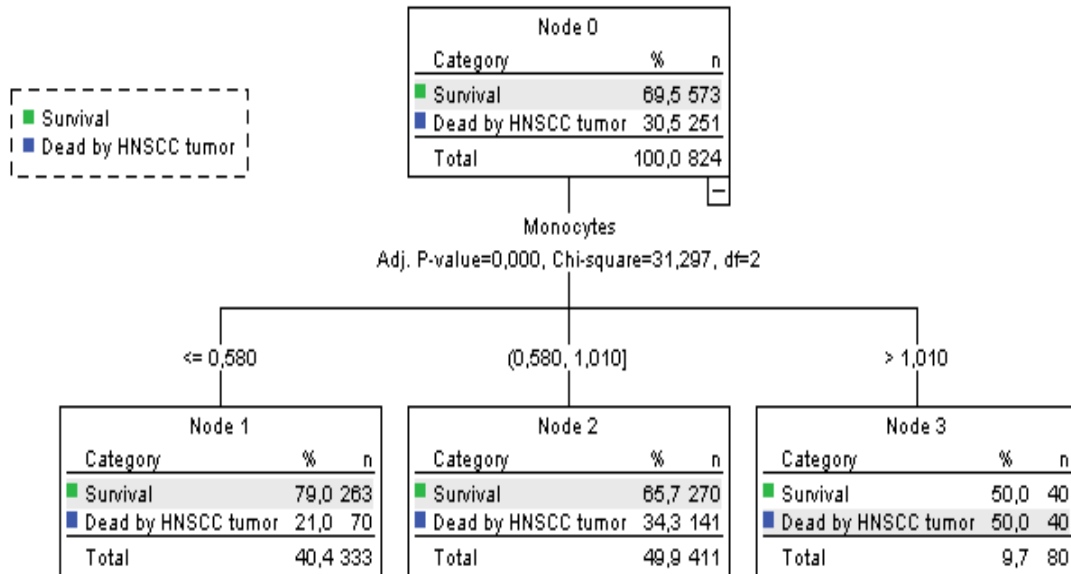


Figura 54. Árbol de clasificación del recuento de monocitos obtenido con un RPA.

La siguiente figura muestra la supervivencia específica de los pacientes en función de las categorías definidas con el RPA ($p=0.0001$).

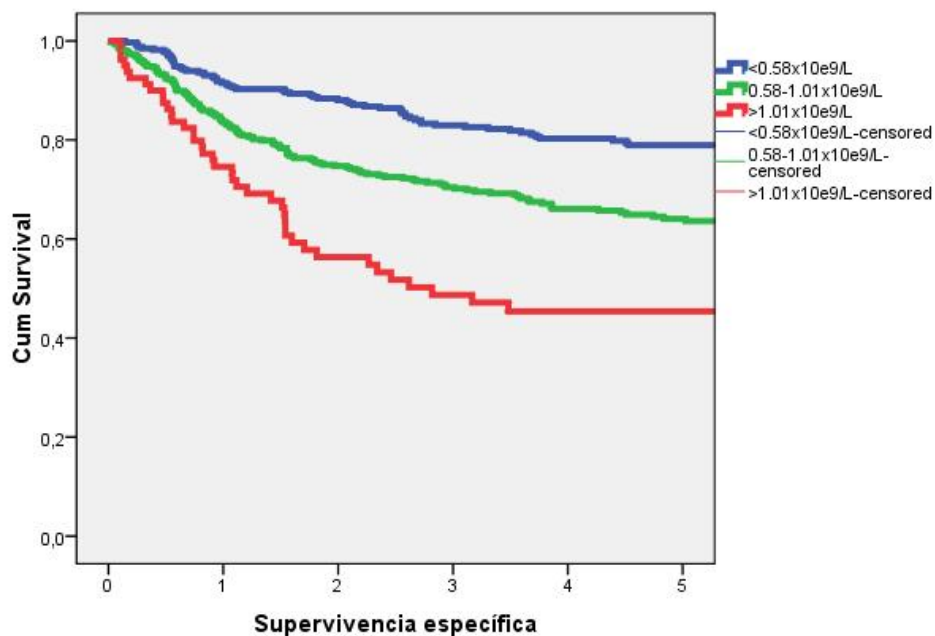


Figura 55. Curvas de supervivencia específica según la categoría del recuento de monocitos obtenida con el RPA.

La supervivencia a los 5 años para los pacientes con una cifra de monocitos inferior a $0.58 \times 10^9/L$ fue del 79.0% (IC 95% 74.3-83.7%), para los pacientes con un valor entre $0.58-1.10 \times 10^9/L$ del 64.1% (IC 95% 59.0-69.2%), y para los pacientes con una cifra superior a $1.10 \times 10^9/L$ del 45.4% (IC 95% 33.6-57.2%).

La siguiente tabla muestra los valores de la supervivencia libre de recidiva local, regional y a distancia a los 5 años de los pacientes en función de la categoría cifra de monocitos (entre paréntesis el IC 95%).

Monocitos				
	<0.58 x 10⁹/L	0.58-1.10 x 10⁹/L	>1.10 x 10⁹/L	p
Local	78.0% (73.3-82.7%)	68.6% (63.9-73.3%)	56.2% (44.2-68.2%)	0.0001
Regional	89.6% (86.1-93.1%)	78.4% (74.1-82.7%)	72.7% (62.3-83.1%)	0.0001
A distancia	92.2% (89.1-95.3%)	87.2% (83.3-91.1%)	84.9% (75.7-94.1%)	0.101

Tabla 22. Supervivencia libre de recidiva local, regional y a distancia a los 5 años en función de la categoría cifra de monocitos (entre paréntesis el IC 95%).

Tanto el control local, regional como a distancia empeoró a medida que se incrementaba la cifra de monocitos, alcanzando las diferencias una significación estadística en las supervivencias libres de recidiva local y regional.

Las siguientes tablas muestran la distribución de los pacientes de acuerdo con las categorías establecidas por el RPA en función del estadiaje y del tipo de tratamiento realizado.

		Nodos terminales según el RPA			Total
		<0.58 x 10 ⁹ /L	0.58-1.01 x10 ⁹ /L	>1.01 x 10 ⁹ /L	
Estadio I-II		156 51.7%	137 45.4%	9 3.0%	302 100.0%
	Estadio III-IV	177 33.9%	274 52.5%	71 13.6%	522 100.0%
Total		333 40.4%	411 49.9%	80 9.7%	824 100.0%

Tabla 23. Distribución de los pacientes en función de las categorías en la cifra de monocitos pre-tratamiento según el estadiaje tumoral.

		Nodos terminales según el RPA			Total
		<0.58 x10 ⁹ /L	0.58-1.01 x10 ⁹ /L	>1.01 x10 ⁹ /L	
Cirugía +/- RT /QT-RT		119 44.4%	130 48.5%	19 7.1%	268 100.0%
	RT / QT-RT	207 39.7%	260 49.9%	54 10.4%	521 100.0%
Total		326 41.3%	390 49.4%	73 9.3%	789 100.0%

* Sólo se incluyeron en el estudio los pacientes tratados con intención radical
RT=Radioterapia, QT= Quimioterapia

Tabla 24. Distribución de los pacientes en función de las categorías en la cifra de monocitos pre-tratamiento según el tratamiento recibido.

Se muestran a continuación las curvas de supervivencia específica en función de la extensión de la enfermedad y del tipo de tratamiento realizado.

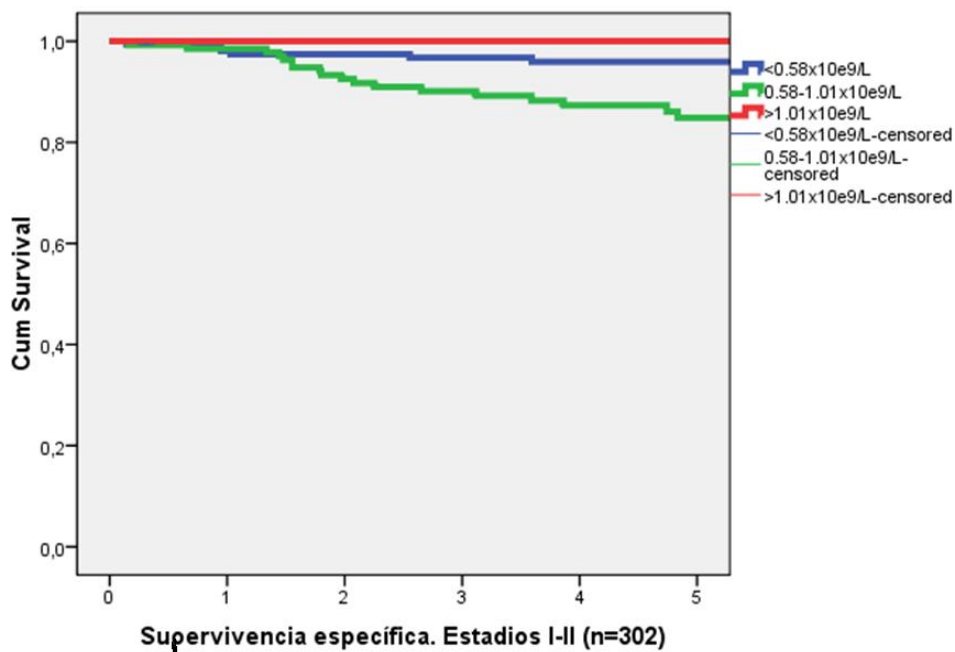


Figura 56. Curvas de supervivencia específica según la cifra de monocitos en los estadios iniciales I-II.

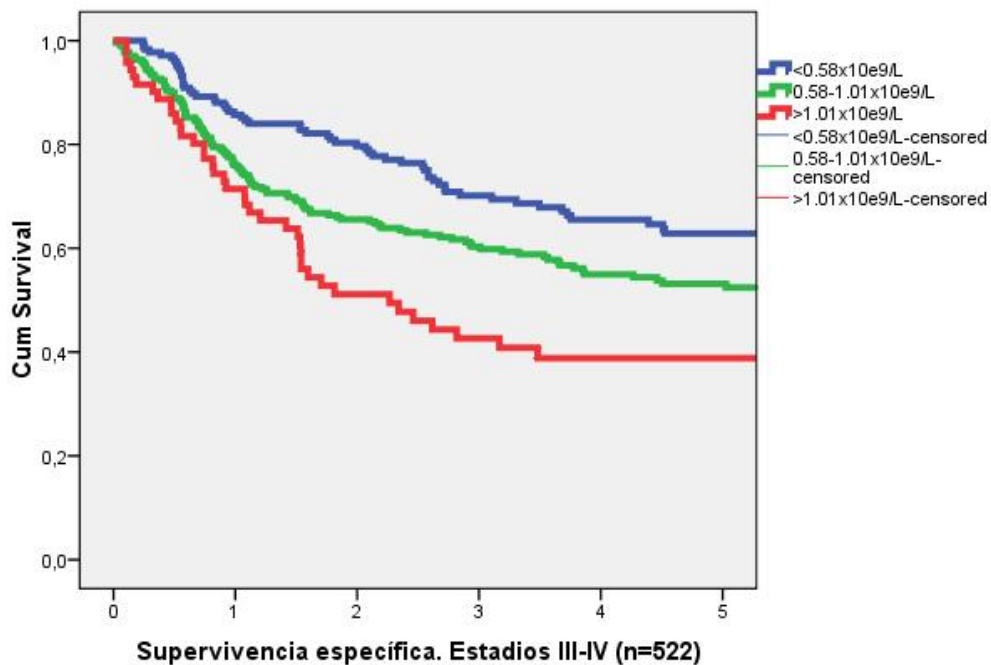


Figura 57. Curvas de supervivencia específica según la cifra de monocitos en los estadios avanzados III-IV.

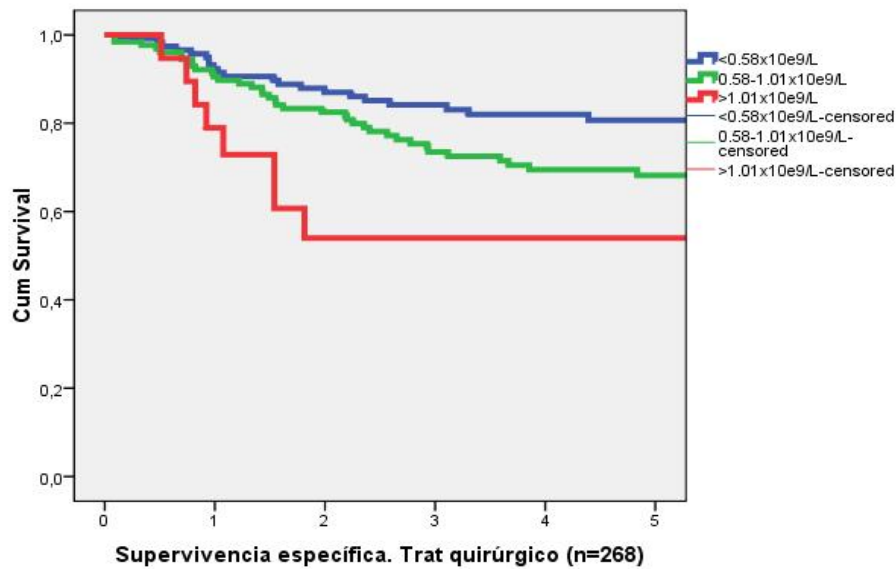


Figura 58. Curvas de supervivencia específica según la cifra de monocitos en los pacientes tratados con cirugía.

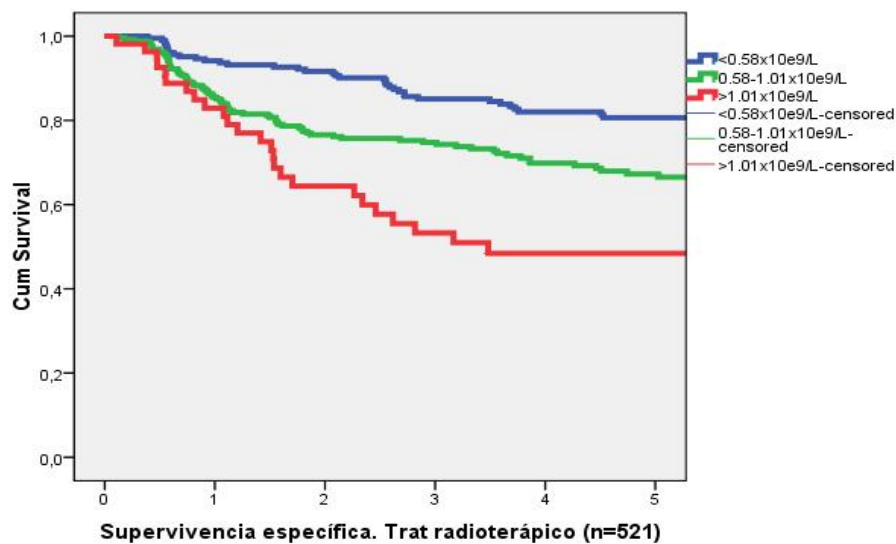


Figura 59. Curvas de supervivencia específica según la cifra de monocitos en los pacientes tratados con radioterapia.

Existieron diferencias significativas para todos los análisis realizados (estadios I-II, $p=0.008$; estadios III-IV, $p=0.0001$; tratamiento quirúrgico, $p=0.009$; tratamiento radioterápico, $p=0.0001$), si bien debe tenerse en cuenta que en el caso de los pacientes con tumores iniciales (estadios I-II), los pacientes incluidos en la categoría de monocitos superiores a $1.01 \times 10^9/L$ fueron los que contaron con una mejor supervivencia.

Al realizar un análisis multivariante, además de la localización y la extensión local y regional del tumor, la categoría recuento de monocitos pre-tratamiento actuó como una variable con capacidad pronóstica independiente. En relación a los pacientes con una cifra de monocitos $<0.58 \times 10^9/L$, los que tuvieron unos valores entre $0.58-1.01 \times 10^9/L$ contaron con un riesgo 1.66 veces superior de morir como consecuencia de la enfermedad (IC 95% 1.24-2.21, $p=0.001$), y los pacientes con unos valores superiores a $1.01 \times 10^9/L$ contaron con un riesgo 2.06 veces superior (IC 95% 1.37-3.08, $p=0.0001$).

		HR	IC 95%	p
Localización	Cavidad oral	1		
	Orofaringe	0.66	0.45-0.95	0.028
	Hipofaringe	0.63	0.40-0.99	0.049
	Laringe	0.46	0.32-0.66	0.0001
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	3.04	2.26-4.09	0.0001
Extensión regional	N0	1		
	N+	2.26	1.67-3.05	0.0001
Grado histológico	Bien diferenciado	1		
	Moderadamente diferenciado	1.21	0.72-2.02	0.464
	Pobrementemente diferenciado	1.11	0.59-2.08	0.742
Monocitos	$<0.58 \times 10^9/L$	1		
	$0.58-1.01 \times 10^9/L$	1.66	1.24-2.21	0.001
	$>1.01 \times 10^9/L$	2.06	1.37-3.08	0.0001

Tabla 25. Análisis multivariante.

3. Relación entre el número de linfocitos pre-tratamiento y el pronóstico en los pacientes con CECC

A diferencia de lo que sucedió en el caso de los monocitos, no se observó ninguna correlación entre el valor pre-tratamiento del recuento de neutrófilos y el recuento de linfocitos, con un coeficiente de correlación de 0.047 ($p=0.175$).

La siguiente figura muestra la distribución de los valores de neutrófilos y linfocitos en los pacientes incluidos en el estudio.

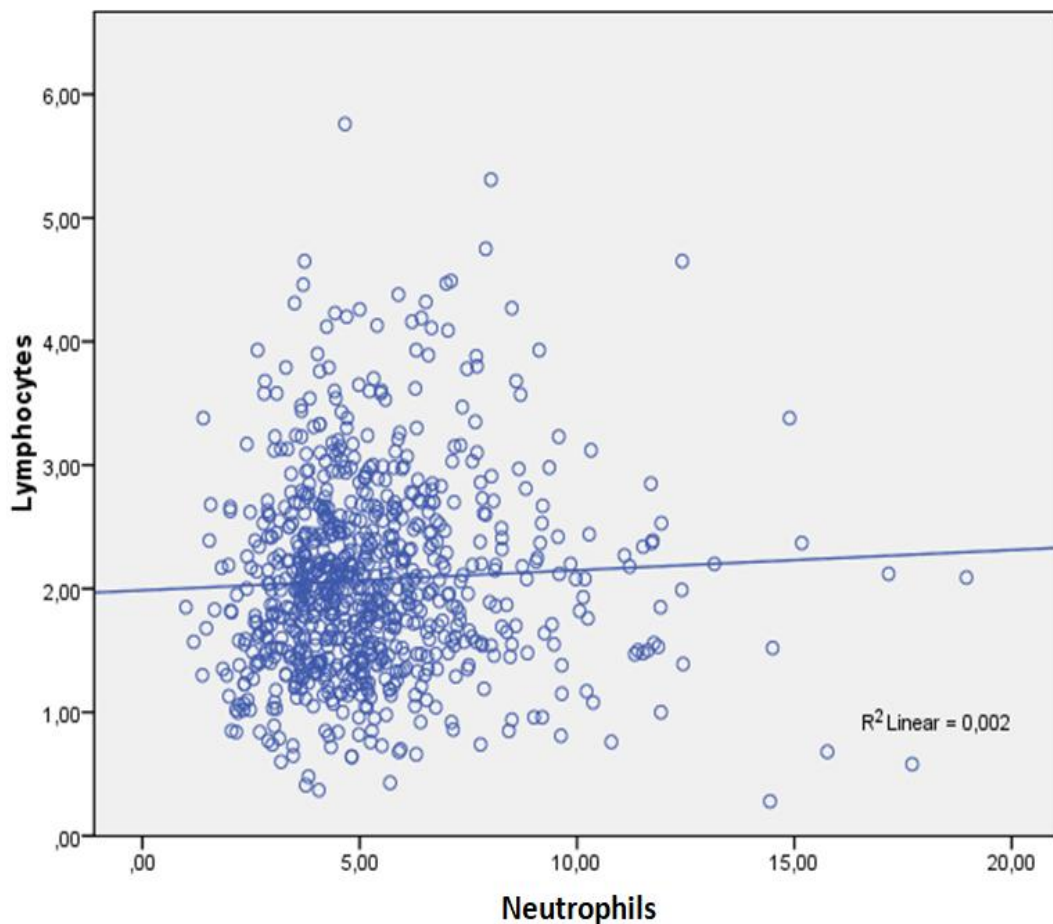


Figura 60. Correlación entre la cifra de linfocitos y de neutrófilos.

Se analizó la relación entre la cifra de linfocitos pre-tratamiento y diferentes variables clínicas.

		Linfocitos ($\times 10^9/L$)	p
Edad	<50 años	2.34	0.001
	50-65 años	2.14	
	>65 años	1.87	
Sexo	Hombres	2.06	0.693
	Mujeres	2.10	
Tabaco	No	1.87	0.003
	<20 cig/día	1.95	
	≥ 20 cig/día	2.13	
Alcohol	No	2.01	0.476
	<80 gr/día	2.08	
	≥ 80 gr/día	2.10	
Localización	Cavidad oral	1.96	0.485
	Orofaringe	2.09	
	Hipofaringe	2.09	
	Laringe	2.08	
T	1	2.09	0.255
	2	2.09	
	3	2.10	
	4	1.95	

		Linfocitos (x10 ⁹ /L)	p
N	0	2.03	0.121
	1	2.09	
	2	2.16	
	3	1.90	
Grado histológico	Bien diferenciado	2.13	0.088
	Moderadamente diferenciado	2.08	
	Pobrementemente diferenciado	1.89	

Tabla 26. Valores promedio de la cifra de linfocitos según diferentes variables clínicas.

En este caso se pudo apreciar la existencia de una disminución en la cifra de linfocitos a medida que aumentaba la edad de los pacientes, su incremento en relación con el consumo de tabaco, y una tendencia que no alcanzó la significación estadística de acuerdo con la cual la cifra de linfocitos disminuía a medida que empeoraba la diferenciación histológica del tumor.

A diferencia de lo que sucedía en el caso de los neutrófilos y los monocitos, no se observó ninguna relación entre la cifra de linfocitos y variables como el sexo, el consumo de alcohol, la localización del tumor primario, y su extensión local o regional.

Al analizar la supervivencia específica en función de la distribución cuartil, se observaron diferencias en el límite de la significación estadística a expensas de los pacientes del 1° cuartil ($p=0.050$). Sólo aquellos en el 1° cuartil, es decir, con el menor recuento de linfocitos, presentaban una mejor supervivencia respecto a los cuartiles restantes. No se observaron diferencias en la supervivencia entre los pacientes agrupados en los cuartiles 2°, 3° y 4°.

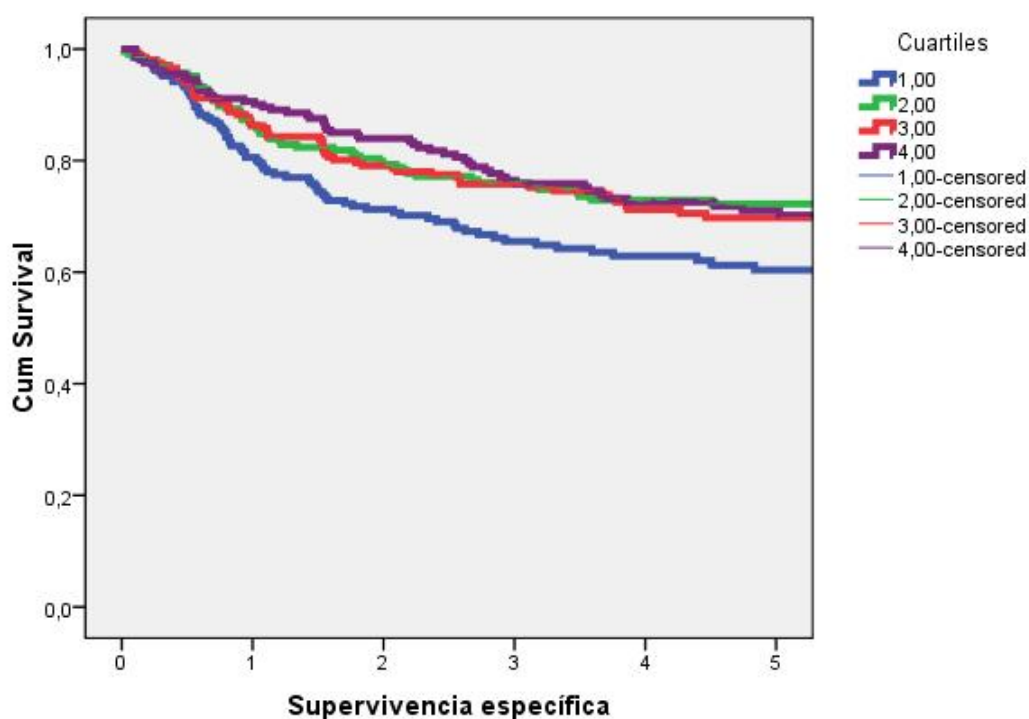


Figura 61. Supervivencia específica según la categoría cuartil del recuento de linfocitos en sangre periférica pre-tratamiento.

En el caso de los linfocitos, el RPA clasificó a los pacientes sólo en dos grupos, con un punto de corte en la cifra de $1.18 \times 10^9/L$ linfocitos.

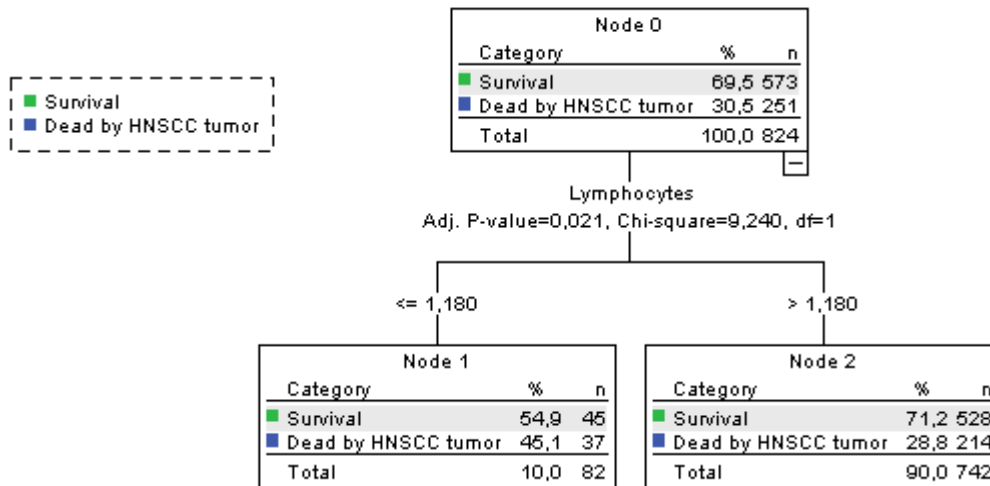


Figura 62. Árbol de clasificación del recuento de linfocitos obtenido con un RPA.

Se discriminó un grupo de pacientes con unas cifras bajas de linfocitos (que representaban el 10% de la población total), y que contaron con un peor pronóstico, en tanto que para el resto de pacientes no aparecieron diferencias significativas en la supervivencia en función de la cifra de linfocitos.

La siguiente figura muestra las curvas de supervivencia en función de las categorías definidas con el RPA en función de la cifra de linfocitos.

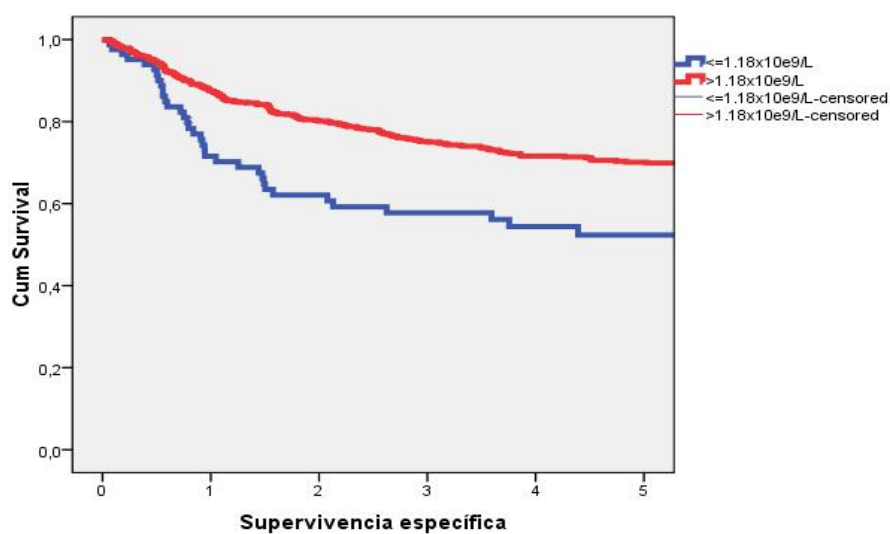


Figura 63. Curvas de supervivencia específica según la categoría del recuento de linfocitos obtenida con el RPA.

La supervivencia específica a los 5 años para los pacientes con unas cifras de linfocitos $<1.18 \times 10^9/L$ fue del 52.3% (IC95% 40.5-64.1%), y para los pacientes con unos valores $>1.18 \times 10^9/L$ del 70.1% (IC95% 66.6-73.6%) ($p=0.0001$).

La capacidad de discriminar un grupo de pacientes con mal pronóstico en aquellos casos con unas cifras bajas de linfocitos se mantuvo en el análisis multivariante.

		HR	IC 95%	p
Localización	Cavidad oral	1		
	Orofaringe	0.70	0.39-1.25	0.240
	Hipofaringe	0.75	0.39-1.45	0.404
	Laringe	0.39	0.21-0.73	0.003
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	2.91	2.01-4.22	0.0001
Extensión regional	N0	1		
	N+	1.89	1.25-2.86	0.002
Grado histológico	Bien diferenciado	1		
	Moderadamente diferenciado	0.88	0.42-1.85	0.744
	Pobremente diferenciado	0.97	0.41-2.26	0.948
Linfocitos	$>1.18 \times 10^9/L$	1		
	$\leq 1.18 \times 10^9/L$	2.76	1.74-4.37	0.0001

Tabla 27. Análisis multivariante.

En relación a los pacientes con una cifra de linfocitos superior a $1.18 \times 10^9/L$, los pacientes con una cifra inferior tuvieron 2.76 más probabilidades de fallecer como consecuencia de la evolución del tumor (IC 95% 1.74-4.37, $p=0.0001$).

Mediante un RPA se analizó de forma individual para cada una de las localizaciones del tumor primario si la cifra de linfocitos contaba con un incremento en la capacidad pronóstica. No se observaron mejoras en la posibilidad de discriminar en cuanto al pronóstico respecto a los resultados obtenidos al analizar la totalidad de las localizaciones de forma conjunta.

La cifra de linfocitos sólo discriminó a un 10% de la población de pacientes con valores más bajos, que contaron con un peor pronóstico. Dada la escasa capacidad de discriminación pronóstica del nivel de linfocitos, no se llevaron a cabo más determinaciones utilizando este parámetro analítico.

4. Relación entre el ratio entre neutrófilos y linfocitos pre-tratamiento (NLR) y el pronóstico en los pacientes con CECC

Finalmente, se analizó la relación existente entre el valor del ratio entre neutrófilos y linfocitos (NLR) y el pronóstico de la enfermedad.

En primer lugar se evaluó la relación existente entre el valor del NLR y las características de los pacientes.

		NLR	p
Edad	<50 años	2.81	0.677
	50-65 años	3.07	
	>65 años	2.98	
Sexo	Hombres	3.08	0.069
	Mujeres	2.56	
Tabaco	No	2.58	0.270
	<20 cig/día	3.11	
	≥20 cig/día	3.05	
Alcohol	No	2.73	0.016
	<80 gr/día	2.86	
	≥80 gr/día	3.38	
Localización	Cavidad oral	2.76	0.137
	Orofaringe	3.34	
	Hipofaringe	3.25	
	Laringe	2.88	

		NLR	p
T	1	2.29	0.001
	2	2.77	
	3	3.36	
	4	3.81	
N	0	2.87	0.001
	1	3.07	
	2	2.99	
	3	4.76	
Grado histológico	Bien diferenciado	2.50	0.032
	Moderadamente diferenciado	3.02	
	Pobrementemente diferenciado	3.57	

Tabla 28. Valores promedio del NLR según diferentes variables clínicas.

Se pudo apreciar un incremento en el valor del NLR a medida que aumentaba el consumo de alcohol, la extensión local y regional del tumor, así como con la pérdida de diferenciación histológica.

La distribución cuartil del NLR se relacionó de forma significativa con el pronóstico, con una disminución progresiva en la supervivencia específica a medida que se incrementaba el valor del NLR.

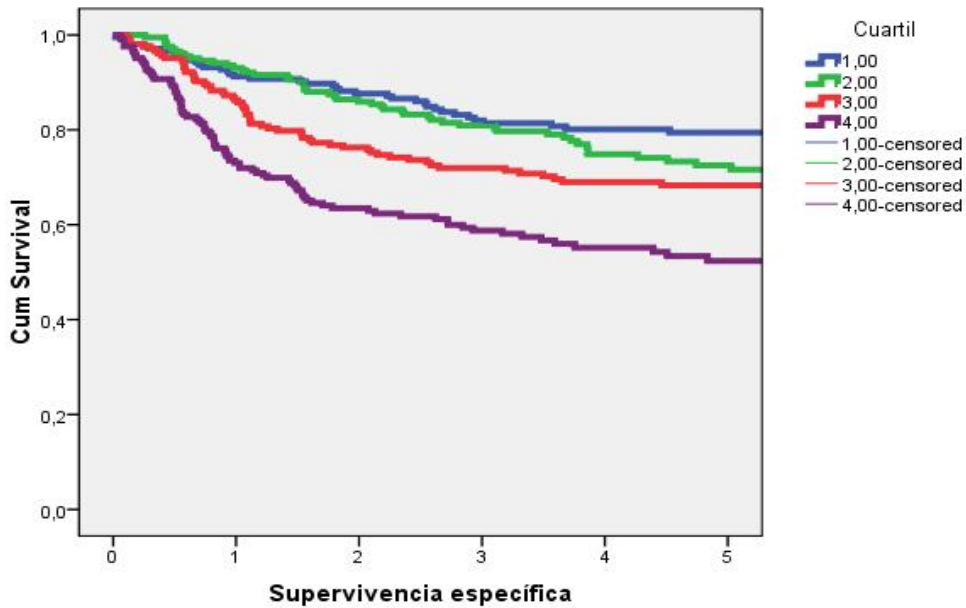


Figura 64. Supervivencia específica según la categoría cuartil del NLR en sangre periférica pre-tratamiento.

Al analizar el NLR mediante un RPA considerando la supervivencia específica como variable dependiente, se obtuvo un árbol de clasificación con tres nodos terminales, con los valores 1.35 y 3.86 como puntos de corte.

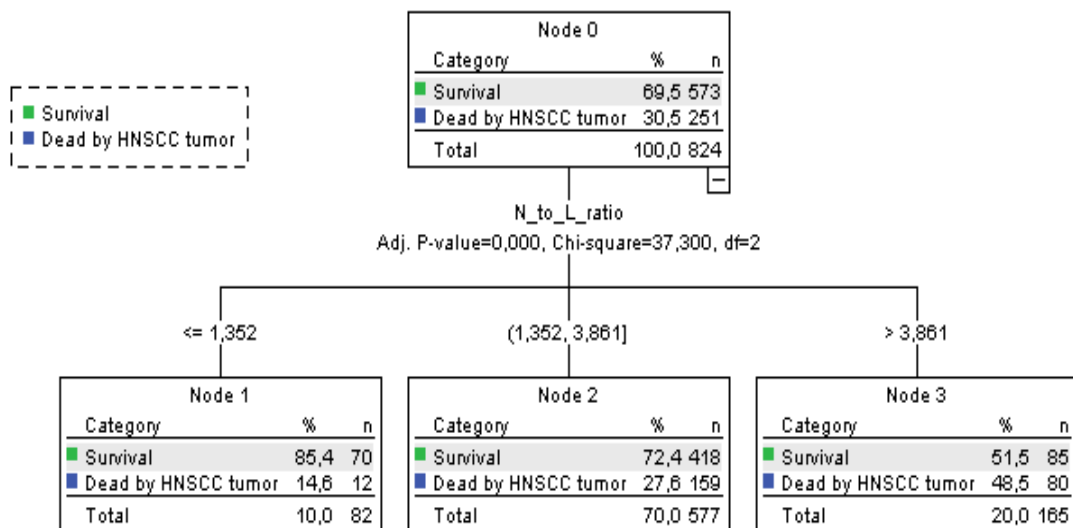


Figura 65. Árbol de clasificación del NLR obtenido con un RPA.

La siguiente figura muestra las curvas de supervivencia específica en función de la categoría del NLR según el RPA.

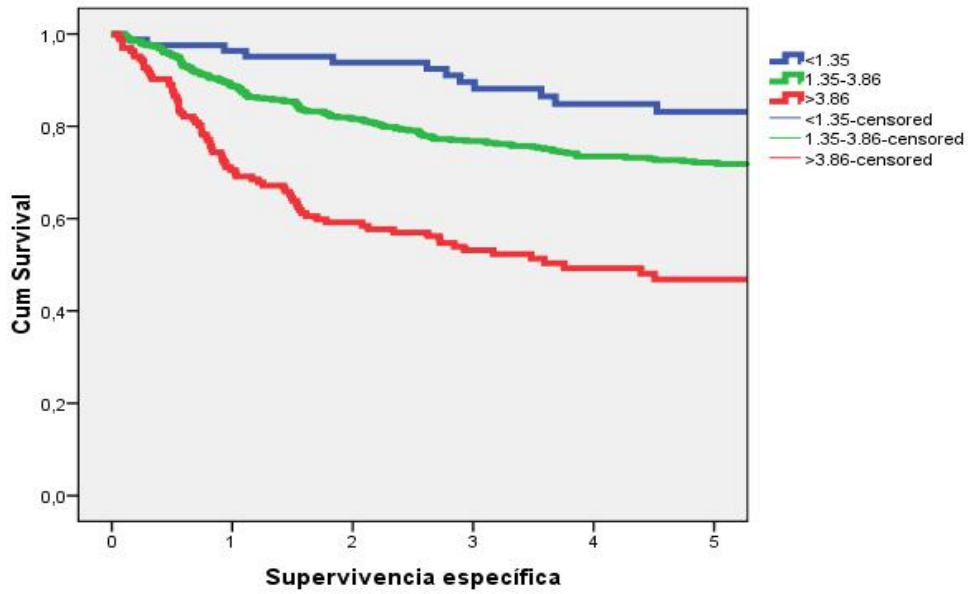


Figura 66. Curvas de supervivencia específica según la categoría del NLR obtenida con el RPA.

Se evaluó el control local, regional y a distancia de la enfermedad en función de la categoría del NLR.

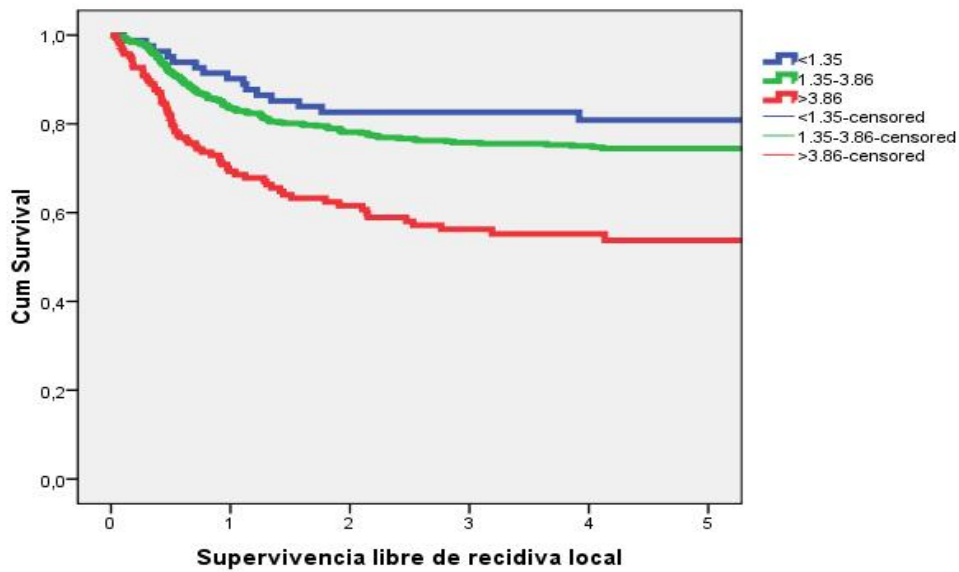


Figura 67. Curvas de supervivencia libre de recidiva local en función del NLR.

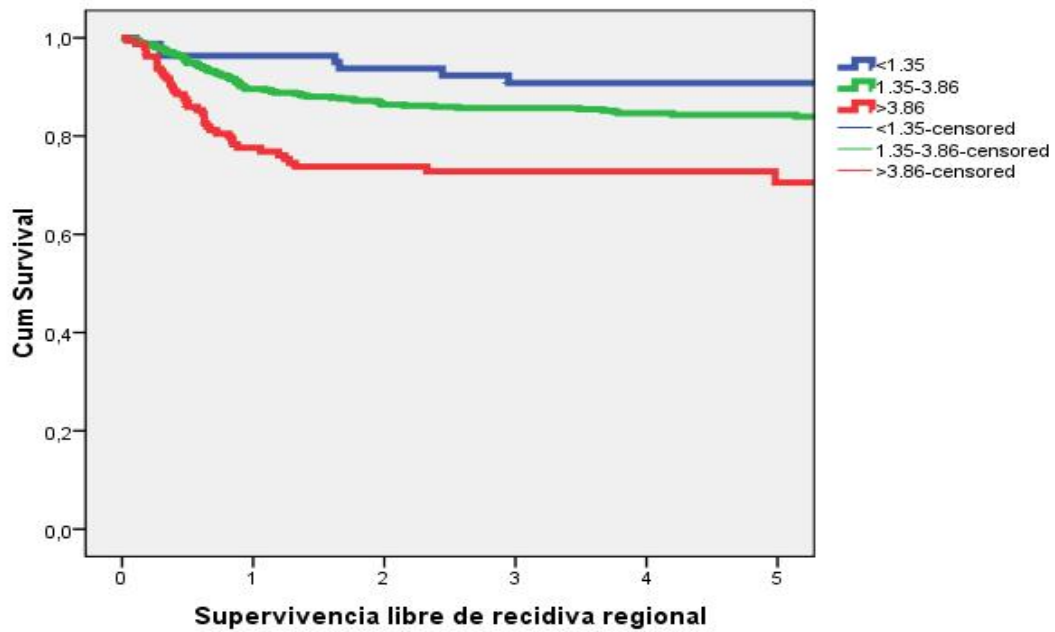


Figura 68. Curvas de supervivencia libre de recidiva regional en función del NLR.

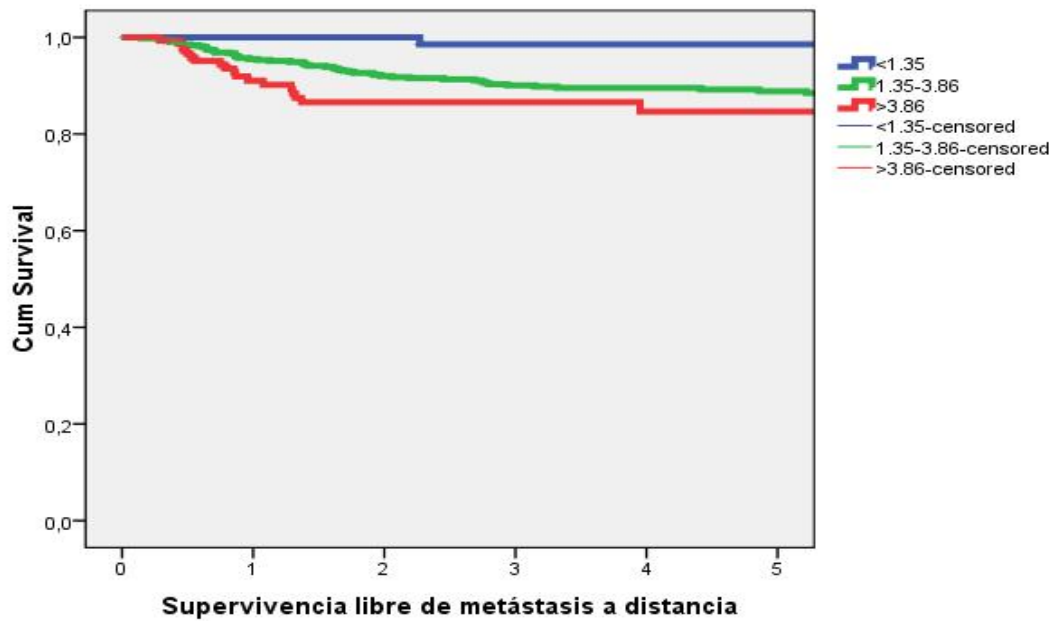


Figura 69. Curvas de supervivencia libre de metástasis a distancia en función del NLR.

Existieron diferencias significativas en la supervivencia libre de recidiva local ($p=0.0001$); regional ($p=0.0001$) y a distancia ($p=0.006$) en función de la categoría del NLR definida con el RPA.

Las siguientes tablas muestran la distribución de los pacientes de acuerdo con el estadiaje tumoral y el tipo de tratamiento realizado en función de las categorías del NLR.

		Nodos terminales según el RPA			Total
		<1.35	1.35-3.86	>3.86	
Estadio I-II		39 12.9%	228 75.5%	35 11.6%	302 100.0%
	Estadio III-IV	43 8.2%	349 66.9%	130 24.9%	522 100.0%
Total		82 10.0%	577 70.0%	165 20.0%	824 100.0%

Tabla 29. Distribución de los pacientes en función de las categorías del NLR pre-tratamiento según el estadiaje tumoral.

		Nodos terminales según el RPA			Total
		<1.35	1.35-3.86	>3.86	
Cirugía +/- RT /QT-RT		26 9.7%	190 70.9%	52 19.4%	268 100.0%
	RT / QT-RT	54 10.4%	369 70.8%	98 18.8%	521 100.0%
Total		80 10.1%	559 70.8%	150 19.0%	789 100.0%

* Sólo se incluyeron en el estudio los pacientes tratados con intención radical
RT=Radioterapia, QT=Quimioterapia

Tabla 30. Distribución de los pacientes en función de las categorías del NLR pre-tratamiento según el tratamiento recibido.

Al analizar la capacidad pronóstica del NLR en función del estadiaje tumoral y del tipo de tratamiento realizado, se pudo comprobar que existían diferencias significativas en función de la categoría del NLR tanto para los pacientes con tumores iniciales (estadios I-II, $p=0.004$), como para los pacientes con tumores avanzados (estadios III-IV, $p=0.0001$). Existieron diferencias significativas en la supervivencia independientemente de que el paciente hubiese recibido un tratamiento quirúrgico ($p=0.0001$) o radioterápico ($p=0.0001$).

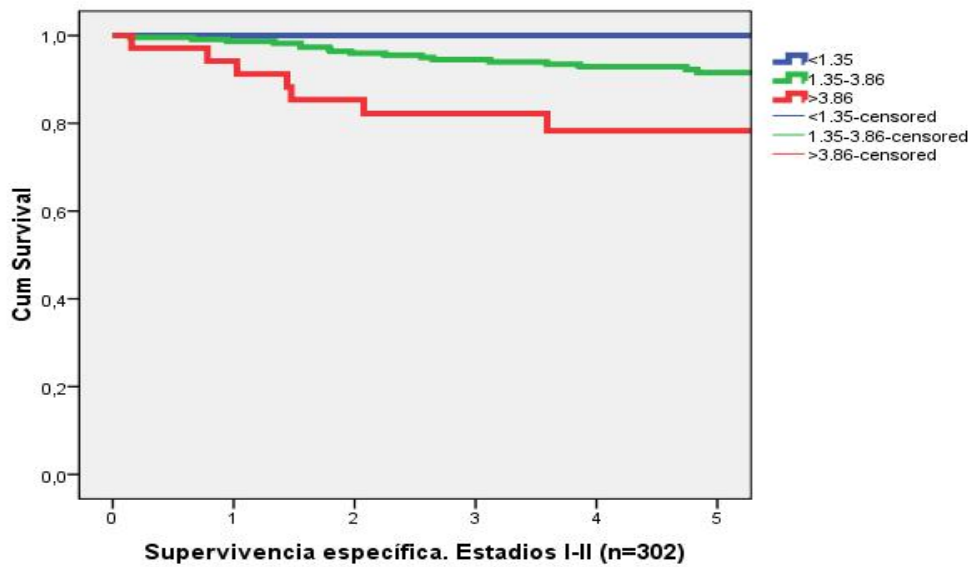


Figura 70. Curvas de supervivencia específica según el NLR en los estadios iniciales I-II.

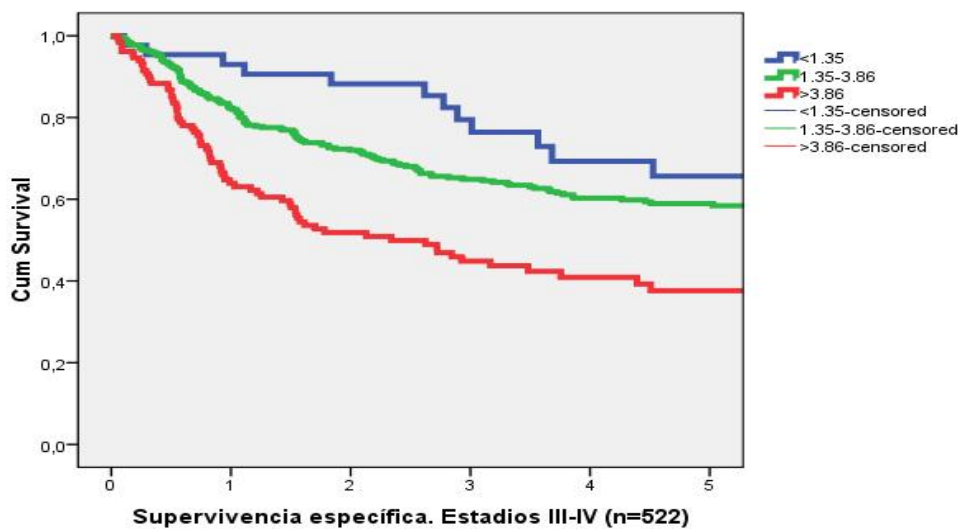


Figura 71. Curvas de supervivencia específica según el NLR en los estadios avanzados III-IV.

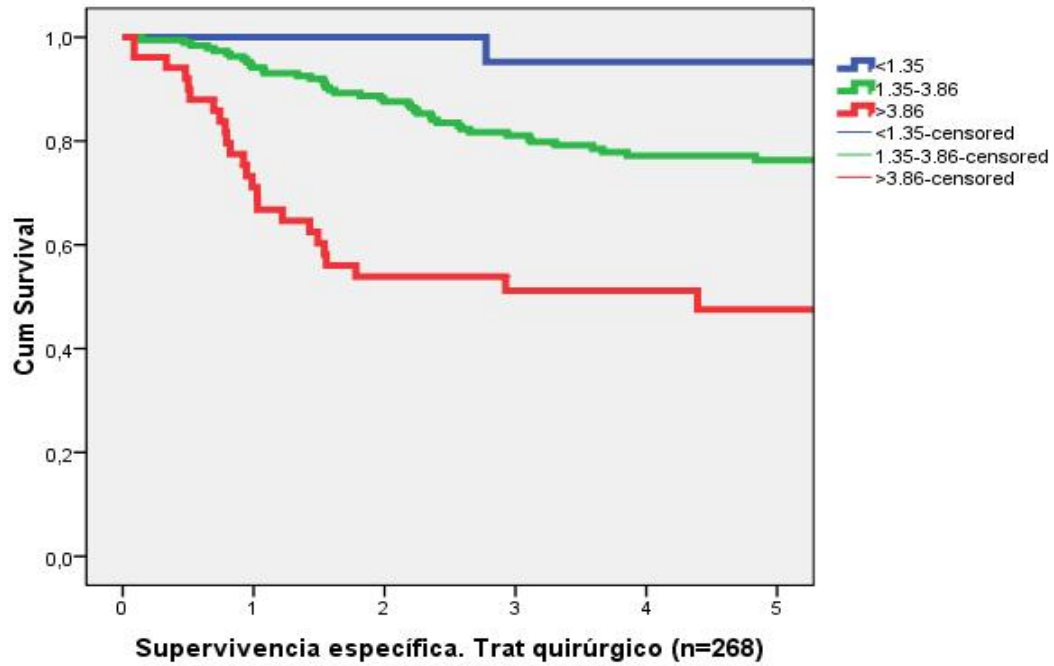


Figura 72. Curvas de supervivencia específica según el NLR en los pacientes tratados con cirugía.

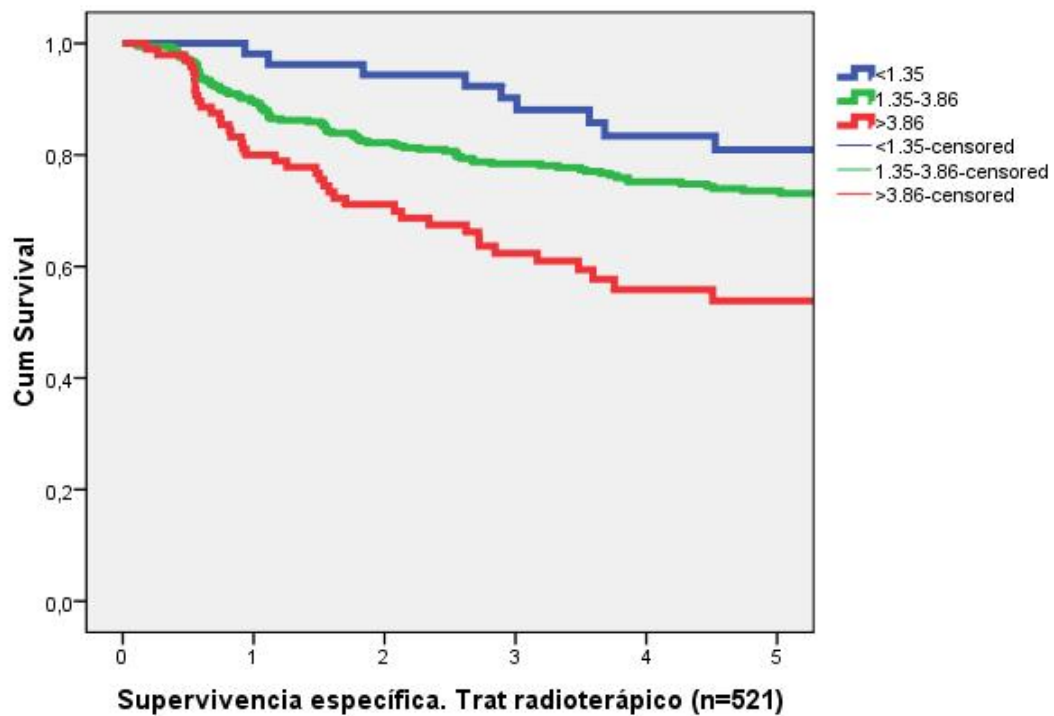


Figura 73. Curvas de supervivencia específica según el NLR en los pacientes tratados con radioterapia.

Al realizar el análisis multivariante incluyendo la categoría del NLR, las variables que se relacionaron de forma significativa con la supervivencia específica fueron la localización del tumor en la hipofaringe y la laringe, la extensión local y regional, y el contar con un valor del NLR superior a 3.86.

		HR	IC 95%	p
Localización	Cavidad oral	1		
	Orofaringe	0.69	0.48-1.01	0.057
	Hipofaringe	0.60	0.38-0.94	0.027
	Laringe	0.47	0.33-0.69	0.0001
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	2.94	2.18-3.97	0.0001
Extensión regional	N0	1		
	N+	2.26	1.67-3.06	0.0001
Grado histológico	Bien diferenciado	1		
	Moderadamente diferenciado	1.18	0.71-1.96	0.517
	Pobremente diferenciado	1.09	0.58-2.05	0.773
NLR	<1.35	1		
	1.35-3.86	1.63	0.90-2.94	0.104
	>3.86	3.18	1.71-5.90	0.0001

Tabla 31. Análisis multivariante.

Si tomamos como grupo de referencia los pacientes con un NLR inferior a 1.35, los pacientes con un valor entre 1.35-3.86 tuvieron un riesgo 1.63 veces superior de mortalidad asociada al tumor, si bien el incremento en el riesgo no alcanzó la significación estadística (IC 95% 0.90-2.94, $p=0.104$). Donde sí se alcanzaron diferencias significativas fue en el grupo de pacientes con un valor del NLR superior a 3.86, que contaron con un incremento en el riesgo de mortalidad específica 3.18 veces superior (IC 95% 1.71-5.90, $p=0.0001$).

5. Valoración conjunta del recuento de neutrófilos, monocitos y linfocitos pre-tratamiento y su relación con el pronóstico en pacientes con CECC

Al incluir en el RPA los valores de las determinaciones de neutrófilos, monocitos y linfocitos de forma conjunta, considerando como variable dependiente la supervivencia específica, se obtuvo un árbol de clasificación con cuatro nodos terminales en función de las cifras de neutrófilos y monocitos.

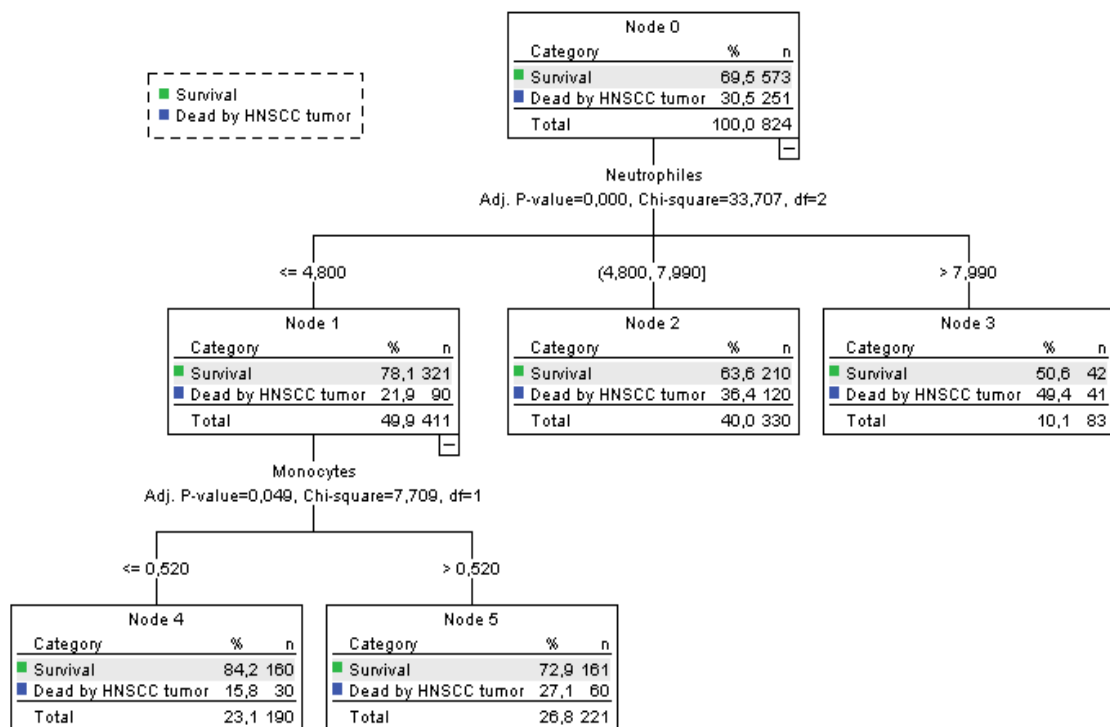


Figura 74. Árbol de clasificación en función de las cifras de neutrófilos y monocitos obtenido mediante un RPA.

Se estableció un primer nivel de clasificación en función del recuento de neutrófilos, con puntos de corte en los valores 4.80 y $7.99 \times 10^9/L$, los cuales coincidieron con los obtenidos en el RPA previo donde sólo se incluyeron los neutrófilos. Para los pacientes con una cifra de neutrófilos inferior a $4.80 \times 10^9/L$ se obtuvo un segundo nivel de clasificación en función de la cifra de monocitos, con un punto de corte situado en los $0.52 \times 10^9/L$ monocitos. Cabe destacar que el modelo no incluyó el número de linfocitos.

Los pacientes con una cifra baja de neutrófilos ($<4.80 \times 10^9/L$) y baja de monocitos ($<0.52 \times 10^9/L$) tuvieron una mejor supervivencia que los pacientes con una cifra baja de neutrófilos ($<4.80 \times 10^9/L$) pero elevada de monocitos ($>0.52 \times 10^9/L$), con diferencias estadísticamente significativas.

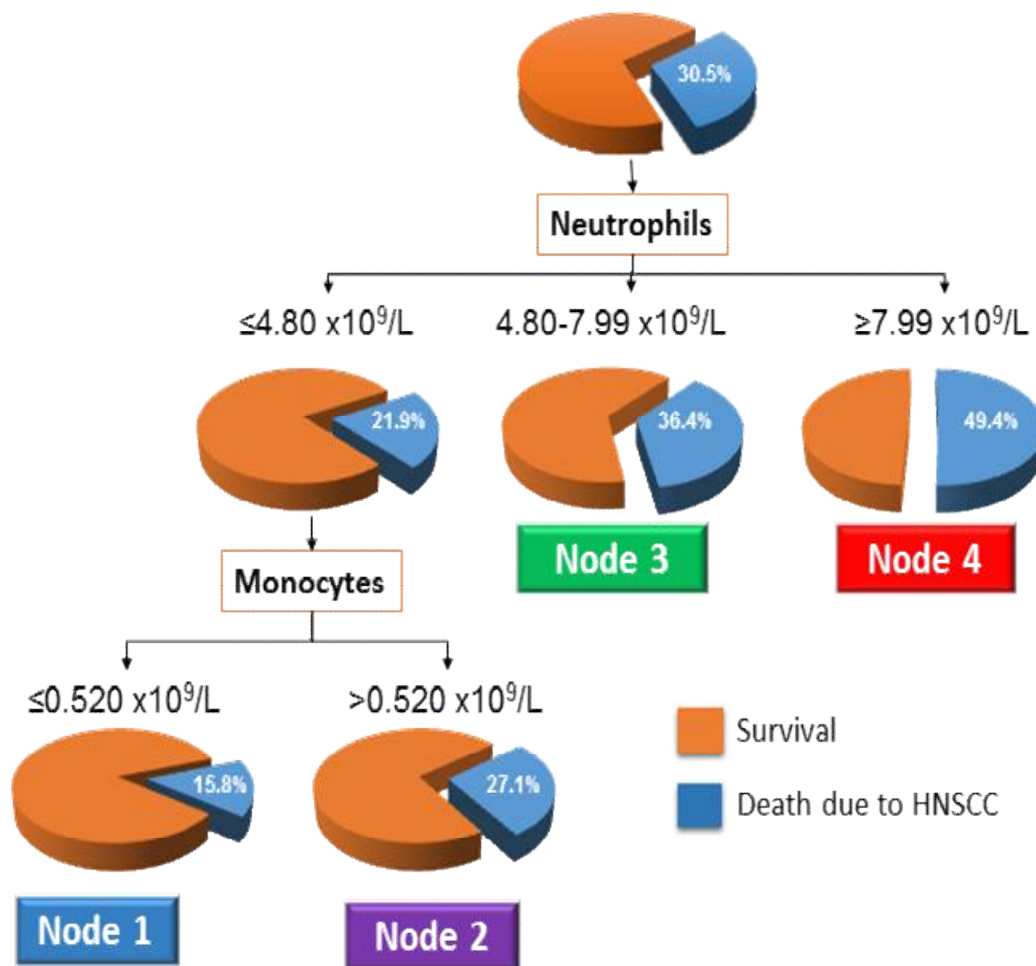


Figura 75. Árbol de clasificación obtenido con el RPA según los recuentos de neutrófilos y monocitos.

La siguiente figura muestra las curvas de supervivencia específica de los 4 nodos terminales obtenidos con el RPA.

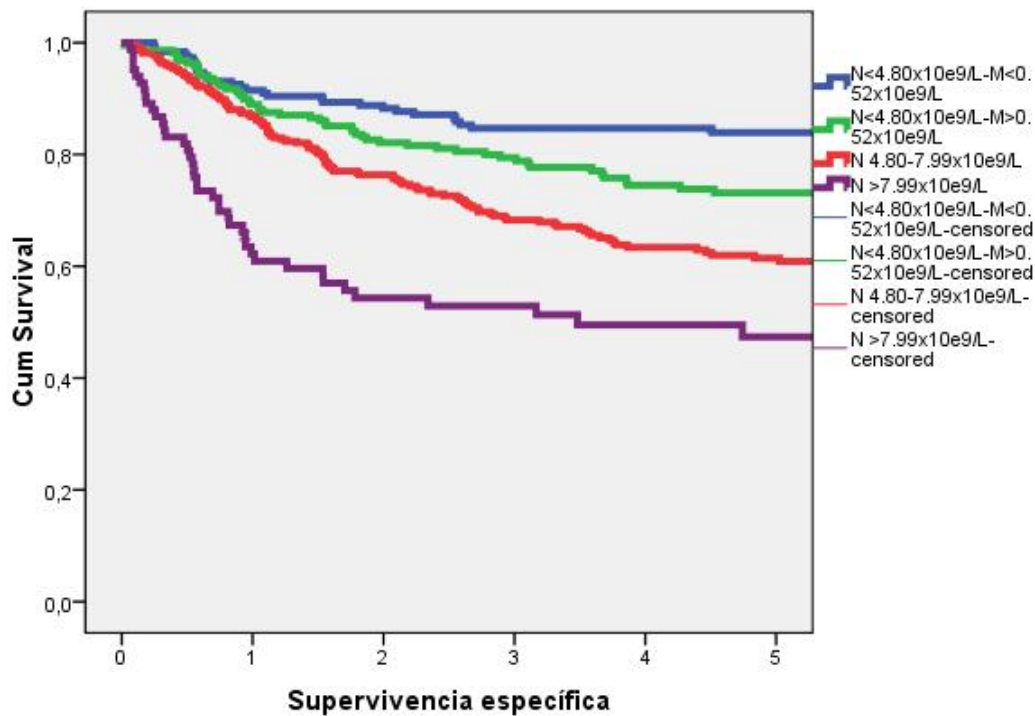


Figura 76. Supervivencia específica de los 4 nodos terminales obtenidos con el RPA.

La supervivencia específica a los 5 años para los pacientes con una cifra de neutrófilos $<4.80 \times 10^9/L$ - monocitos $<0.52 \times 10^9/L$ fue del 83.9% (IC 95% 78.4-89.4%), para los pacientes con neutrófilos $<4.80 \times 10^9/L$ - monocitos $>0.52 \times 10^9/L$ del 73.1% (IC 95% 66.8-79.4%), para los pacientes con neutrófilos entre $4.80-7.99 \times 10^9/L$ del 61.4% (IC 95% 55.7-67.1%), y para los pacientes con neutrófilos $>7.99 \times 10^9/L$ del 47.4% (IC 95% 35.8-59.0%).

Si se analizan sólo los pacientes con una cifra de neutrófilos inferior a $4.80 \times 10^9/L$ en función de la cifra de monocitos, se pudo apreciar la existencia de diferencias significativas en la supervivencia específica ($p=0.003$).

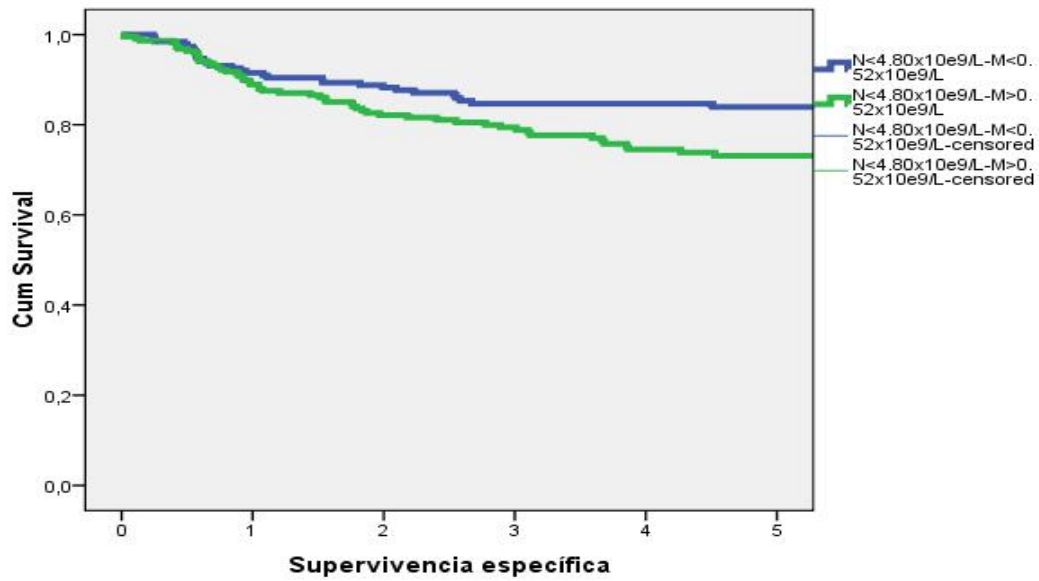


Figura 77. Supervivencia específica de los pacientes con $<4.80 \times 10^9/L$ neutrófilos según la cifra de monocitos.

Se analizó el control local, regional y a distancia de la enfermedad en función de las categorías obtenidas con el RPA donde se incluyeron todos los parámetros hematológicos, recordando que sólo los neutrófilos y los monocitos fueron incluidos en el modelo.

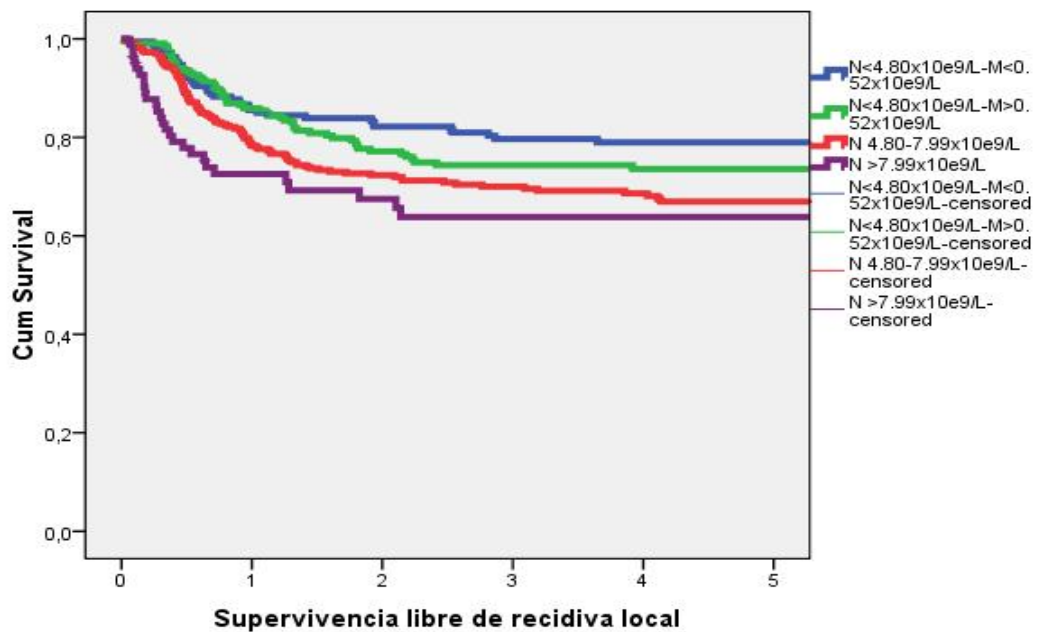


Figura 78. Curvas de supervivencia libre de recidiva local según los nodos terminales obtenidos con el RPA.

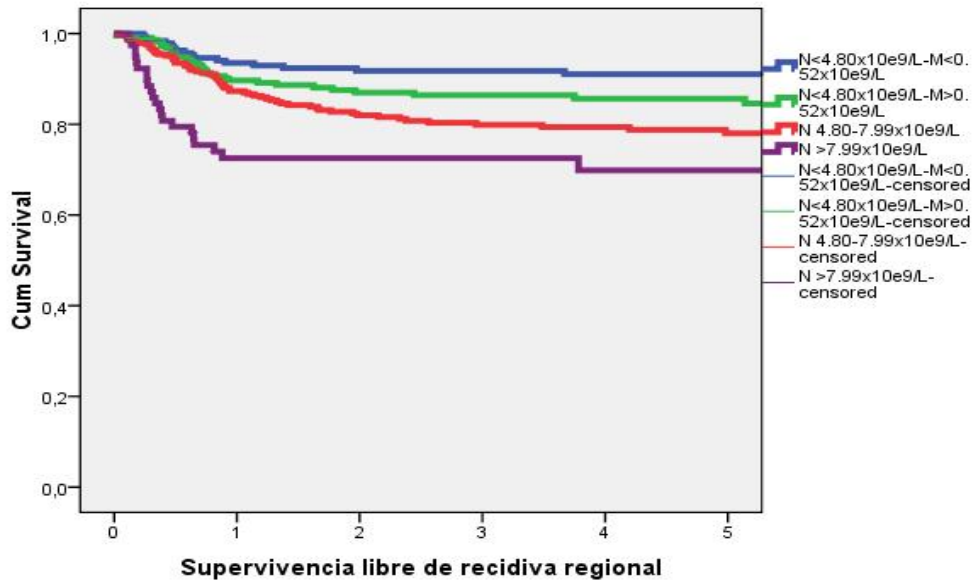


Figura 79. Curvas de supervivencia libre de recidiva regional según los nodos terminales obtenidos con el RPA.

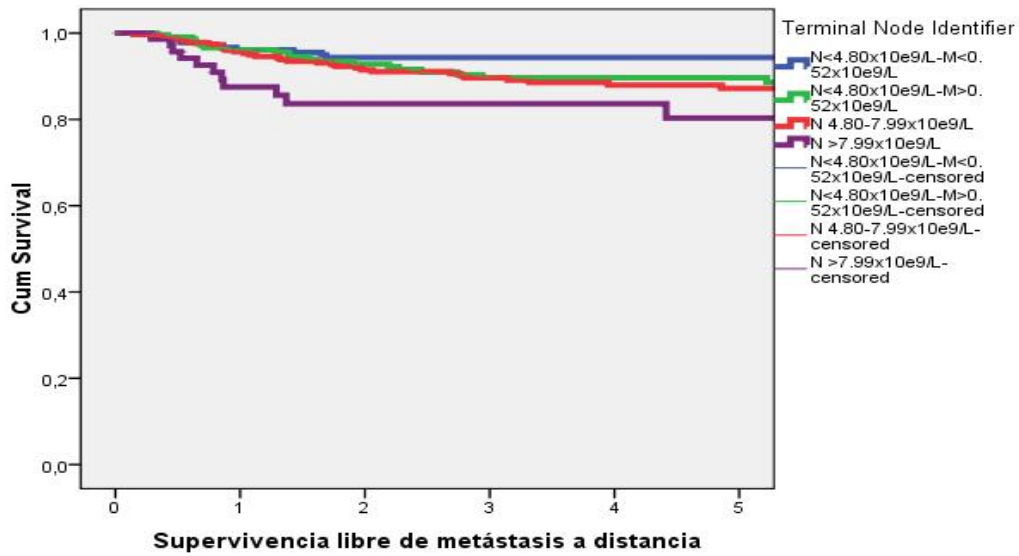


Figura 80. Curvas de supervivencia libre de metástasis a distancia según los nodos terminales obtenidos con el RPA.

Se observó una disminución significativa y ordenada en la supervivencia libre de recidiva local ($p=0.005$), regional ($p=0.0001$) y a distancia ($p=0.018$) a medida que se incrementaba la categoría definida de acuerdo con el RPA.

A continuación se analizó la capacidad pronóstica del modelo de acuerdo con el estadiaje tumoral y el tipo de tratamiento realizado. Las siguientes tablas muestran la distribución de los pacientes en función del estadiaje tumoral (estadios I-II vs III-IV) y el tipo de tratamiento empleado (quirúrgico vs radioterápico) de acuerdo con las categorías definidas en el RPA.

	Nodos terminales según el RPA				Total
	N<4.80- M<0.52 (x10 ⁹ /L)	N<4.80- M>0.52 (x10 ⁹ /L)	N 4.80- 7.99 (x10 ⁹ /L)	N >7.99 (x10 ⁹ /L)	
Estadios I-II	103 34.1%	89 29.5%	102 33.8%	8 2.6%	302 100.0%
Estadios III-IV	87 16.7%	132 25.3%	228 43.7%	75 14.4%	522 100.0%
Total	190 23.1%	221 26.8%	330 40.0%	83 10.1%	824 100.0%

Tabla 32. Distribución de los pacientes en función de las categorías obtenidas en el RPA según el estadiaje tumoral.

	Nodos terminales según el RPA				Total
	N<4.80- M<0.52 (x10 ⁹ /L)	N<4.80- M>0.52 (x10 ⁹ /L)	N 4.80- 7.99 (x10 ⁹ /L)	N >7.99 (x10 ⁹ /L)	
Cirugía +/- RT/QT-RT	60 22.4%	69 25.7%	116 43.3%	23 8.6%	268 100.0%
RT / QT-RT	124 23.8%	148 28.4%	199 38.2%	50 9.6%	521 100.0%
Total	184 23.3%	217 27.5%	315 39.9%	73 9.3%	789 100.0%

* Sólo se incluyeron pacientes tratados con intención radical
RT=Radioterapia, QT=Quimioterapia

Tabla 33. Distribución de los pacientes en función de las categorías obtenidas en el RPA según el tratamiento recibido.

Las siguientes figuras muestran la supervivencia específica de los pacientes dependiendo del estadiaje de la enfermedad y del tipo de tratamiento empleado.

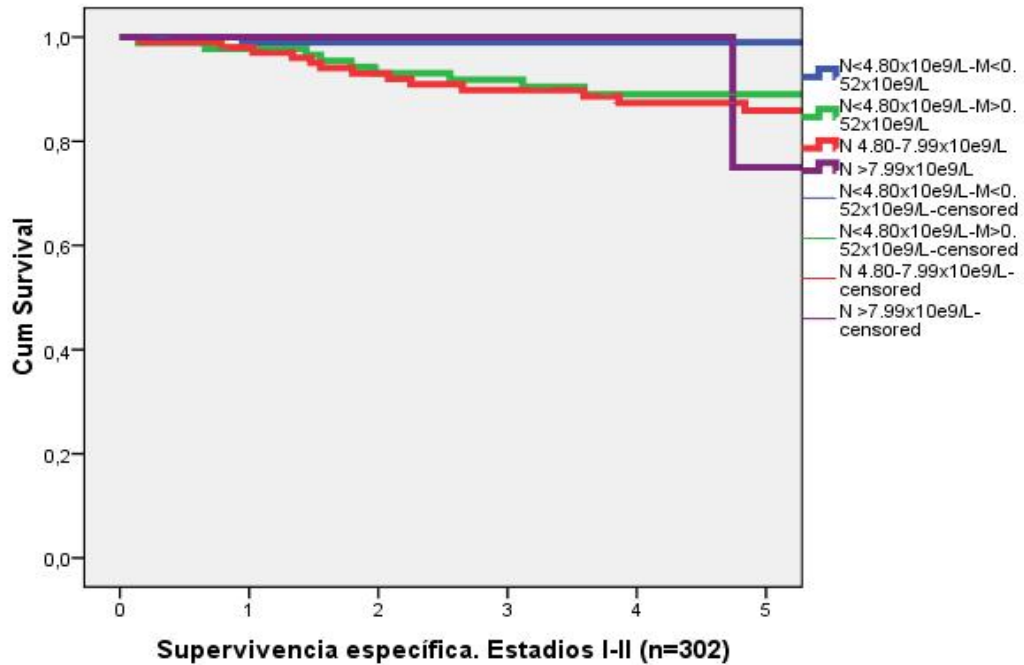


Figura 81. Curvas de supervivencia específica de los 4 nodos terminales en los estadios iniciales I-II.

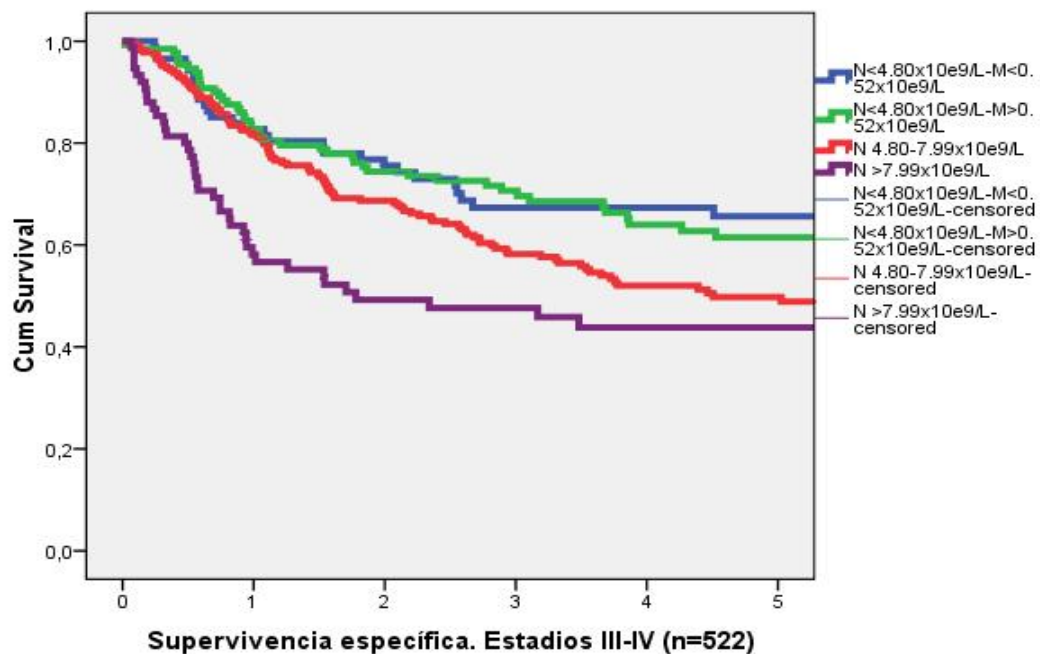


Figura 82. Curvas de supervivencia específica de los 4 nodos terminales en los estadios avanzados III-IV.

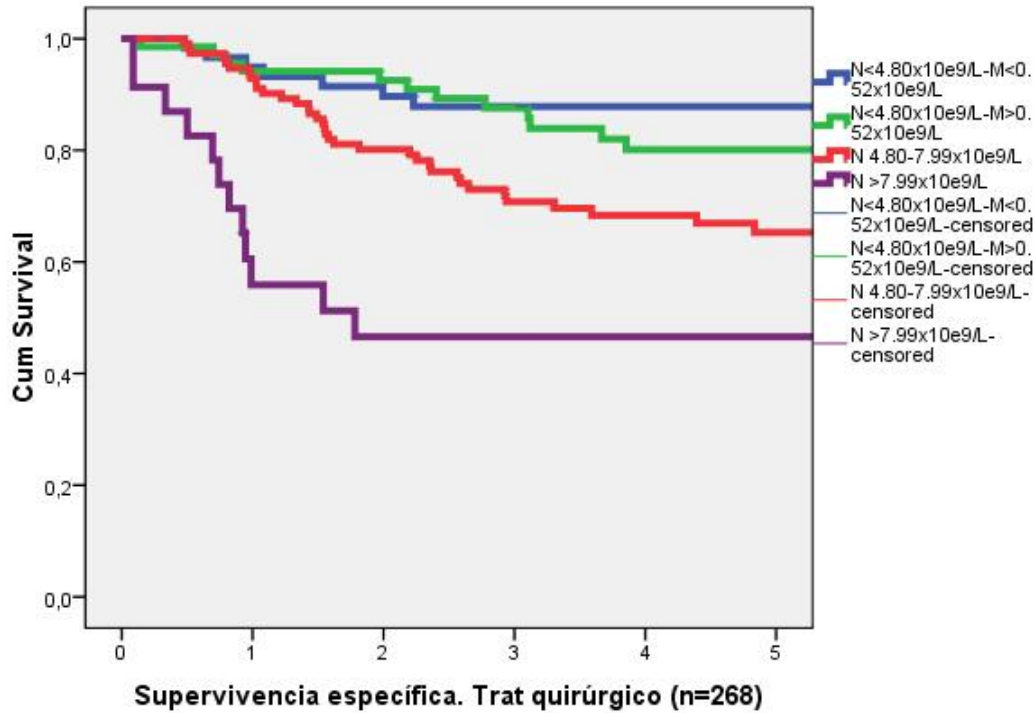


Figura 83. Curvas de supervivencia específica de los 4 nodos terminales en los pacientes tratados con cirugía.

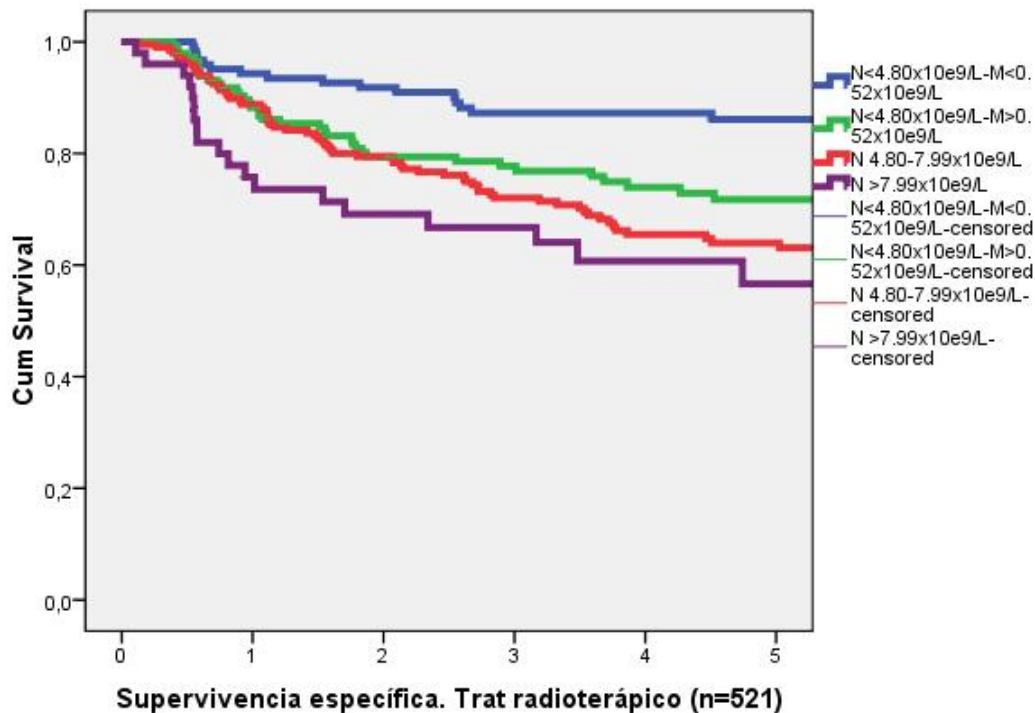


Figura 84. Curvas de supervivencia específica de los 4 nodos terminales en los pacientes tratados con radioterapia.

Se observó una disminución significativa y ordenada de la supervivencia específica a medida que se incrementaba la categoría definida de acuerdo con el RPA tanto para los pacientes con tumores iniciales (estadios I-II, $p=0.008$), como para aquellos con tumores avanzados (estadios II-IV, $p=0.002$). Existieron diferencias significativas en la supervivencia específica independientemente de que los pacientes fueran tratados con cirugía ($p=0.0001$) o radioterapia ($p=0.0001$).

Mediante un análisis multivariante se comprobó la capacidad pronóstica de los valores de neutrófilos y monocitos de forma conjunta.

		HR	IC 95%	p
Localización	Cavidad oral	1		
	Orofaringe	0.68	0.47-0.99	0.046
	Hipofaringe	0.61	0.38-0.95	0.031
	Laringe	0.47	0.33-0.69	0.0001
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	2.93	2.17-3.96	0.0001
Extensión regional	N0	1		
	N+	2.21	1.63-2.99	0.0001
Grado histológico	Bien diferenciado	1		
	Moderadamente diferenciado	1.19	0.71-1.99	0.491
	Pobrementemente diferenciado	1.16	0.62-2.18	0.631
Parámetros hematológicos	N<4.80-M<0.52 x10 ⁹ /L	1		
	N<4.80-M>0.52 x10 ⁹ /L	1.48	0.95-2.30	0.079
	N 4.80-7.99 x10 ⁹ /L	1.83	1.22-2.76	0.004
	N >7.99 x10 ⁹ /L	2.45	1.50-4.00	0.0001
N= Neutrófilos				
M= Monocitos				

Tabla 34. Análisis multivariante.

Además de la localización del tumor primario y de la extensión local y regional de la enfermedad, la categorización de acuerdo con los valores de neutrófilos y monocitos de forma conjunta contó con capacidad pronóstica.

En relación a los pacientes con cifras de neutrófilos inferiores a $4.80 \times 10^9/L$ y de monocitos inferiores a $0.52 \times 10^9/L$, los pacientes con un recuento de neutrófilos inferior a $4.80 \times 10^9/L$ y de monocitos superior a $0.52 \times 10^9/L$ tuvieron un riesgo de fallecer como consecuencia de la enfermedad 1.48 veces superior, si bien las diferencias no alcanzaron la significación estadística (IC 95% 0.95-2.30, $p=0.079$). En cambio los pacientes con neutrófilos entre $4.80-7.99 \times 10^9/L$ tuvieron un riesgo 1.83 veces superior de fallecer debido a la enfermedad (IC 95% 1.22-2.76, $p=0.004$), y los pacientes con neutrófilos superiores a $7.99 \times 10^9/L$ un riesgo 2.45 veces superior (IC 95% 1.50-4.00, $p=0.0001$).

Más del 50% de los pacientes incluidos en el estudio tenían un tumor primario localizado en la laringe. Se repitieron todos los análisis sólo teniendo en cuenta a los pacientes con tumores localizados en la laringe y los resultados fueron muy similares a los obtenidos cuando se incluyeron todos los pacientes.

6. Comparación de la capacidad pronóstica del recuento de neutrófilos, monocitos, linfocitos y del NLR

Se comparó la capacidad pronóstica del recuento absoluto de los neutrófilos, monocitos y linfocitos y del NLR mediante curvas ROC, considerando la supervivencia específica como variable dependiente.

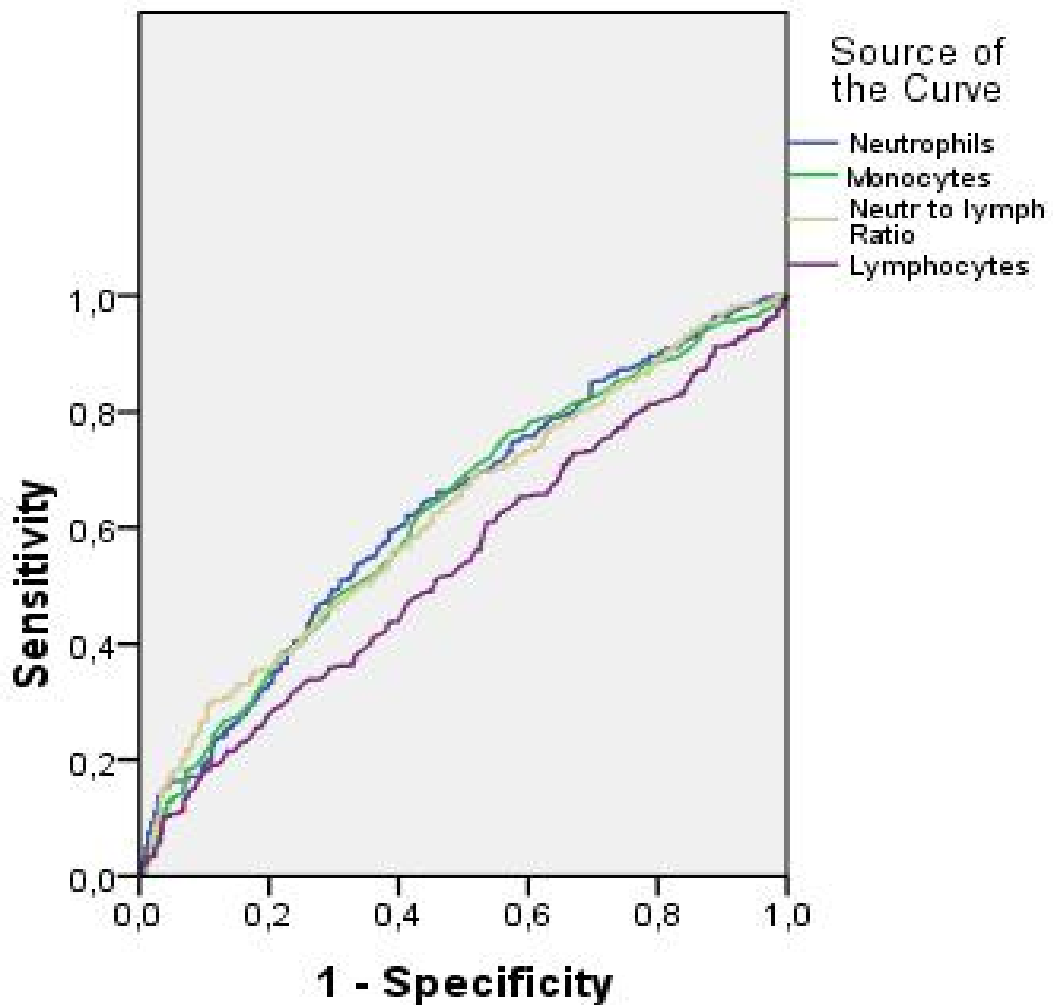


Figura 85. Curvas ROC de los diferentes parámetros hematológicos.

La siguiente tabla muestra los valores del área bajo la curva (AUC) de las curvas ROC para cada una de las determinaciones.

	AUC	IC 95%	
		Límite inferior	Límite superior
Neutrófilos	0.630	0.589	0.671
NLR	0.624	0.582	0.666
Monocitos	0.623	0.582	0.665
Linfocitos	0.541	0.498	0.585

Tabla 35. Áreas bajo la curva de las curvas ROC de los diferentes parámetros hematológicos.

La variable que mostró una relación más intensa con la supervivencia específica fue el recuento de neutrófilos, seguido por el NLR y el recuento de monocitos, en tanto que la que mostró una relación menos significativa fue el recuento de linfocitos.

7. Capacidad pronóstica de los neutrófilos, monocitos y linfocitos y del NLR en los pacientes con carcinomas de orofaringe en función del estatus HPV

Si se analiza de nuevo la tabla incluida en Material y Métodos donde se mostraba la distribución de las variables clínicas de los pacientes según el estatus HPV, podemos observar como los pacientes con tumores HPV positivos tuvieron una tendencia a contar con una mayor proporción de mujeres, con una menor frecuencia en el antecedente de consumo de tabaco y alcohol, y con tumores con una categoría de extensión local más reducida.

		HPV negativos	HPV positivos	p
Edad	<50 años	20 (19.5%)	3 (12.5%)	0.496
	50-65 años	58 (57.4%)	13 (54.2%)	
	>65 años	23 (22.8%)	8 (33.3%)	
Sexo	Hombres	90 (89.1%)	18 (75.0%)	0.095
	Mujeres	11 (10.9%)	6 (25.0%)	
Tabaco	No	1 (1.0%)	9 (37.5%)	0.0001
	<20 cig/día	14 (13.9%)	5 (20.8%)	
	≥20 cig/día	86 (85.1%)	10 (41.7%)	
Alcohol	No	11 (10.9%)	12 (50.0%)	0.0001
	<80 gr/día	29 (28.7%)	8 (33.3%)	
	≥80 gr/día	61 (60.4%)	4 (16.7%)	
T	T1-T2	43 (42.6%)	16 (66.7%)	0.042
	T3-T4	58 (57.4%)	8 (33.3%)	
N	N0	30 (29.7%)	4 (16.4%)	0.197
	N+	71 (70.3%)	20 (83.3%)	

Tabla 36. Distribución de las variables clínicas según el estatus HPV.

Inicialmente se analizó la supervivencia específica en función del estatus HPV, observándose que los pacientes con tumores HPV positivos tuvieron una supervivencia específica significativamente superior a la de los pacientes con tumores HPV negativos ($p=0.008$).

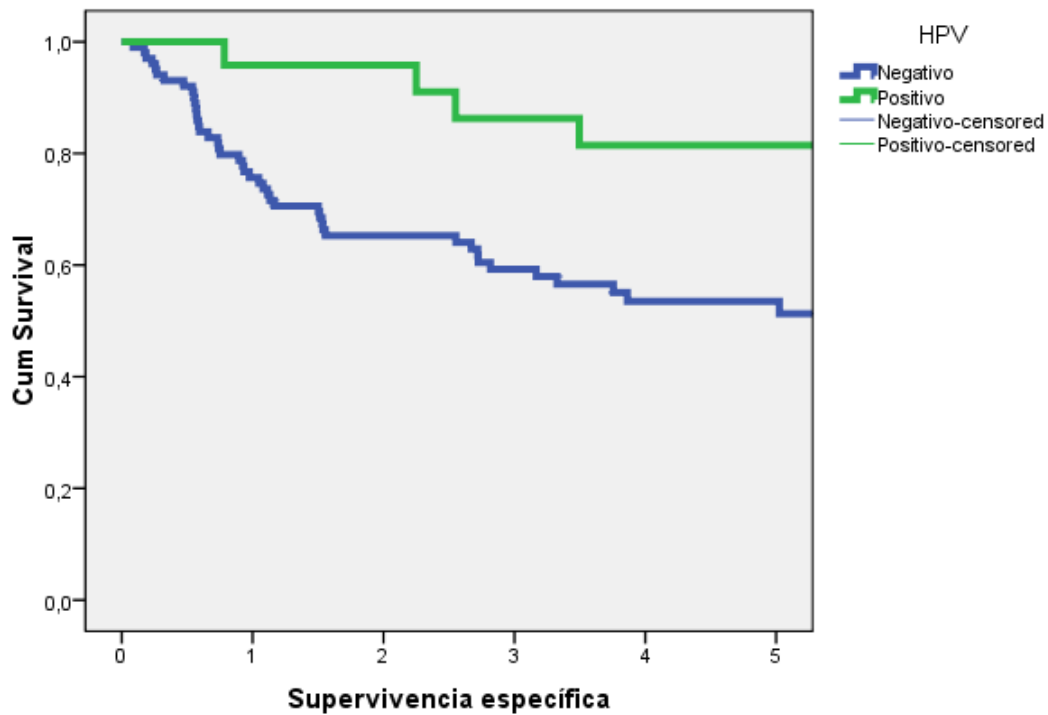


Figura 86. Supervivencia específica según el status HPV.

La supervivencia específica a los 5 años para los pacientes con tumores HPV negativos fue del 53.5% (IC 95% 43.1-63.9%), y para los pacientes con tumores HPV positivos fue del 81.5% (IC 95% 65.0-98.0%).

La siguiente tabla muestra los promedios en las cifras de neutrófilos, monocitos, linfocitos y NLR de acuerdo con el estatus HPV.

	HPV	N	Media	Desviación estándar	p
Neutrófilos	Negativo	101	6.0889	3.15167	0.007
	Positivo	24	4.7867	1.71490	
Monocitos	Negativo	101	0.8388	0.32603	0.004
	Positivo	24	0.6333	0.28848	
Linfocitos	Negativo	101	2.0087	0.81601	0.534
	Positivo	24	2.1096	0.68096	
NLR	Negativo	101	4.0501	5.86096	0.007
	Positivo	24	2.3782	0.77906	

Tabla 37. Promedios de las cifras de neutrófilos, monocitos, linfocitos y NLR de acuerdo con el estatus HPV.

En cuanto a los linfocitos en sangre periférica pre-tratamiento, no existieron diferencias significativas en función del estatus HPV. En cambio, en relación a los neutrófilos, monocitos y NLR, los pacientes con tumores HPV positivos tuvieron recuentos significativamente inferiores que los de los pacientes con tumores HPV negativos.

Finalmente, se llevó a cabo un RPA específico para los pacientes con carcinomas de orofaringe considerando como variable dependiente la supervivencia específica y como variables independientes cada uno de los diferentes parámetros hematológicos de forma individual.

Relación de los neutrófilos con el pronóstico

El modelo de partición recursiva clasificó a los pacientes en función del recuento de neutrófilos en dos categorías, con un punto de corte en los $6.08 \times 10^9/L$ neutrófilos.

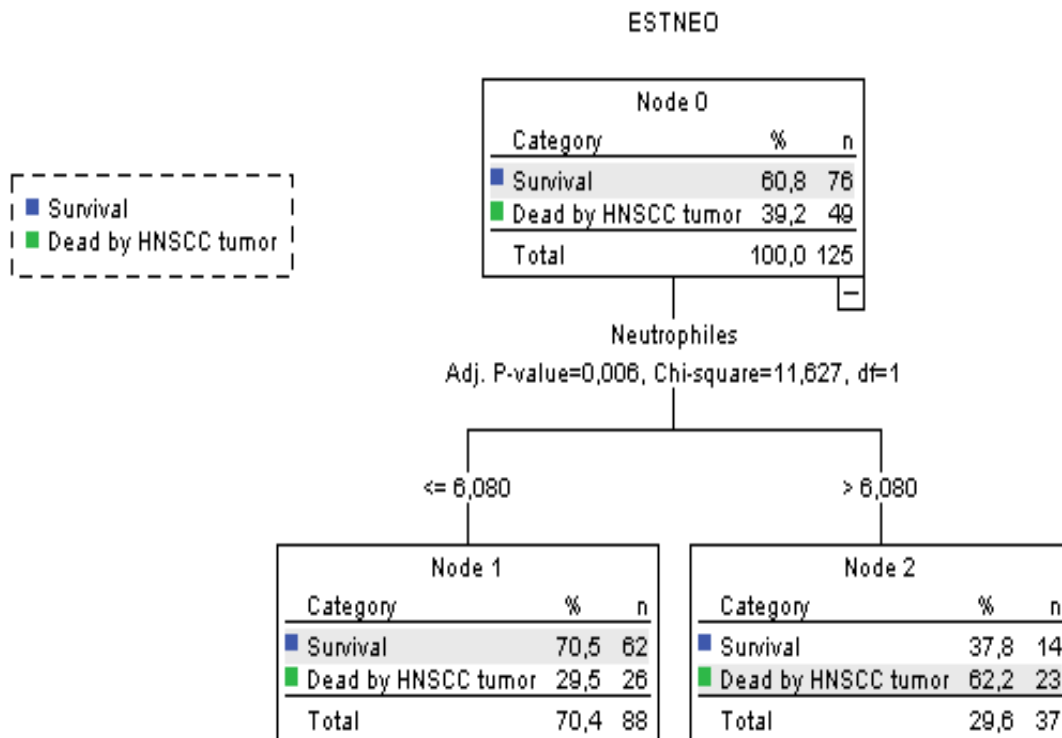


Figura 87. *Árbol de clasificación de los pacientes según el recuento de neutrófilos obtenido mediante un RPA en los pacientes con carcinomas de orofaringe.*

Las siguientes figuras muestran las curvas de supervivencia de los pacientes en función de la cifra de neutrófilos de acuerdo con el estatus HPV.

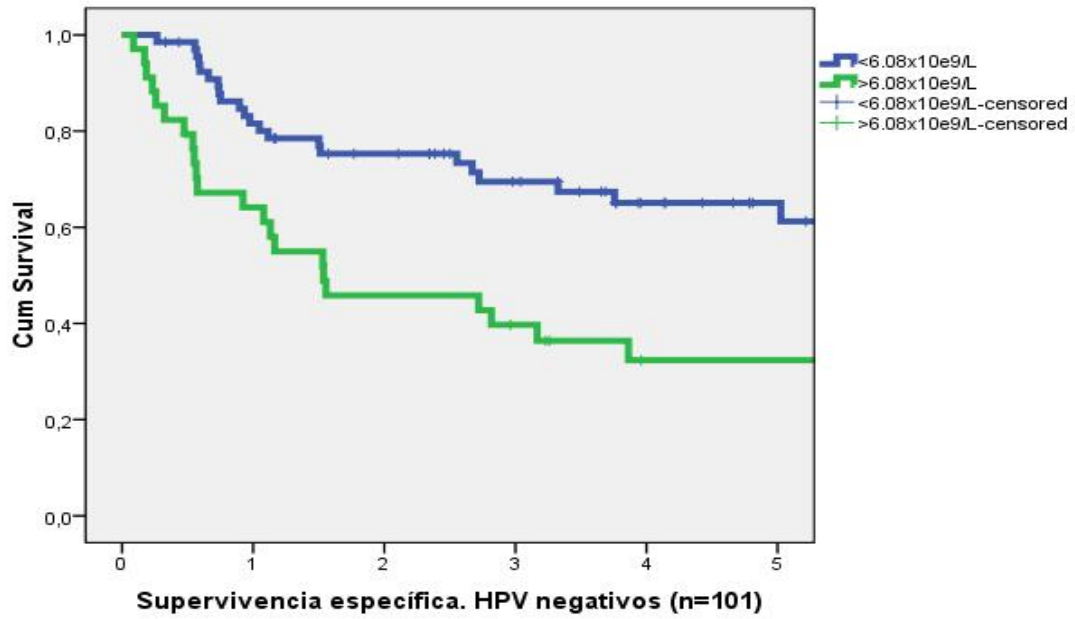


Figura 88. Curvas de supervivencia específica según la cifra de neutrófilos en los pacientes HPV negativos.

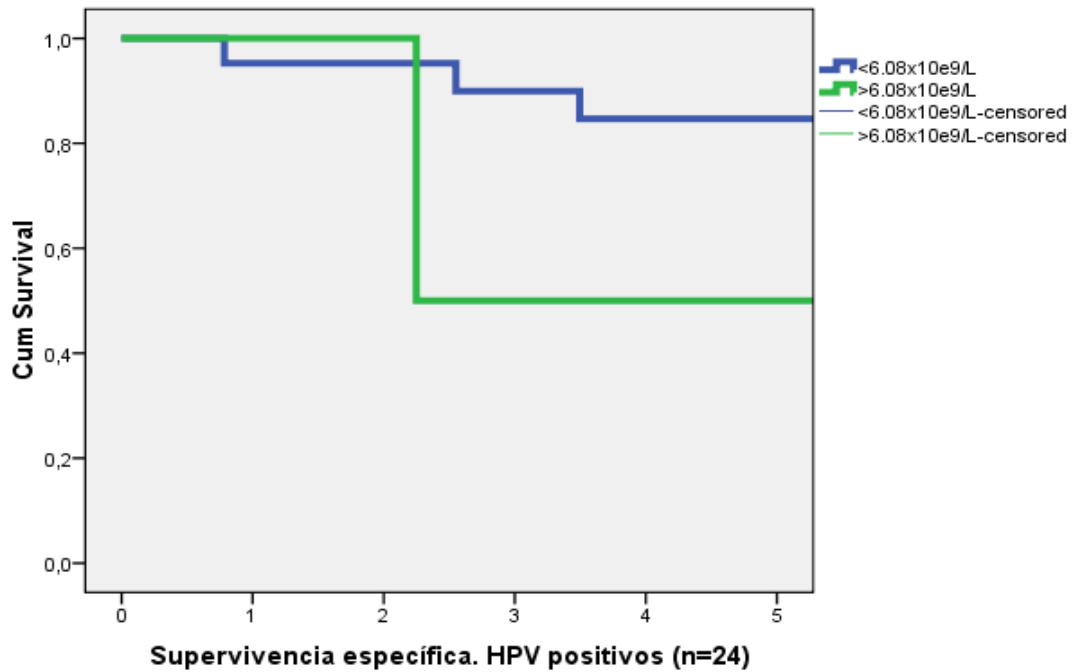


Figura 89. Curvas de supervivencia específica según la cifra de neutrófilos en los pacientes HPV positivos.

Para los pacientes con tumores HPV negativos la cifra de neutrófilos se relacionó con la supervivencia específica ($p=0.002$). En el caso de los pacientes HPV positivos no existieron diferencias significativas ($p=0.225$), si bien debe tenerse en cuenta que sólo 3 pacientes de este grupo contaron con una cifra de neutrófilos superior a $6.08 \times 10^9/L$.

Se llevó a cabo un estudio multivariante incluyendo como variables independientes la extensión local y regional del tumor, el estatus HPV y la categoría recuento de neutrófilos, y como variable dependiente la supervivencia específica.

		HR	IC 95%	p
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	2.16	1.17-3.98	0.013
Extensión regional	N0	1		
	N+	0.99	0.50-1.98	0.99
Neutrófilos	$<6.08 \times 10^9/L$	1		
	$>6.08 \times 10^9/L$	2.33	1.29-4.25	0.005
HPV	Positivo	1		
	Negativo	2.75	0.97-7.81	0.057

Tabla 38. Análisis multivariante.

De acuerdo con los resultados, las variables que se relacionaron con la supervivencia específica fueron la categoría de extensión local del tumor, el estatus HPV y la cifra de neutrófilos. En relación a los pacientes con una cifra de neutrófilos inferior a $6.08 \times 10^9/L$, los pacientes con una cifra superior tuvieron un riesgo de morir como consecuencia de la evolución de la enfermedad 2.33 veces superior (IC 95% 1.29-4.25, $p=0.005$).

Relación de los monocitos con el pronóstico

Al aplicar el RPA a los recuentos de monocitos se clasificó a los pacientes en dos categorías con un punto de corte en la cifra de $0.68 \times 10^9/L$ monocitos.

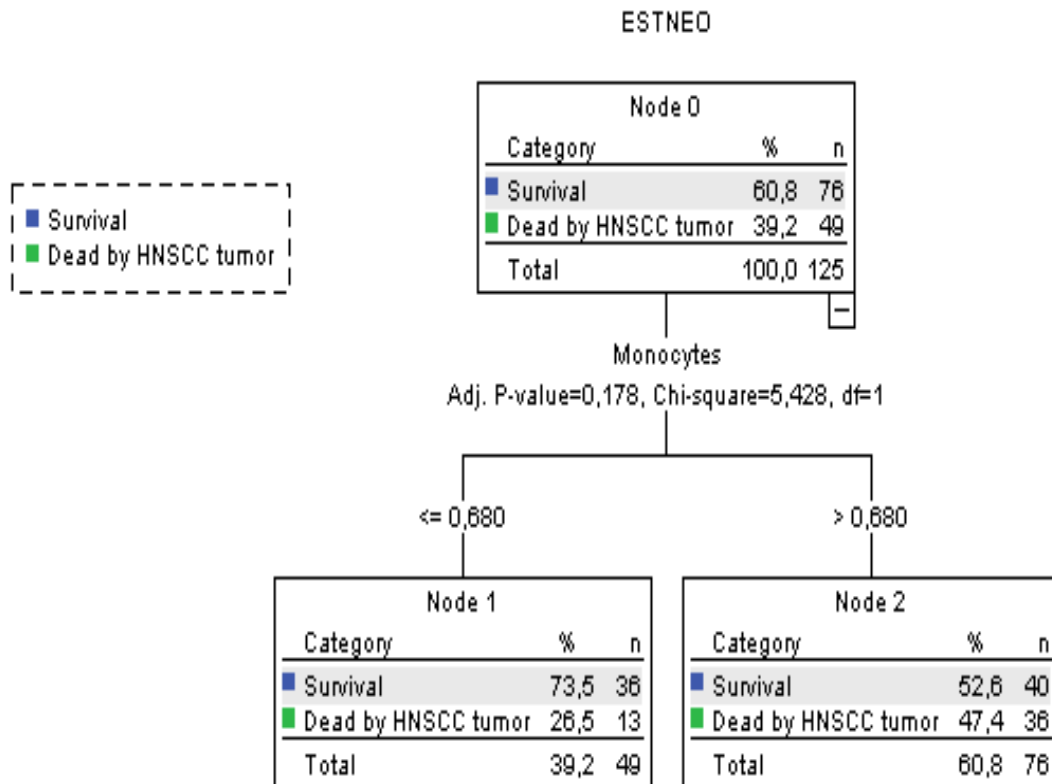


Figura 90. *Árbol de clasificación de los pacientes según el recuento de monocitos obtenido mediante un RPA en los pacientes con carcinomas de orofaringe.*

Las figuras muestran las curvas de supervivencia en función de la cifra de monocitos de acuerdo con el estatus HPV de los pacientes.

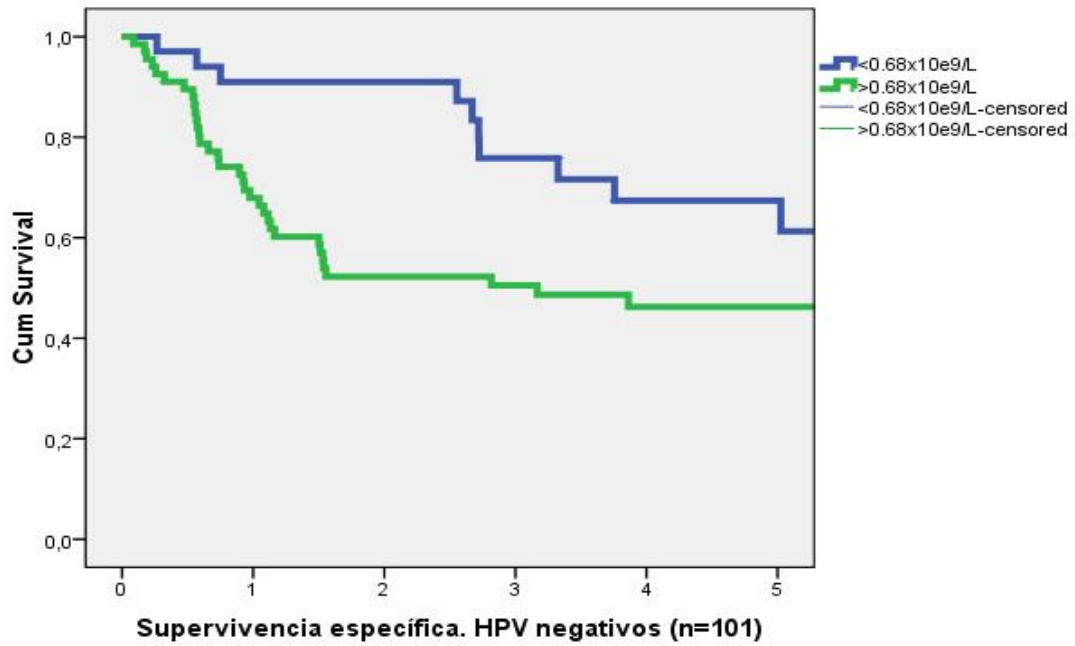


Figura 91. Curvas de supervivencia específica según la cifra de monocitos en los pacientes HPV negativos.

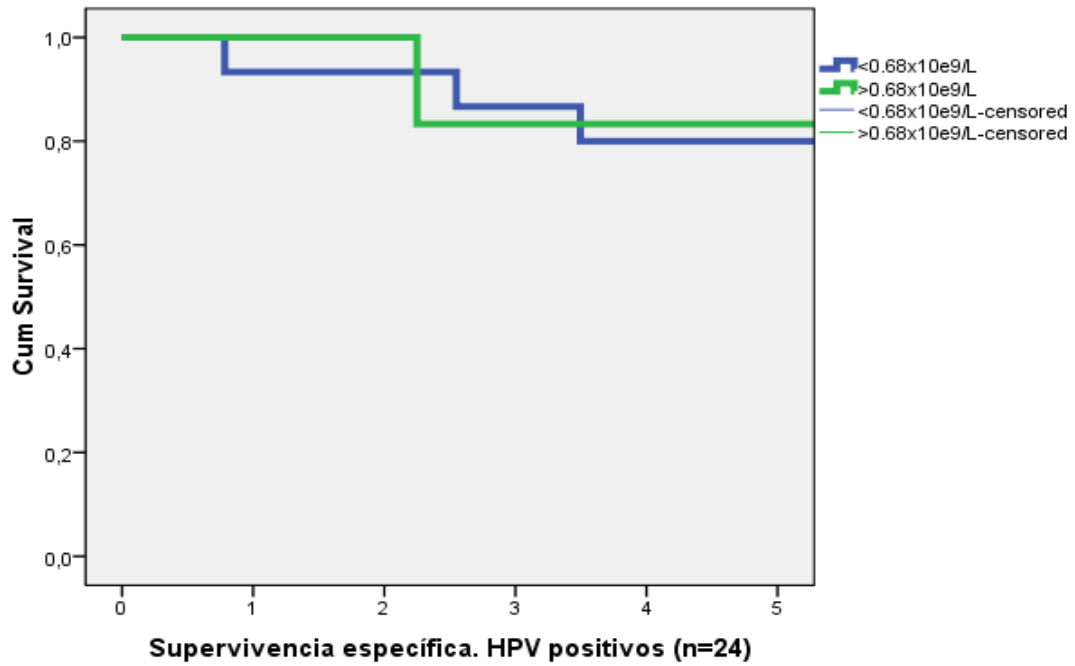


Figura 92. Curvas de supervivencia específica según la cifra de monocitos en los pacientes HPV positivos.

Existieron diferencias significativas en la supervivencia en función de la cifra de monocitos para los pacientes con tumores HPV negativos ($p=0.015$), en tanto que para los pacientes HPV positivos la supervivencia específica fue independiente de la categoría en la cifra de monocitos ($p=0.814$).

Al realizar un estudio multivariante incluyendo en el modelo la cifra de monocitos, las variables que se relacionaron con la supervivencia específica fueron la extensión local del tumor, el estatus HPV y la cifra de monocitos.

		HR	IC 95%	p
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	2.21	1.21-4.04	0.010
Extensión regional	N0	1		
	N+	1.40	0.72-2.73	0.312
Monocitos	$<0.68 \times 10^9/L$	1		
	$>0.68 \times 10^9/L$	2.07	1.08-3.97	0.027
HPV	Positivo	1		
	Negativo	2.98	1.05-8.42	0.039

Tabla 39. Análisis multivariante.

En relación a los pacientes con una cifra de monocitos inferior a $0.68 \times 10^9/L$, los pacientes con un recuento de monocitos superior tuvieron un riesgo de mortalidad asociada al tumor de orofaringe 2.07 veces superior (IC 95% 1.08-3.97, $p=0.027$).

Relación de los linfocitos con el pronóstico

Igualmente, el RPA clasificó a los pacientes con carcinomas de orofaringe en dos categorías en función del número de linfocitos, con el punto de corte en $1.53 \times 10^9/L$ linfocitos.

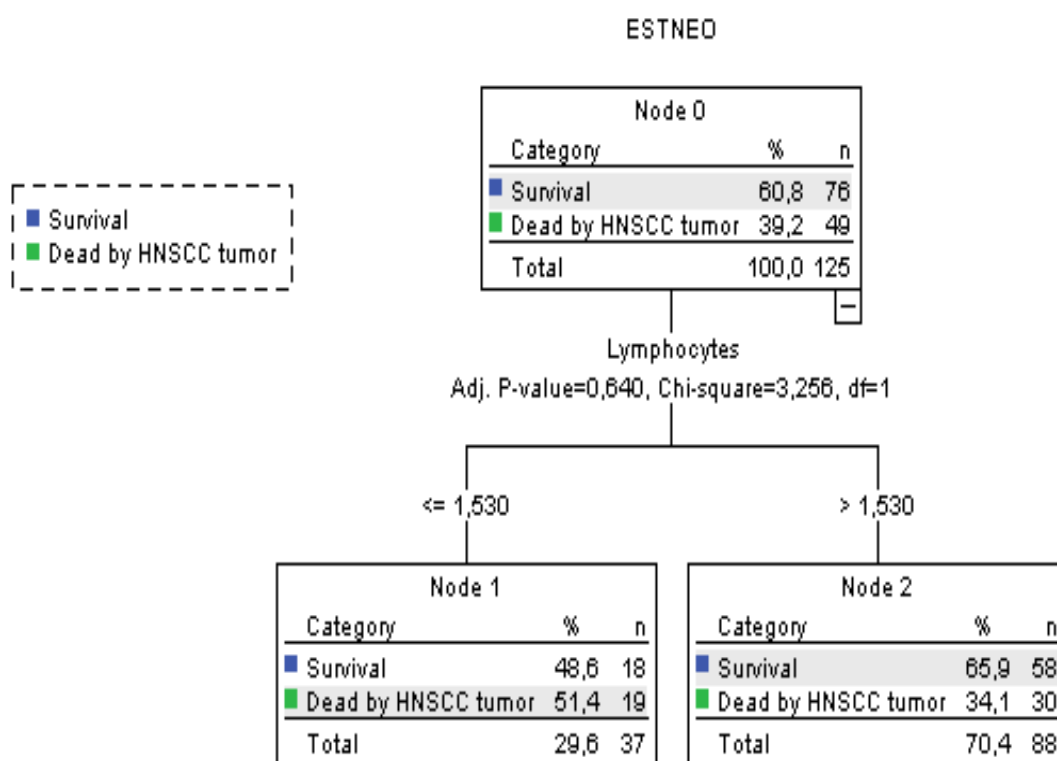


Figura 93. *Árbol de clasificación de los pacientes según el recuento de linfocitos obtenido mediante un RPA en los pacientes con carcinomas de orofaringe.*

En los pacientes HPV negativos existieron diferencias en la supervivencia específica en el límite de la significación estadística a favor de los pacientes con cifras de linfocitos superiores a $1.53 \times 10^9/L$ ($p=0.065$), en tanto que para los pacientes HPV positivos la cifra de linfocitos no contó con capacidad pronóstica ($p=0.963$).

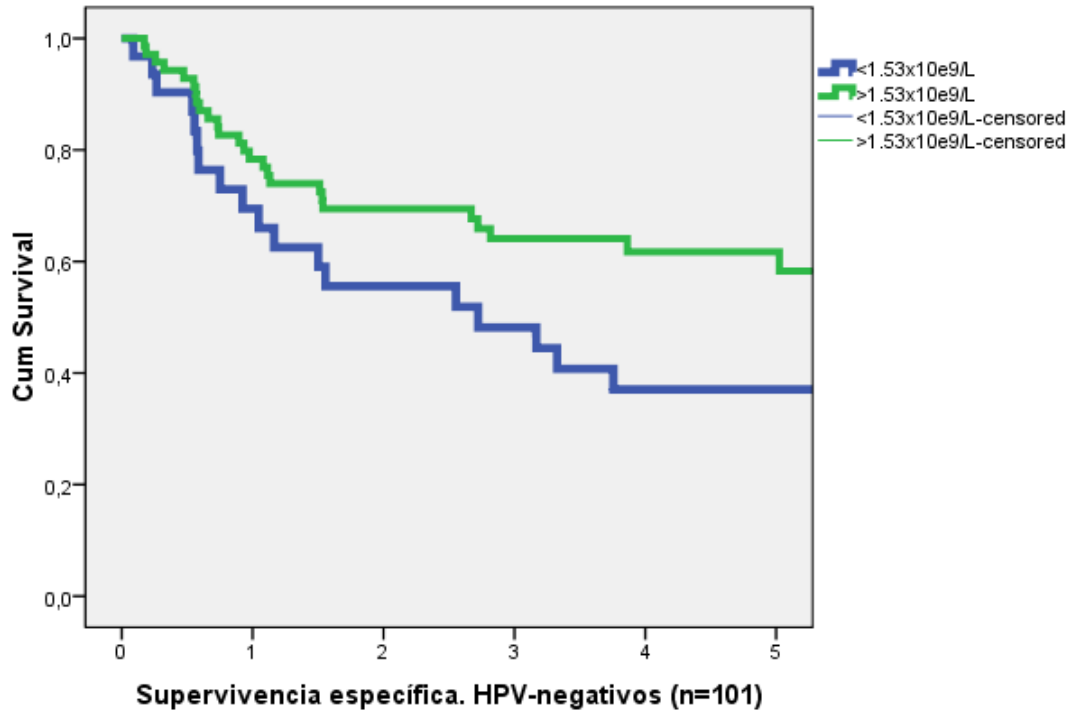


Figura 94. Curvas de supervivencia específica según la cifra de linfocitos en los pacientes HPV negativos.

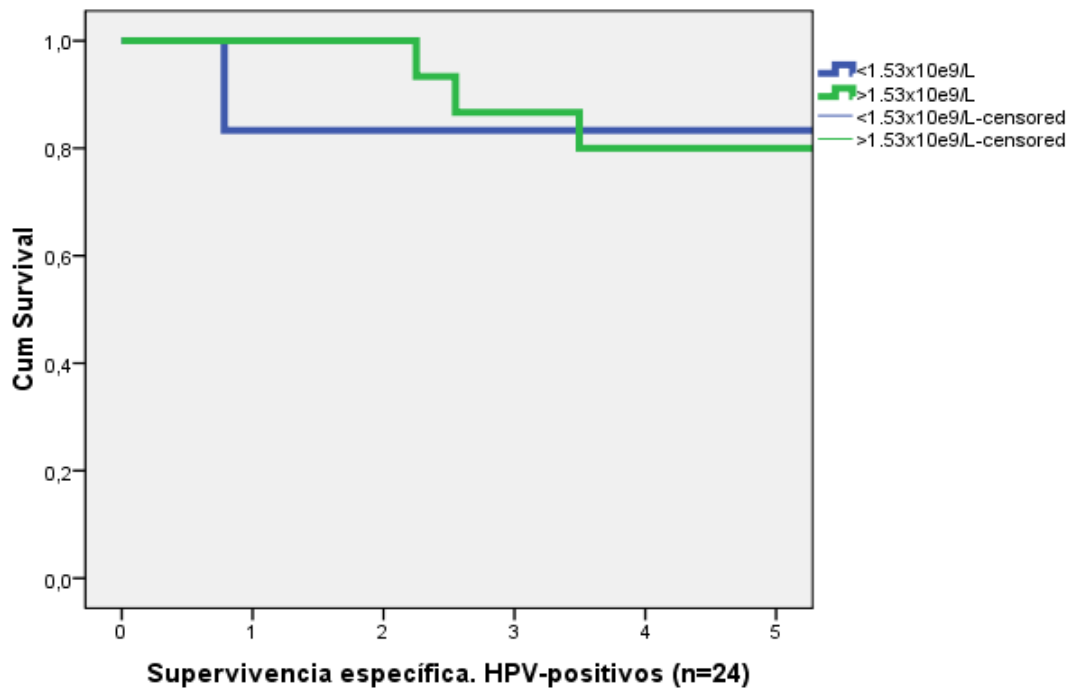


Figura 95. Curvas de supervivencia específica según la cifra de linfocitos en los pacientes HPV positivos.

Si incluíamos la cifra de linfocitos en un estudio multivariante, las variables que se relacionaban de forma significativa con el pronóstico de la enfermedad eran la extensión local del tumor y el estatus HPV, sin que la cifra de linfocitos alcanzase la significación estadística.

		HR	IC 95%	p
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	2.21	1.21-4.06	0.010
Extensión regional	N0	1		
	N+	1.31	0.67-2.53	0.422
Linfocitos	>1.53 x10 ⁹ /L	1		
	<1.53 x10 ⁹ /L	1.62	0.91-2.88	0.101
HPV	Positivo	1		
	Negativo	3.23	1.14-9.14	0.027

Tabla 40. Análisis multivariante.

Relación del NLR con el pronóstico

Finalmente, el RPA clasificó a los pacientes en tres categorías de acuerdo con los valores del NLR, con puntos de corte en los valores de 2.97 y 3.98.

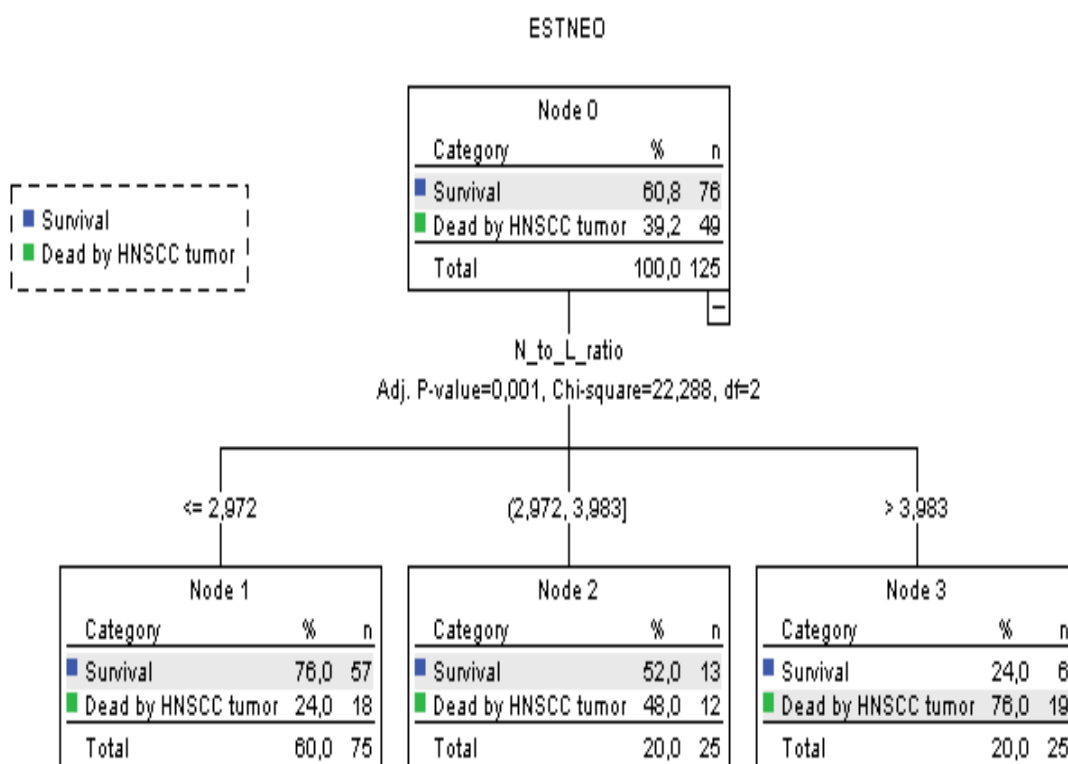


Figura 96. Árbol de clasificación de los pacientes según el NLR obtenido mediante un RPA en los pacientes con carcinomas de orofaringe.

Al considerar la supervivencia específica en función de la categoría del NLR de acuerdo con el estatus HPV, se pudo constatar una disminución ordenada y significativa de la supervivencia a medida que se incrementaba el NLR tanto para los pacientes con tumores HPV negativos ($p=0.0001$), como para aquellos con tumores HPV positivos ($p=0.0001$).

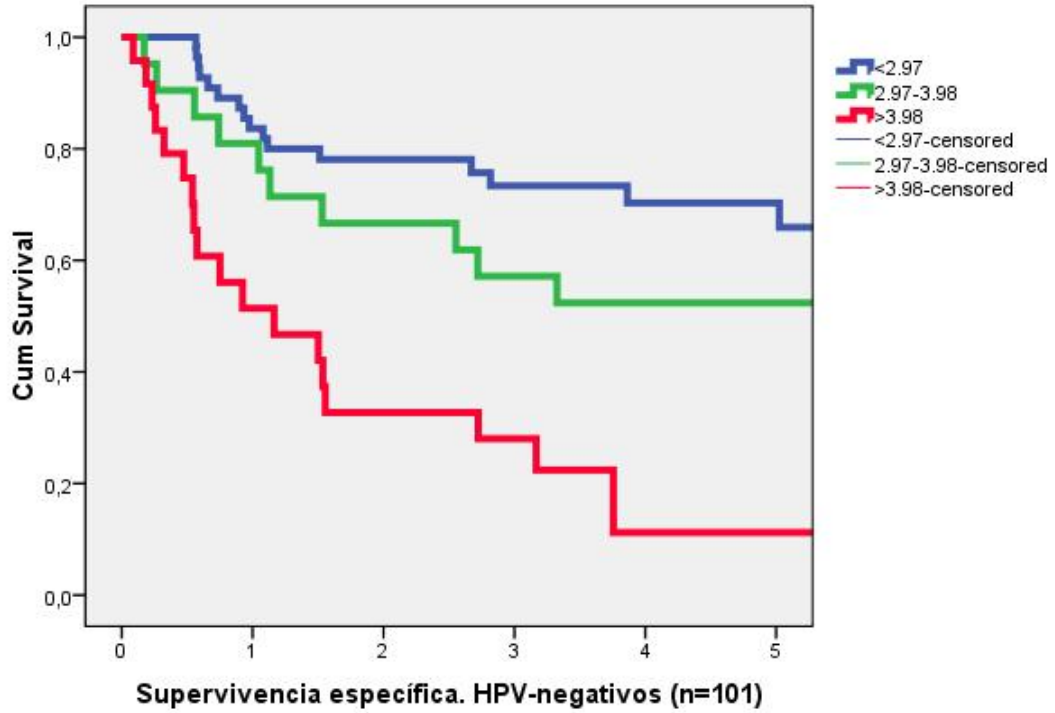


Figura 97. Curvas de supervivencia específica según el valor del NLR en los pacientes HPV negativos.

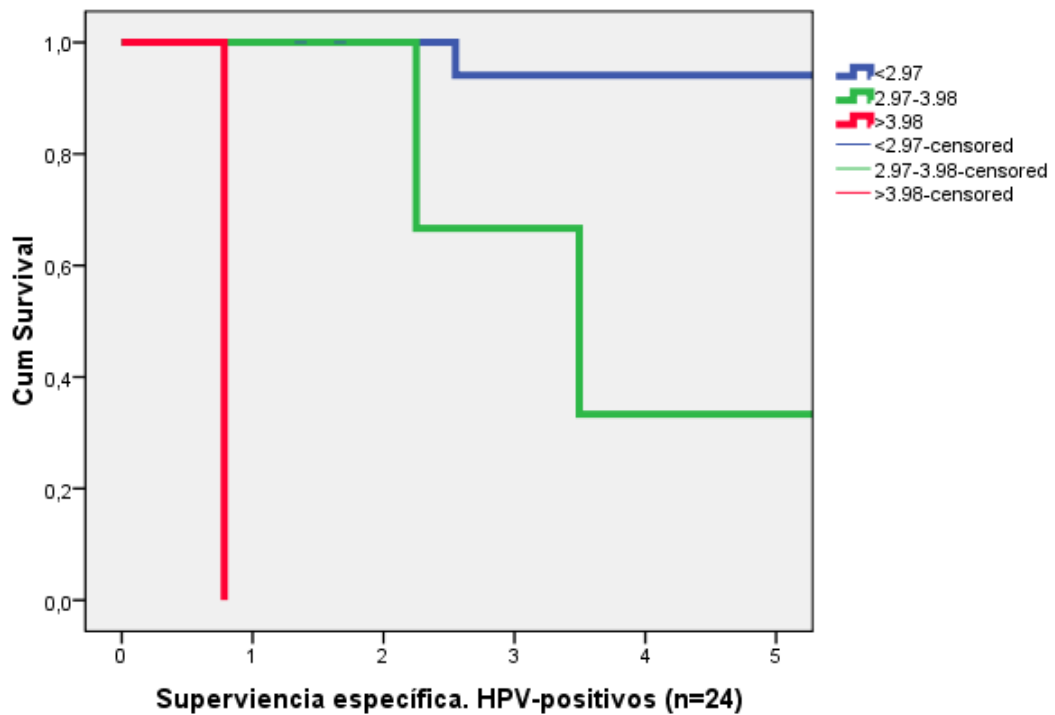


Figura 98. Curvas de supervivencia específica según el valor del NLR en los pacientes HPV positivos.

En el análisis multivariante, al incluir como variable independiente el NLR, el estatus HPV perdió su capacidad pronóstica, quedando como variables relacionadas con la supervivencia específica la extensión local del tumor y la categoría del NLR.

		HR	IC 95%	p
Extensión local	T1-2	1		
	T3-4	1.87	1.00-3.46	0.047
Extensión regional	N0	1		
	N+	1.15	0.59-2.24	0.681
NLR	<2.97	1		
	2.97-3.98	1.97	0.94-4.12	0.069
	>3.98	4.61	2.32-9.16	0.0001
HPV	Positivo	1		
	Negativo	2.31	0.80-6.68	0.120

Tabla 41. Análisis multivariante.

DISCUSIÓN

1. Inflamación y cáncer

La inflamación crónica juega un papel muy importante en el desarrollo y la progresión tumoral. Dentro de los mecanismos que favorecen la aparición de un tumor y su evolución, la inflamación junto a la alteración del sistema inmune son pilares fundamentales.

Hanahan y cols⁵⁷ establecieron en el año 2000 un listado de las características fenotípicas que debían adquirir las células tumorales.

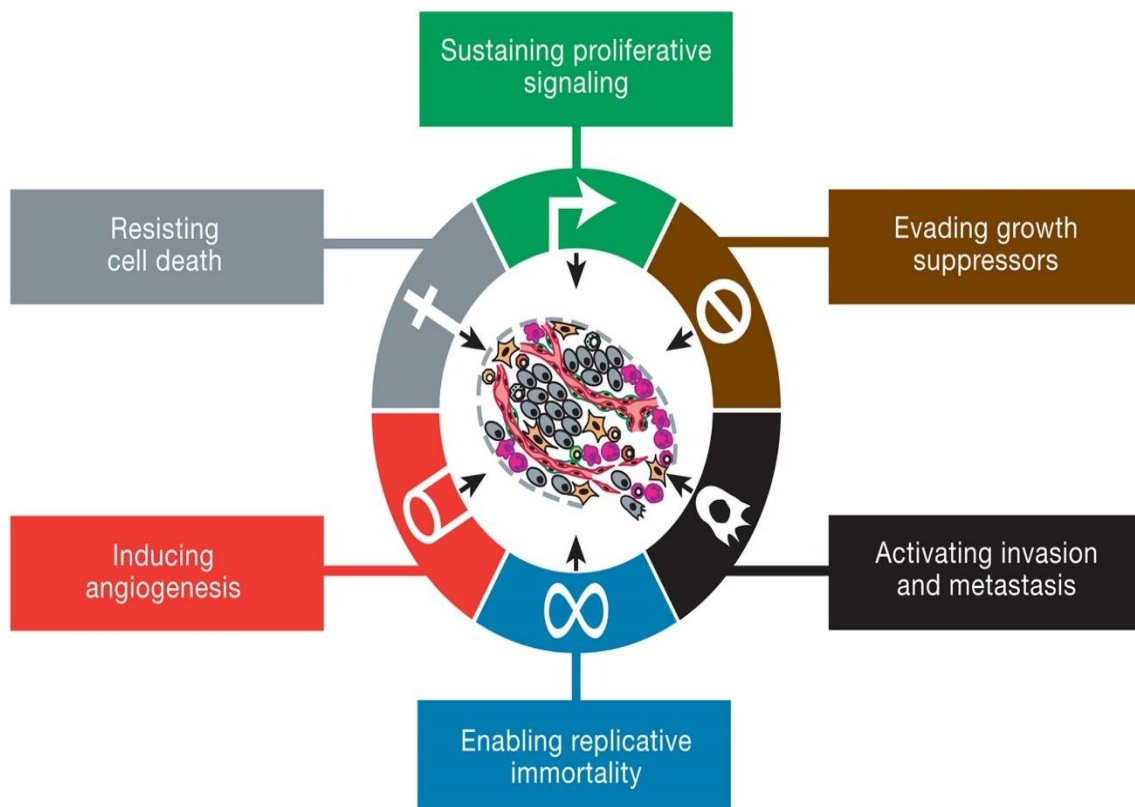


Figura 99. Características fenotípicas adquiridas de las células tumorales (tomada de Hanahan⁵⁷).

Posteriormente, en el 2009, Colotta y cols⁸, confirmarían lo descrito por Hanahan y cols⁵⁷, añadiendo un nuevo parámetro en la evolución del cáncer, el microambiente inflamatorio.

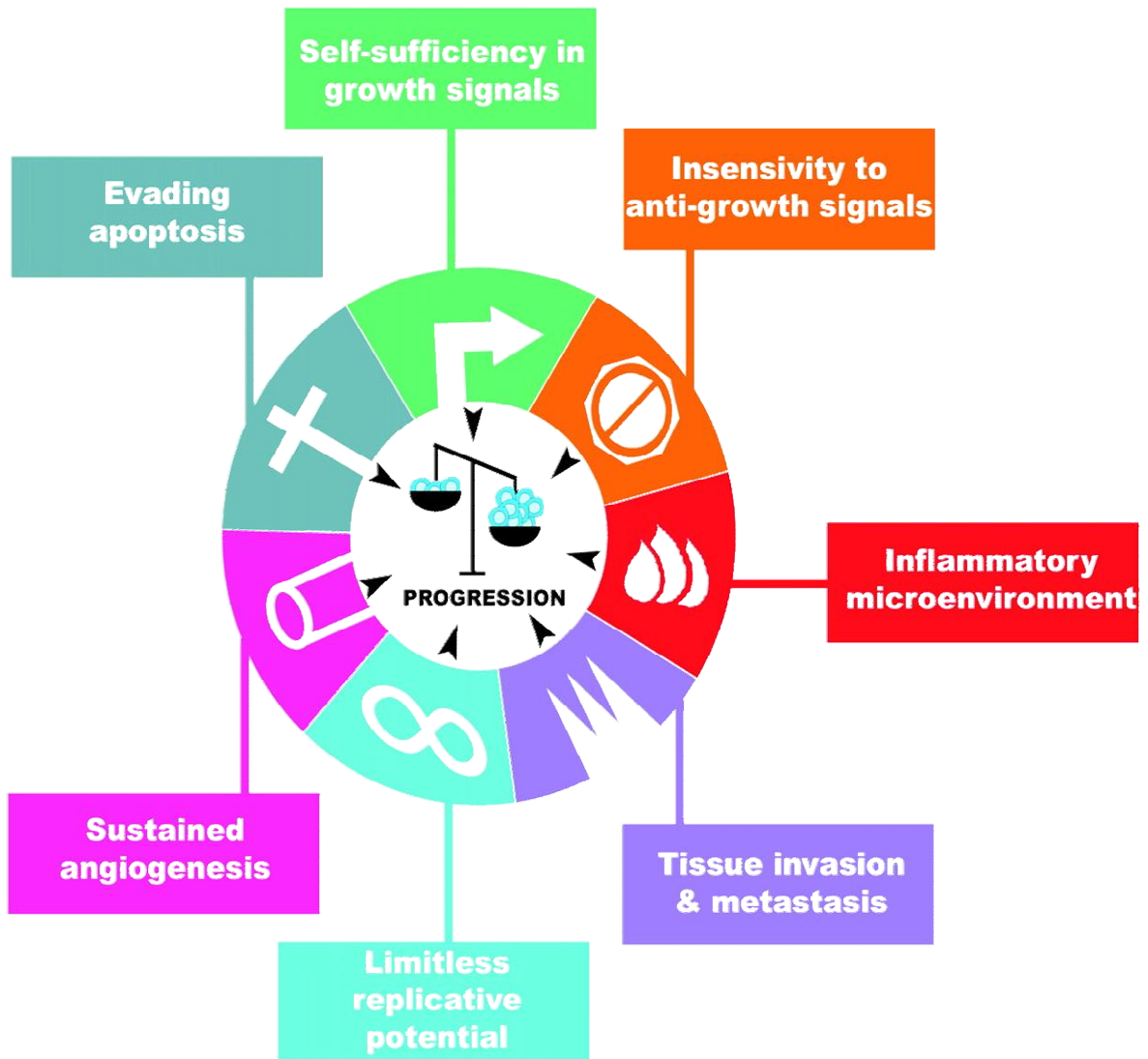


Figura 100. Los siete sellos distintivos del cáncer (tomada de Colotta⁸).

En el 2011, Hanahan y cols⁵⁸ de nuevo, realizarían una revisión de su estudio previo, añadiendo 4 características más, de entre las que destacamos de nuevo, la inflamación y la alteración del sistema inmune.

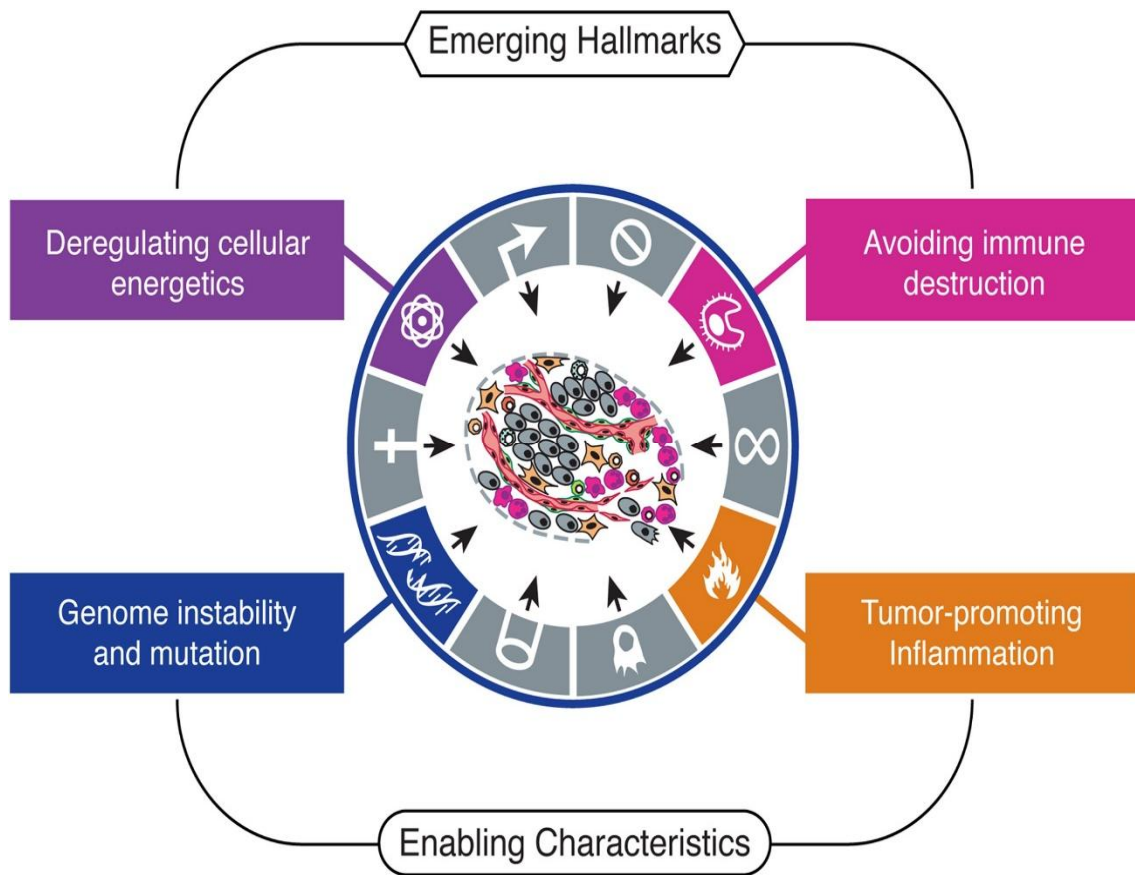


Figura 101. Nuevas características fenotípicas adquiridas de las células tumorales (tomada de Hanahan⁵⁸).

Por esa razón, surgió el interés en encontrar parámetros que analizaran el proceso inflamatorio y la respuesta del sistema inmune, y que fueran fácilmente disponibles y reproducibles para poder ser utilizados como marcadores pronósticos. Las células hematopoyéticas serían un ejemplo perfecto, dado que las obtenemos de una simple analítica rutinaria y podemos encontrar en ellas parámetros tanto de inflamación como de función del sistema inmune.

2. Relación entre los parámetros hematológicos y las variables clínicas

Al evaluar la relación entre los valores absolutos de los diferentes parámetros hematológicos analizados y las variables clínicas relacionadas con el tumor, los resultados del presente estudio coincidieron con los de otros autores. Se encontraron diferentes tendencias en los valores absolutos de los parámetros hematológicos según el volumen tumoral y las características clínicas de los pacientes.

Se encontró una relación inversa entre el número de neutrófilos, monocitos y linfocitos y la edad. Este hallazgo podría representar un compromiso en la respuesta inmune debido al envejecimiento.

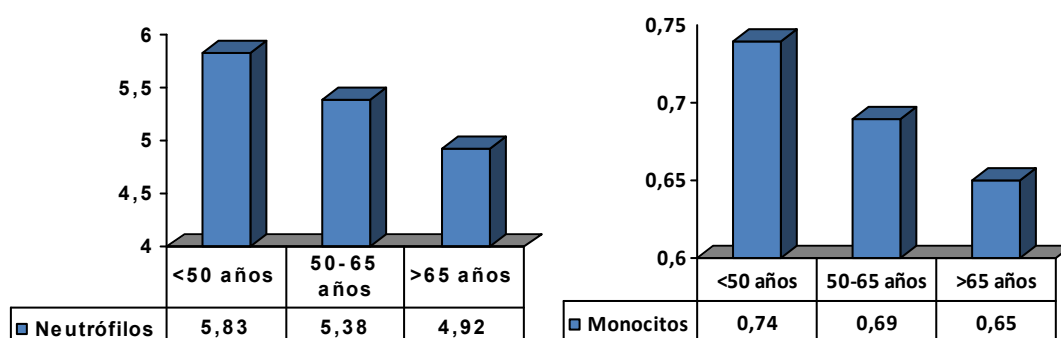


Figura 102. Valor medio del recuento de neutrófilos y monocitos ($\times 10^9/L$) según edad.

Al igual que los resultados obtenidos por He y cols³¹, observamos que las pacientes del sexo femenino tenían un recuento más bajo de neutrófilos en comparación con los pacientes masculinos.

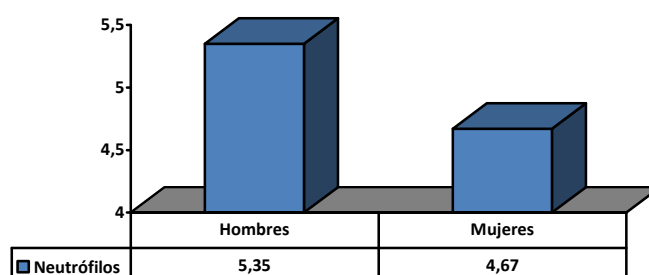


Figura 103. Valor medio del recuento de neutrófilos ($\times 10^9/L$) según el sexo.

Los pacientes del presente estudio con un historial de consumo de tabaco y alcohol presentaron un aumento significativo en el recuento pre-tratamiento de neutrófilos, monocitos y linfocitos, tal y como ha sido descrito por otros autores^{22,44,46}.

Igualmente, coincidiendo con los hallazgos de otros autores, se observó una disminución en el recuento de linfocitos pre-tratamiento^{31,36} y un aumento en el recuento pre-tratamiento de neutrófilos^{22,31,36,44,52}, monocitos^{22,36} y en el ratio entre neutrófilos y linfocitos (NLR)^{31,36,38,42} en relación con la extensión de la enfermedad.

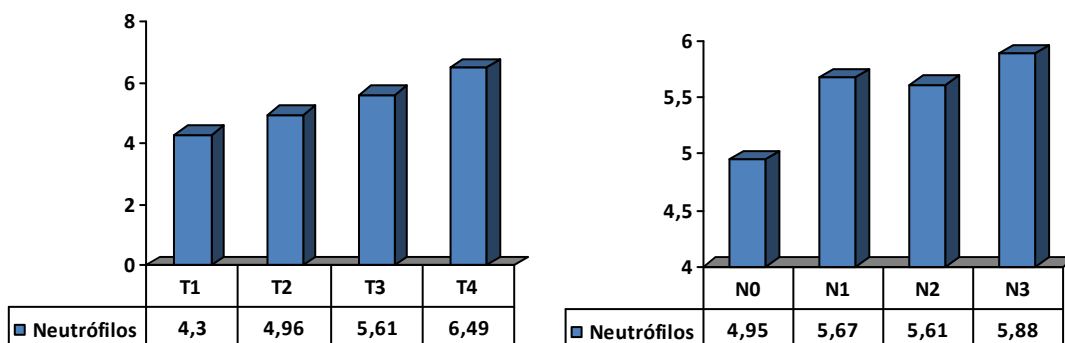


Figura 104. Valor medio del recuento de neutrófilos ($\times 10^9/L$) según la extensión tumoral.

Al analizar el valor pronóstico de los parámetros hematológicos en función del estadio tumoral (estadios iniciales I-II vs estadios avanzados III-IV), en el caso del recuento de neutrófilos no se encontró una relación significativa con la supervivencia en los pacientes en estadios iniciales. Por el contrario, sí se observó una relación significativa en el caso de los pacientes con estadios avanzados. Al analizar el valor pronóstico del NLR en función del estadio tumoral, se observaron diferencias significativas en la supervivencia específica tanto en los tumores con estadios iniciales como en los tumores con estadios avanzados.

Sun y cols³⁴ obtuvieron diferencias significativas en la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión en relación al NLR en los pacientes con tumores en estadios avanzados. Por el contrario, no encontraron diferencias en el grupo de pacientes con tumores en estadios iniciales. Estos autores argumentan que debería diferenciarse a los pacientes en función del estadio en la valoración de la respuesta inflamatoria a partir de las cifras de leucocitos en sangre periférica. Los pacientes con estadios avanzados estarían más influenciados por los efectos sistémicos del tumor, y por tanto los parámetros hematológicos en sangre periférica serían de más utilidad como factores pronósticos en este grupo de pacientes.

Se analizó la influencia de los parámetros hematológicos en función del tipo de tratamiento (cirugía vs radioterapia). Independientemente del tratamiento recibido, los recuentos de neutrófilos, monocitos y el NLR mostraron una relación significativa con la supervivencia específica, lo que viene a indicar que la capacidad pronóstica de estos parámetros hematológicos no se relaciona con el tipo de tratamiento.

Cuando se analizaron solamente los pacientes con carcinomas de orofaringe (n=125) basándonos en el estatus del Virus del Papiloma Humano (HPV), se observó que los pacientes HPV positivos (n=24; 19,2%) mostraron recuentos de neutrófilos y monocitos significativamente menores que los pacientes con tumores HPV negativos (n=101; 80,8%). En cuanto al recuento de linfocitos, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en base al estatus HPV.

Las siguientes figuras muestran la distribución de las cifras de neutrófilos, monocitos, linfocitos y del NLR en función del estatus HPV de los pacientes con carcinomas localizados en la orofaringe.

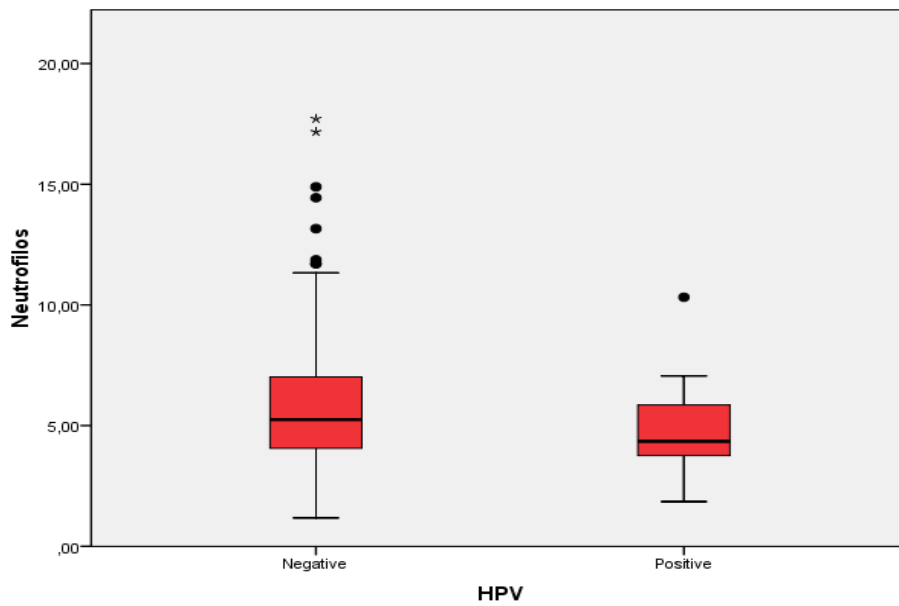


Figura 105. Distribución de la cifra de neutrófilos en función del estatus HPV en los pacientes con carcinomas orofaríngeos.

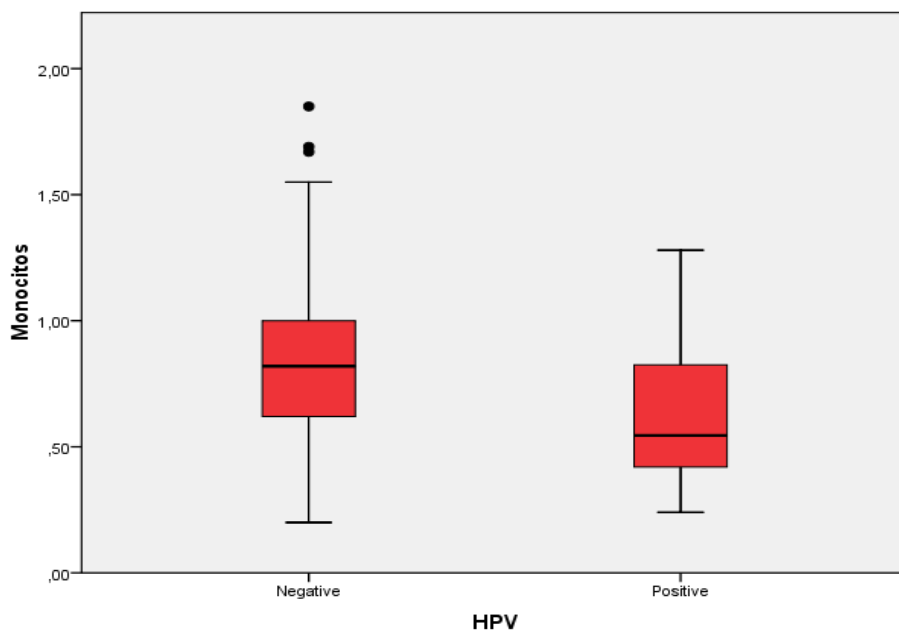


Figura 106. Distribución de la cifra de monocitos en función del estatus HPV en los pacientes con carcinomas orofaríngeos.

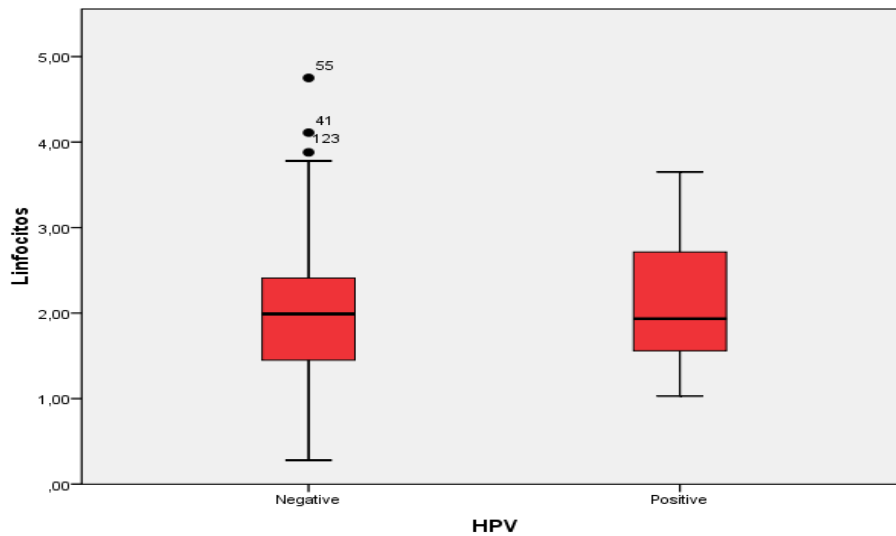


Figura 107. Distribución de la cifra de linfocitos en función del estatus HPV en los pacientes con carcinomas orofaríngeos.

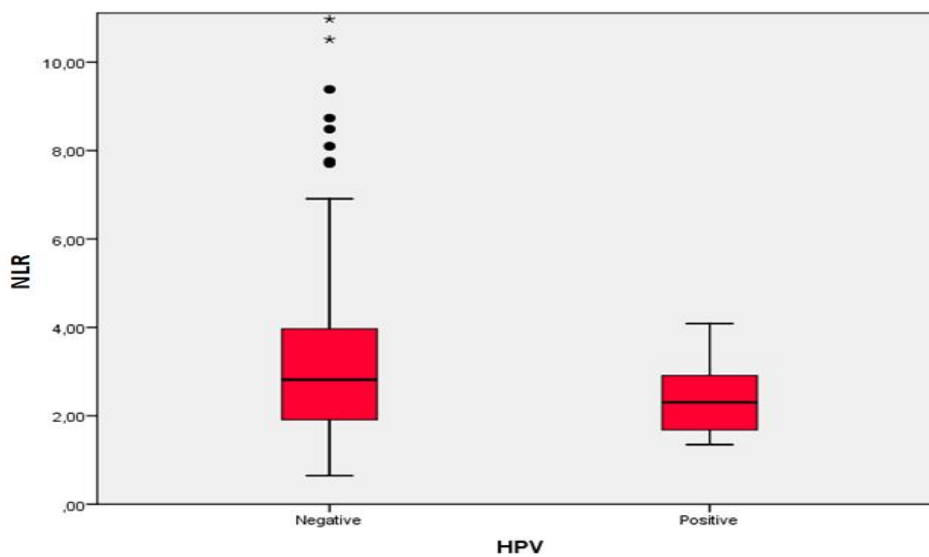


Figura 108. Distribución del valor del NLR en función del estatus HPV en los pacientes con carcinomas orofaríngeos.

Los resultados del presente estudio coinciden con los de Huang y cols²², que también encontraron una disminución en los recuentos absolutos de neutrófilos y monocitos y en el valor del NLR en pacientes con carcinomas orofaríngeos HPV positivos respecto a los HPV negativos, sin encontrar diferencias en el recuento de linfocitos.

Al comparar los resultados del presente estudio con los de otros autores que han evaluado el papel de los parámetros hematológicos en relación con el HPV, cabe destacar dos estudios llevados a cabo por Rachidi y cols¹⁸ y Rosculet y cols⁴³.

Rachidi y cols¹⁸ analizaron varios aspectos de la relación entre el estatus HPV y el NLR, mostrando que el NLR era significativamente menor en la cohorte positiva para HPV (n=38) en comparación con la cohorte HPV negativa (n=51). Además, demostraron que un NLR elevado se asociaba con una menor supervivencia en ambos grupos; sin embargo, la asociación no fue estadísticamente significativa en el grupo de pacientes HPV positivos.

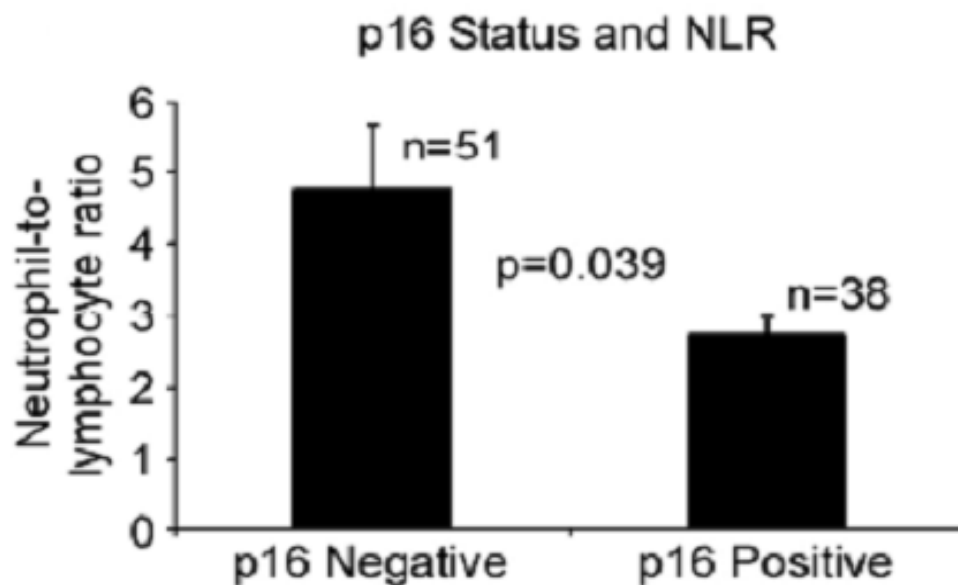


Figura 109. Relación entre el estatus HPV y el valor del NLR (tomada de Rachidi¹⁸).

En el análisis de una cohorte de pacientes con CECC (n=123) con la mayoría de tumores localizados en la orofaringe (n=95), Rosculet y cols⁴³ concluyeron que no existía una asociación estadísticamente significativa entre el NLR y la supervivencia global ni la supervivencia libre de recidiva cuando el estatus HPV se incluía como factor pronóstico en un modelo multivariante.

Cabe destacar que el estudio de Rosculet y cols⁴³ se llevó a cabo en un ambiente epidemiológico muy diferente al nuestro, con un porcentaje de positividad frente al HPV para los pacientes testados del 77%. El impacto favorable del estatus HPV en esta muestra de pacientes podría haber enmascarado otros factores pronósticos que impactarían en tumores de otras localizaciones menos representados en su cohorte.

Los resultados del presente estudio coinciden con los de los anteriores estudios. Al analizar el valor pronóstico de los parámetros hematológicos, se observó que éstos perdían su capacidad pronóstica al analizar la cohorte de pacientes HPV positivos.

Uno de los motivos que justificaría los resultados del presente estudio sería la baja prevalencia de tumores orofaríngeos HPV positivos en nuestro medio⁵⁹, lo que condiciona la potencia estadística del análisis. Aún así, pensamos que la razón principal sería que los parámetros hematológicos no cuentan con una capacidad pronóstica relevante en los tumores HPV positivos debido a la diferente etiopatogenia y evolución de estos tumores respecto a los HPV negativos.

La relevancia de las diferencias en los perfiles hematológicos basados en el estatus HPV en términos de respuesta al tratamiento aún está por determinar.

3. Parámetros hematológicos como factores pronósticos en CECC

La mayoría de los autores que han estudiado los parámetros hematológicos como factores pronósticos en pacientes con CECC coinciden en su capacidad pronóstica. Aunque no todos los estudios analizan todos los parámetros hematológicos, y aunque cada autor ha seleccionado una variable dependiente diferente (supervivencia global, supervivencia específica, supervivencia libre de recidiva, etc), se acepta que los pacientes presentan un peor pronóstico si muestran:

- ✓ Un recuento de neutrófilos elevado
- ✓ Un recuento de linfocitos disminuido
- ✓ Un NLR elevado
- ✓ Un recuento de monocitos elevado

En el presente estudio se encontró que el recuento absoluto pre-tratamiento de neutrófilos en sangre periférica fue el parámetro hematológico más relacionado con la supervivencia específica.

Dado que la capacidad pronóstica del recuento de linfocitos absolutos no resultó estadísticamente significativa en el presente estudio, podemos deducir que la capacidad de discriminación del NLR dependería principalmente de los neutrófilos, mientras que los linfocitos contribuirían de manera limitada.

Además, el valor absoluto de los monocitos mostró una capacidad pronóstica similar a la de los neutrófilos.

La siguiente tabla resume los resultados obtenidos por los autores que han analizado la capacidad pronóstica de los parámetros hematológicos en pacientes con CECC.

Autor	Localización	n	Tratamiento	Determinación	Punto de corte	Resultados
Rachidi ¹⁸	Cabeza y cuello	543	IQ, RT, QT-RT	N,L,NLR	Terciles	Relación de N, L y NLR con la supervivencia global
Huang ²²	Orofaringe	702	RT +/- QT	N, L, M según HPV	Mediana	Relación de N y M con supervivencia global y libre de recidiva. Relación de L con supervivencia libre de recidiva sólo en HPV +
An ³⁰	Nasofaringe	363	RT	NLR	ROC 3.73	Relación con supervivencia específica y metástasis
He ³¹	Nasofaringe	1410	RT +/- QT	NLR, N, L	Cuartiles	Relación con supervivencia global y libre de enfermedad
Jin ³²	Nasofaringe (M+)	229	QT paliativa	NLR, N, L	Cuartiles	Relación con supervivencia global
Chang ³³	Nasofaringe	2820	RT	NLR	2.5	Relación con supervivencia específica a los 5 años

Autor	Localización	n	Tratamiento	Determinación	Punto de corte	Resultados
Sun ³⁴	Nasofaringe	251	RT +/- QT	NLR, N, L	ROC	Relación con supervivencia global y libre de progresión en NLR y L
Perisanidis ³⁵	Cavidad oral	97	QT + IQ	NLR, N, L	ROC	Relación con supervivencia específica solo el NLR
Tsai ³⁶	Cavidad oral	202	IQ, RT, QT	M, N, L, NLR, Leu	Mediana	Sólo relación de los monocitos con la supervivencia específica
Young ³⁷	Orofaringe	249	QT-RT	NLR	NLR 5.0	Relación con control local, regional, locoregional, a distancia y con supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global
Wong ³⁸	Laringe	140	Cirugía, RT, QT	NLR	Cuartiles	Relación con supervivencia global
Turri-Zanoni ³⁹	Senos paranasales	215	Cirugía endoscópica	NLR	ROC	Relación con supervivencia global y libre de enfermedad. NLR bajo, menor riesgo recidiva

Autor	Localización	n	Tratamiento	Determinación	Punto de corte	Resultados
Rassouli ⁴⁰	Cabeza y cuello	273	IQ, RT, QT-RT	NLR	RPA: 4.27	Relación con supervivencia específica
Haddad ⁴¹	Cabeza y cuello (III-IV)	46	QT-RT	NLR	NLR 5.0 y mediana	Relación con supervivencia global sólo NLR 5.0, no con mediana 3.3
Kano ⁴²	Cabeza y cuello	285	QT-RT	NLR	ROC 1.92	Relación con supervivencia global y libre de enfermedad
Rosculet ⁴³	Cabeza y cuello	123	QT-RT	NLR, N, M	Mediana	Sólo NLR y N relación con supervivencia global y libre de recurrencia
Schernberg ⁴⁴	Cabeza y cuello (III-IV)	193	QT-RT	Leu, N	10.0 y 7.5 $\times 10^9/L$	Leucocitosis y neutrofilia relación con peor supervivencia global y libre de progresión
Gouw ⁵⁰	Orofaringe	234	RT, QT-RT	Leu	10.5 $\times 10^9/L$	Leucocitosis relación con peor supervivencia global y libre de enfermedad

IQ= Cirugía, RT= Radioterapia, QT= Quimioterapia, M+= Metastasis a distancia, III-IV= Estadios III-IV, N= Neutrófilos, M= Monocitos, L= Linfocitos, NLR= Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Leu= Leucocitos

Tabla 42. Estudios llevados a cabo por diferentes autores sobre los parámetros hematológicos como factores pronósticos en CECC.

La mayoría de los estudios no analizaron específicamente el valor pronóstico independiente de los diferentes leucocitos. El hecho de que existan diferentes puntos de corte en cuanto a los diferentes parámetros hematológicos es debido a la variedad de métodos con que se han obtenido estos puntos de corte (mediana, cuartiles, ROC, etc).

Green y cols⁶⁰ consideran además que los puntos de corte deben de especificarse para cada localización tumoral dentro de los tumores de cabeza y cuello. Defienden esta idea basándose en su estudio, donde observaron que la prevalencia de células inmunes que infiltran el tumor (CD4, CD8 y Foxp3) dependía de la localización del tumor, con un mayor número de células en el cáncer de orofaringe en comparación con el de laringe.

Leucocitos:

Pocos estudios analizan el valor pronóstico del recuento total de leucocitos. Destacan el de Granger y cols⁶¹, quienes describieron que el volumen tumoral de diferentes tumores sólidos (tumores voluminosos a nivel loco-regional o aquellos diseminados) se correlaciona con el grado de leucocitosis, y el de Schernberg y cols⁴⁴, quienes concluyeron que la leucocitosis se asocia a una peor supervivencia global y libre de progresión en los pacientes con CECC.

Recientemente, Gouw y cols⁵⁰ han analizado el valor pronóstico de la leucocitosis en pacientes con carcinomas escamosos de orofaringe tratados con radioterapia o quimio-radioterapia. Coincidiendo con los estudios descritos previamente, concluyeron que la leucocitosis era un factor pronóstico independiente en los pacientes con tumores de orofaringe. Además, el impacto pronóstico de la leucocitosis era más pronunciado en el grupo de pacientes con tumores HPV positivos.

Neutrófilos, Linfocitos y NLR:

Huang y cols²² evaluaron pacientes con carcinomas orofaríngeos y encontraron que en los pacientes HPV negativos, que representarían la mayoría de nuestros pacientes, los recuentos de linfocitos circulantes no contaban con capacidad pronóstica. Por el contrario, en pacientes con tumores HPV positivos, un mayor recuento de linfocitos se asoció con una disminución en la recurrencia de la enfermedad ($p=0.026$).

Como ya se ha descrito previamente, para detectar y destruir las células tumorales, necesitamos una respuesta inmune adaptativa correcta. Un recuento bajo de linfocitos en sangre periférica puede indicar una respuesta inmune pobre, incapaz de acabar con las células tumorales, y por tanto, sugeriría un peor pronóstico.

La linfopenia representa una disminución en la actividad del sistema inmune mediado por células, demostrado por la marcada disminución de los linfocitos T CD4+ y CD8+⁶². Hirashima y cols⁶³ observaron que las células Natural Killer (NK) en los pacientes con cáncer gástrico con un NLR elevado presentaban actividad reducida, por lo que representaría una respuesta inmune mediada por células aún menor.

Se ha descrito que la neutrofilia podría ser en parte la responsable de esta disminución en la actividad del sistema inmune dado que inhibe la actividad citolítica de las células inmunes tales como los linfocitos T activados y las células NK⁶⁴.

La neutrofilia observada podría explicarse por múltiples mecanismos, como la liberación de interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y factor estimulador de las colonias granulocíticas (G-CSF)^{27,31,65-68}. Esta neutrofilia provocaría el aumento de marcadores inflamatorios como los factores pro-angiogénicos (VEGF), los factores de crecimiento, las proteasas y/o los marcadores anti-apoptóticos (NF- κ B) que facilitarían el crecimiento y la progresión tumoral⁶⁹⁻⁷².

Además, la linfopenia se correlaciona fuertemente con el aumento de los niveles séricos de IL-6, así como el receptor del factor de necrosis tumoral, reflejando la inmunosupresión relacionada con el cáncer. Una explicación razonable es que los linfocitos T en pacientes oncológicos tienen una mayor susceptibilidad a la apoptosis, debido al estado crónico de activación^{14,32,73}.

En un estudio realizado en pacientes con CECC, Rachidi y cols¹⁸ encontraron que los recuentos más altos de neutrófilos se correlacionaban con los recuentos de linfocitos más bajos, y los pacientes en el tercil más alto en el recuento de neutrófilos y aquellos en el tercil más bajo en recuento de linfocitos, contaban con una peor supervivencia global.

Cuando se analizó la supervivencia específica según la distribución de los cuartiles en los pacientes del presente estudio, se observó una disminución ordenada de la supervivencia a medida que aumentaba el número de neutrófilos y monocitos. En el caso de los linfocitos, solamente los pacientes agrupados en el cuartil inferior tuvieron menor supervivencia, mientras que los pacientes agrupados en los 3 cuartiles restantes no mostraron diferencias significativas. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos por Rachidi y cols¹⁸.

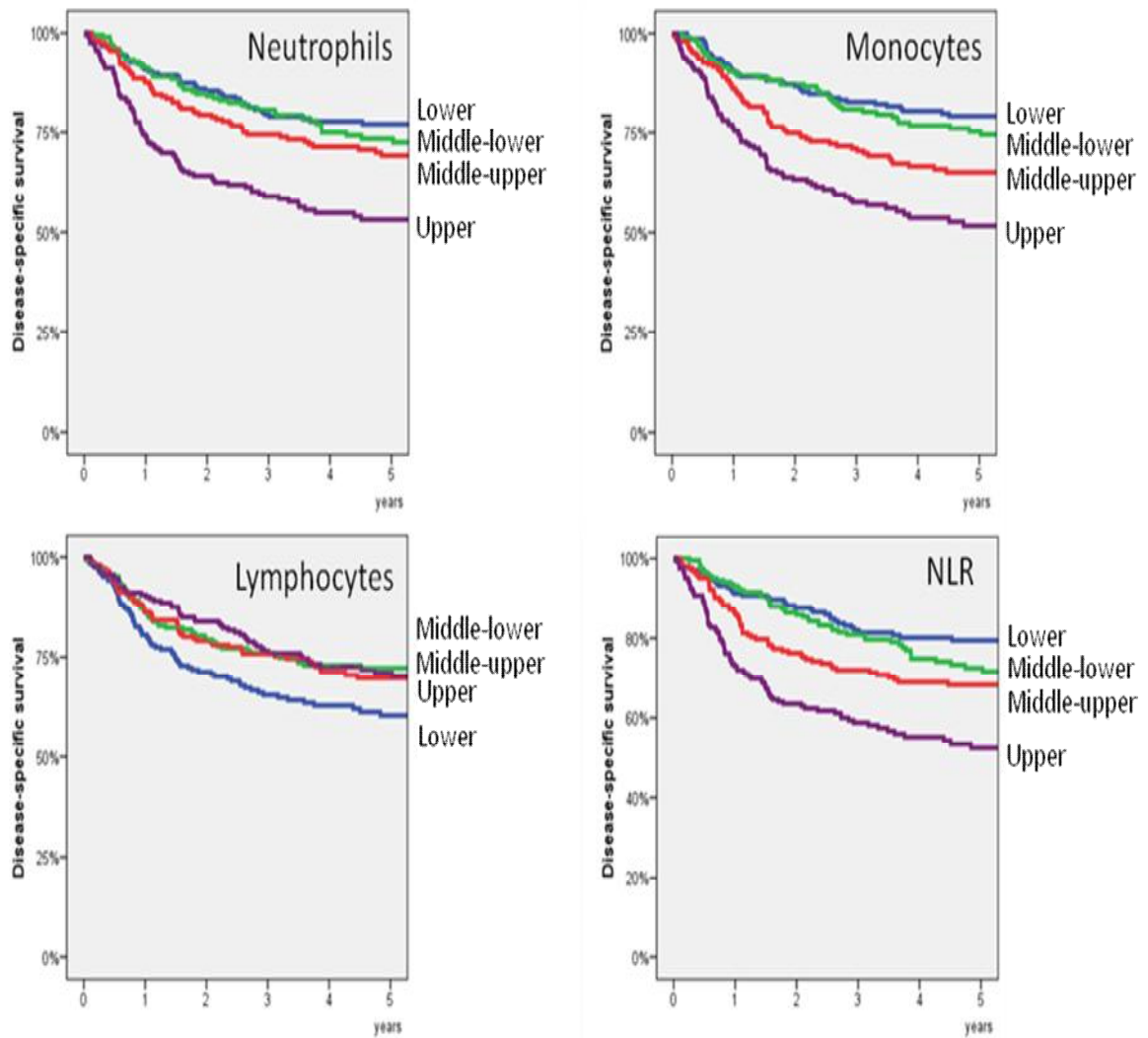


Figura 110. Curvas de supervivencia específica según la distribución cuartil de los diferentes parámetros hematológicos.

Centrándonos en el NLR, el cual podría ser considerado como el balance entre el estado inflamatorio pro-tumoral y el estado inmune anti-tumoral, cabe destacar que muchos autores lo consideran como un marcador económico, reproducible y robusto de este equilibrio. Zahorec⁷⁴ fue el primero en proponer el NLR como índice rápido y simple para evaluar la respuesta inflamatoria sistémica en 90 pacientes oncológicos en una unidad de cuidados intensivos.

La mayoría de los estudios que han evaluado la capacidad pronóstica del NLR en pacientes con CECC han encontrado una relación entre su aumento y un peor control de la enfermedad y deterioro en la supervivencia. Sólo en un estudio de Tsai y cols³⁶ que analizó pacientes con carcinomas de cavidad oral en estadios avanzados, el valor de NLR carecía de capacidad pronóstica.

En el plasma de los pacientes con un NLR elevado se ha observado la presencia de citocinas pro-inflamatorias, las cuales pueden establecer y perpetuar un microambiente tumoral que favorece la agresividad del tumor. Recientemente, una serie de estudios han medido las citocinas circulantes junto con el NLR^{75,76}. Estos estudios nos permiten conocer los mecanismos subyacentes a presentar un NLR elevado.

Motomura y cols⁷⁵ mostraron que un NLR elevado se asociaba con un aumento de interleucina-17 (IL-17) y con un aumento del infiltrado peritumoral por macrófagos. Kantola y cols⁷⁶ concluyeron que un NLR elevado se asociaba con concentraciones séricas elevadas de diferentes interleucinas (IL-1ra, IL-6, IL-7, IL-8 y IL-12). Tomadas en conjunto, la mayor concentración de citocinas y la mayor infiltración de macrófagos peritumorales sugieren que el NLR refleja, al menos en parte, una regulación positiva de la respuesta inmune innata³.

El NLR se consideraría un marcador de inflamación sistémica que podría predecir un peor pronóstico mediante la proliferación de células cancerígenas a través del aumento de la disponibilidad de factores de crecimiento, factores angiogénicos y otras moléculas de señalización pro-neoplásicas^{53,58}.

Los CECC son en parte únicos entre las neoplasias, dado que un subconjunto significativo de los tumores está asociado con una infección viral. Es posible que la infección viral en los tumores HPV positivos pueda modular la respuesta inmune a la neoplasia, lo cual impactaría claramente en el NLR, ya que tanto los niveles de neutrófilos como los niveles de linfocitos estarían influenciados. Además, diversos estudios han demostrado que los tumores HPV positivos tienen una carga mutacional menor que los HPV negativos⁷⁷.

Ensayos clínicos recientes que han examinado la eficacia de los inhibidores de los puntos de control inmune en múltiples tipos de tumores sólidos han demostrado que la carga mutacional se correlaciona con la respuesta clínica a estos agentes inmunomoduladores. Se ha hipotetizado que el mecanismo subyacente a esta observación está relacionado con una mayor carga de neoantígenos asociados al tumor en los tipos de tumores con alta carga mutacional⁷⁸. Teniendo en cuenta esta observación, un NLR alto y un estatus HPV negativo se correlacionarían con la carga mutacional en el CECC.

Lee y cols⁴⁹ confirmaron que un NLR elevado estaba asociado de forma significativa con una supervivencia específica pobre en pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral. Analizaron la utilidad pronóstica de combinar el NLR con las características histopatológicas y la clasificación TNM para crear una nueva escala de estadificación. De acuerdo con sus resultados, el TNM actual es deficiente para estimar los resultados de supervivencia en pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral. La incorporación del NLR en un modelo pronóstico basado en la clasificación TNM mejoraría significativamente la clasificación del riesgo para la supervivencia específica de la enfermedad. Concluyeron que esta nueva escala de estadificación podría ayudar a estratificar a los pacientes de alto riesgo que podrían beneficiarse de una terapia adyuvante más intensa.

Además, un estudio reciente de Nakashima y cols⁷⁹ apoya el uso del NLR como un potencial biomarcador para predecir la respuesta clínica a la quimio-radioterapia basada en 5-fluorouracilo y la supervivencia en pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral.

También Lewin y cols⁸⁰ apoyan la utilización de biomarcadores en sangre periférica tales como el recuento de neutrófilos y el NLR en pacientes con CECC en combinación con el TNM para seleccionar un tratamiento más individualizado para cada paciente. La razón por la que defienden su utilización es su rápida obtención y su coste-efectividad.

Existen otros estudios que analizan el NLR antes y después del tratamiento con quimioterapia en otros modelos tumorales, y concluyen que aquellos pacientes que normalizan o reducen el NLR post-tratamiento, cuentan con una mejor supervivencia global^{81,82}. Serían necesarios más estudios para obtener evidencia suficiente de que la normalización del NLR post-tratamiento se relaciona con un buen pronóstico. Si así fuera, el NLR podría actuar no sólo como un factor pronóstico, sino también como un posible marcador de monitorización del tratamiento.

Recientemente Takenaka y cols⁸³ han publicado un meta-análisis que analiza el impacto pronóstico del NLR en CECC. Seleccionaron 19 estudios con un total de 3,770 pacientes y analizaron los Hazard Ratios (HR) del NLR para la supervivencia específica y la supervivencia global.

En general, un NLR mayor que el punto de corte se asoció con una peor supervivencia específica y una peor supervivencia global (HR=1.88, IC 95% 1.20-2.95, p=0.006 y HR=1.69, IC 95% 1.47-1.93, p<0.001; respectivamente).

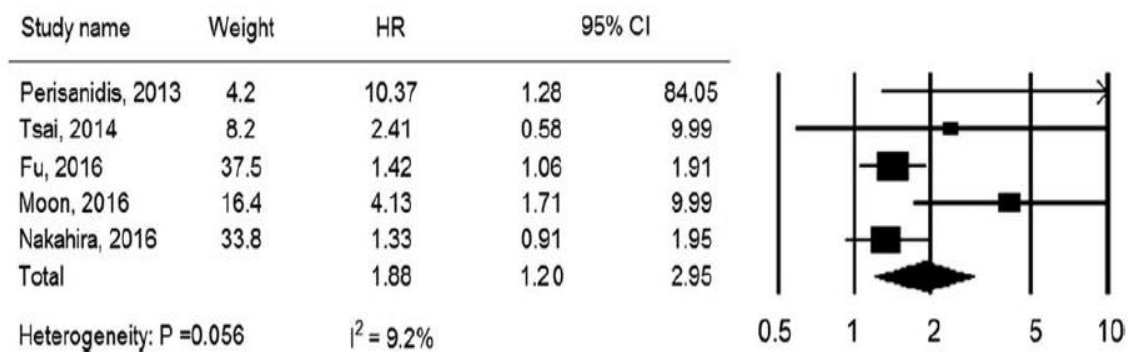


Figura 111. Forest plot mostrando los Hazard Ratios (HR) del NLR para la supervivencia específica (tomada de Takenaka⁸³).

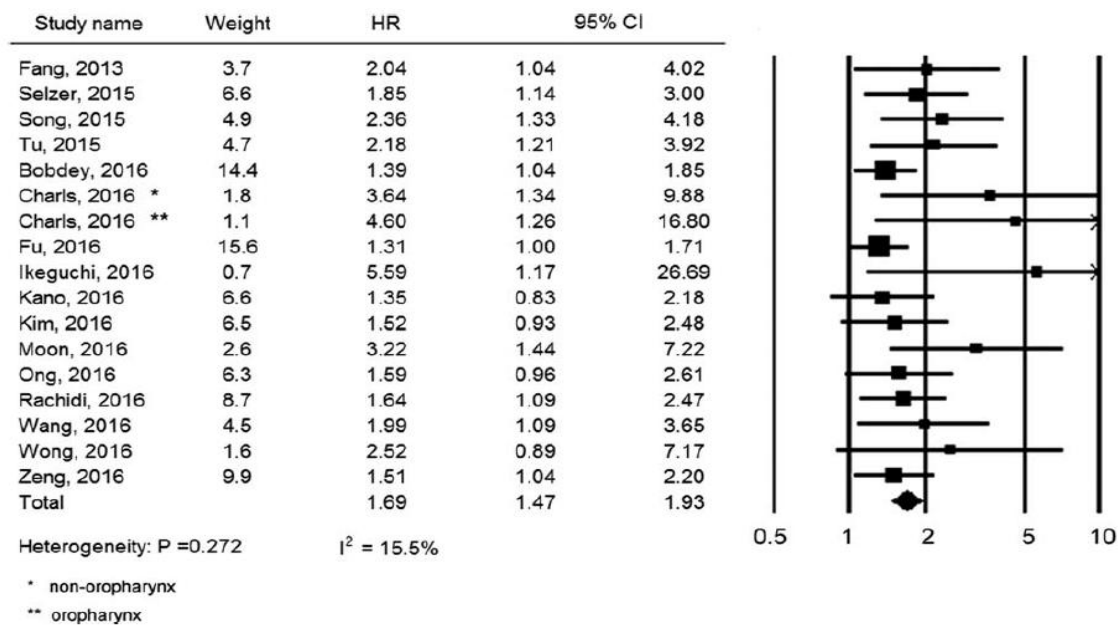


Figura 112. Forest plot mostrando los Hazard Ratios (HR) del NLR para la supervivencia global (tomada de Takenaka⁸³).

Los autores concluyeron que un NLR elevado se asociaba significativamente con un peor pronóstico en el CECC y su capacidad pronóstica fue consistente en diferentes subgrupos. Por lo tanto, el NLR demostró ser un marcador pronóstico fiable para pacientes con CECC.

Monocitos:

El número de estudios que evalúan el valor pronóstico de los monocitos circulantes en pacientes con CECC es limitado.

Tsai y cols³⁶ analizaron pacientes con carcinomas de cavidad oral en estadios avanzados y encontraron un aumento progresivo en el número de monocitos a medida que el volumen tumoral aumentaba. Los resultados de los análisis uni y multivariantes mostraron una disminución de la supervivencia en pacientes con recuentos de monocitos elevados.

De forma similar, Huang y cols²² describieron una relación entre el número de monocitos y el pronóstico en pacientes con carcinomas orofaríngeos, en particular en el caso de los pacientes con tumores HPV positivos.

A nuestro conocimiento, el presente estudio es el primero en analizar la capacidad pronóstica de los monocitos en una amplia muestra de pacientes con CECC de diferentes localizaciones.

De acuerdo con el análisis usando curvas ROC, la área bajo la curva (AUC) obtenida mediante el análisis del recuento de monocitos (0.623) fue ligeramente inferior a la AUC obtenida para los neutrófilos (0.630).

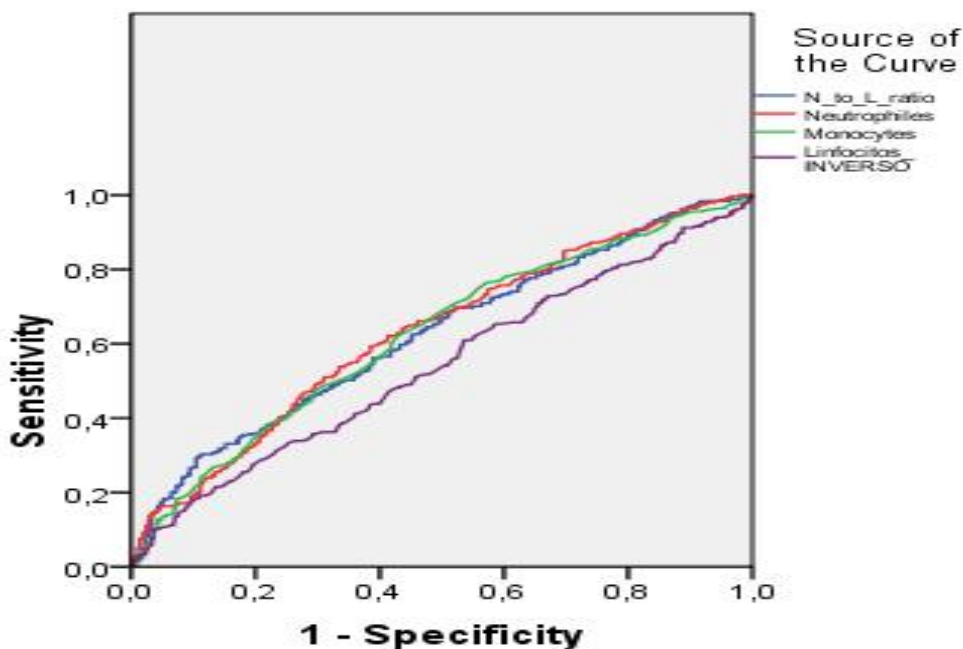


Figura 113. Curvas ROC de los diferentes parámetros hematológicos.

Para los pacientes con una cifra baja de neutrófilos, aunque existía una cierta correlación entre los recuentos circulantes de neutrófilos y monocitos, la capacidad pronóstica de los monocitos fue independiente de la capacidad pronóstica de los neutrófilos, lo que se verificó con el RPA en el que se incluyeron todos los parámetros hematológicos.

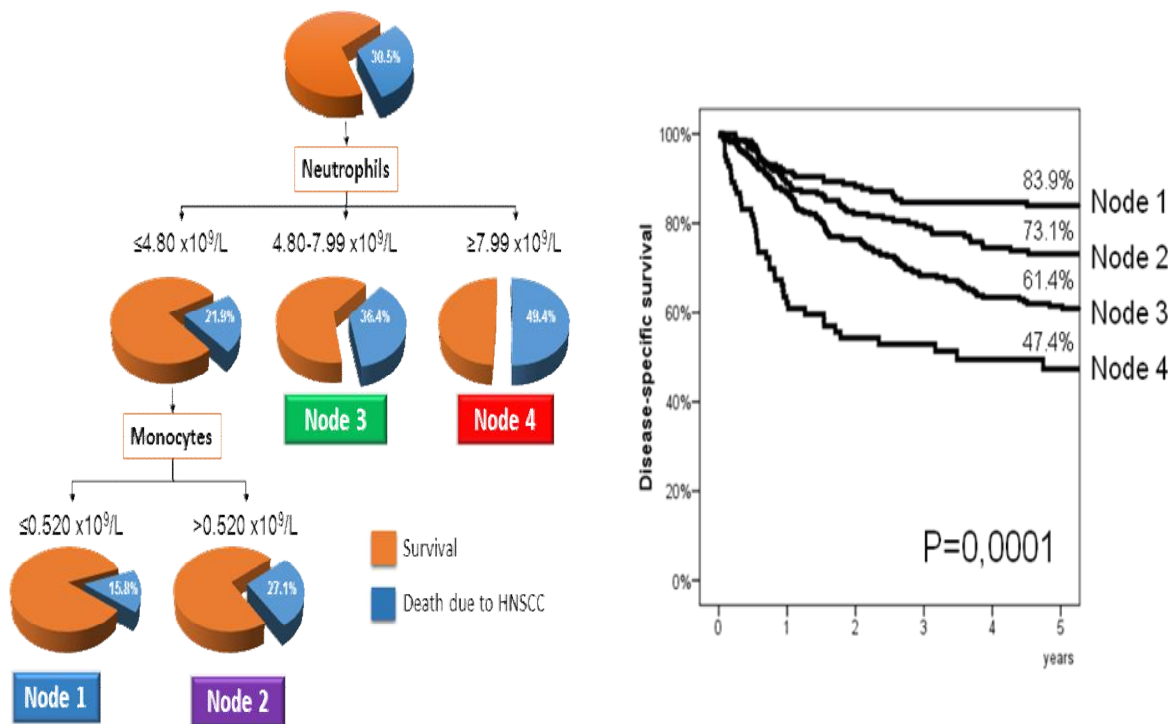


Figura 114. Árbol de clasificación de los parámetros hematológicos obtenido con el RPA y curvas de supervivencia específica de los nodos terminales.

Se observó que en pacientes con un recuento de neutrófilos bajo ($<4.80 \times 10^9/L$; $n=411$; 21.9% de muertes a causa del tumor), el valor absoluto de monocitos discriminó entre un grupo de pacientes con mejor pronóstico (≤ 0.52 monocitos $\times 10^9/L$; $n=190$; 15.8% de muertes a causa del tumor), y un grupo de pacientes con peor pronóstico (>0.52 monocitos $\times 10^9/L$; $n=221$; 27.1% de muertes a causa del tumor). Cabe destacar que el valor absoluto de los linfocitos no fue incluido en el modelo, lo que señala la limitada capacidad pronóstica de esta determinación en el grupo de pacientes del presente estudio.

Ya en los años 1980, se demostró que un nivel elevado de monocitos pre-tratamiento era un factor pronóstico independiente en pacientes con cáncer gástrico metastásico⁸⁴ y en pacientes con CECC⁸⁵.

Los macrófagos asociados al tumor, que son derivados de los monocitos en sangre periférica, son una base muy importante de la infiltración inflamatoria leucocitaria que tiene lugar en el microambiente tumoral. Esta infiltración leucocitaria tumoral favorece la progresión tumoral⁸⁶. La monocitosis podría ser la expresión de una gran infiltración tumoral por macrófagos, que promovería la progresión tumoral y esto resultaría en un peor pronóstico³¹.

Los mecanismos que explican la asociación independiente entre el pronóstico oncológico y el recuento de monocitos podrían estar relacionados con la progresión tumoral medida por la activación de la inmunidad innata^{36,87}. Por ejemplo, la proteína-1 quimioatrayente monocítica, que tiene actividad quimiotáctica para los monocitos, está aumentada en los tumores, y un número creciente de células del linaje de los monocitos se correlaciona directamente con un estadio tumoral más avanzado⁸⁸.

Además, estudios anteriores también han demostrado que la monocitosis puede estar asociada con un aumento del número de células mielomonocíticas derivadas de la médula ósea, que pueden estabilizar la angiogénesis tumoral⁸⁹. Estas células mielomonocíticas derivadas de la médula ósea pueden infiltrar el tumor y diferenciarse en macrófagos asociados a tumores, los cuales liberan muchos factores angiogénicos, incluyendo el VEGF, el TNF- α , y la metaloproteinasa-9 (MMP-9)^{36,90,91}.

Estudiado en otros tumores sólidos, como es el cáncer de mama, se ha visto que los monocitos, bajo condiciones de inflamación, también promueven la propagación de las células tumorales a través de la circulación⁹².

4. Resumen-conclusión de los resultados

La importancia de los resultados del presente estudio podría ser que sólo aquellos pacientes con una linfopenia significativa en el momento del diagnóstico del CECC tendrían su pronóstico comprometido, reflejando un compromiso clínicamente relevante de la respuesta inmune.

Los neutrófilos y los monocitos, en cambio, actuarían como marcadores inflamatorios promovidos por el tumor, con una relación directamente proporcional entre el número de neutrófilos y monocitos y la disminución de la supervivencia.

5. Comparación entre el microambiente tumoral y la sangre periférica

Los resultados del presente estudio en sangre periférica coincidieron con los resultados obtenidos en los estudios del microambiente tumoral de los CECC. Estos estudios han encontrado una asociación entre la infiltración del tumor por macrófagos^{93,94} y neutrófilos⁹⁵ y una disminución en la supervivencia, mientras que la presencia de linfocitos intra-tumorales se asoció con un mejor pronóstico^{96,97}.

6. Limitaciones del estudio

Debido a su naturaleza retrospectiva, el estudio está sujeto a varias limitaciones inherentes.

Los neutrófilos y los linfocitos son parámetros inespecíficos, que pueden estar influenciados por condiciones concurrentes tales como infecciones, inflamaciones y fármacos. Además, el NLR también se ha descrito como factor pronóstico en condiciones no tumorales. En el presente estudio no contábamos con información sobre historia de inmunosupresión, malignidades hematológicas o uso crónico de esteroides.

Además, el uso de criterios de elegibilidad estrictos podría generar un sesgo de selección. En este sentido, se evaluó la existencia de diferencias en las variables tales como edad, sexo, localización del tumor, extensión tumoral, consumo de tabaco y alcohol o grado histológico, dependiendo de si el grupo de pacientes inicialmente seleccionados (n=1,189) habían sido finalmente incluidos en el estudio (n=824) o no (n=365) .

Se encontró una tendencia significativa en la que los pacientes con tumores en estadio I (T1N0) tenían una menor probabilidad de haber sido incluidos en el estudio. Esto se debe probablemente a que los pacientes con T1N0 de glotis que pasan directamente a tratamiento con radioterapia no cuentan con analítica ni pre-operatoria (como en los casos quirúrgicos) ni pre-quimioterapia (como en los casos tratados con quimioterapia).

		Incluidos (n=824)	No incluidos (n=365)	p
Edad (media/DE), años		62.2 (11.8)	63.5 (11.1)	0.086
Sexo	Hombres	717 (69.4%)	316 (30.6%)	0.852
	Mujeres	107 (68.6%)	49 (31.4%)	
Tabaco	No	93 (69.4%)	41 (30.6%)	0.999
	≤20 cig/día	140 (69.3%)	62 (30.7%)	
	>20 cig/día	591 (69.3%)	262 (30.7%)	
Alcohol	No	199 (69.3%)	88 (30.7%)	0.999
	≤80 gr/día	340 (69.4%)	150 (30.6%)	
	>80 gr/día	285 (69.2%)	127 (30.8%)	
Localización	Cavidad oral	119 (73%)	44 (27.0%)	0.312
	Orofaringe	203 (71.0%)	83 (20.0%)	
	Hipofaringe	82 (72.6%)	31 (27.4%)	
	Laringe	420 (67.0%)	207 (33.0%)	
T	1	199 (59.4%)	136 (40.6%)	0.0001
	2	235 (71.6%)	93 (28.4%)	
	3	244 (71.8%)	96 (28.2%)	
	4	146 (78.5%)	40 (21.5%)	
N	0	456 (64.9%)	247 (35.1%)	0.001
	1	98 (73.1%)	36 (26.9%)	
	2	234 (77.0%)	70 (23.0%)	
	3	36 (75.0%)	12 (25.0%)	
Grado histológico	Bien diferenciado	101 (63.9%)	57 (36.1%)	0.210
	Moderadamente diferenciado	642 (70.5%)	268 (29.5%)	
	Pobremente diferenciado	81 (66.9%)	40 (33.1%)	

Tabla 43. Características de los pacientes dependiendo de si fueron incluidos en el estudio o no.

7. Puntos fuertes del estudio

Una de las principales ventajas del presente estudio fue la inclusión de un número relativamente grande de pacientes, con un seguimiento adecuadamente largo, tratados consecutivamente en una sola institución.

Además, la presente serie no analiza sólo una localización tumoral en cabeza y cuello, sino que incluye tanto cavidad oral, orofaringe, hipofaringe como laringe.

En cuanto a estadio y tratamiento, muchos estudios sólo incluyen estadios localmente avanzados o pacientes tratados con quimio-radioterapia. Por el contrario el presente estudio analiza todos los estadios y todos los tipos de tratamiento posibles.

También se realizó un análisis específico de los pacientes con carcinomas de orofaringe con disponibilidad del estatus HPV, dado que es una entidad particular que podría comportarse de forma distinta.

Un **factor pronóstico** se define como una situación, afección o característica del paciente que puede usarse para calcular la probabilidad de recuperación de una enfermedad o la probabilidad de que la enfermedad recurra.

Por lo tanto, los factores pronósticos pueden influenciar o determinar nuestra estrategia terapéutica.

Las características con las que debe contar son:

- ✓ Sencillez
- ✓ Disponibilidad
- ✓ Sensibilidad
- ✓ Reproducibilidad

Existe interés en el desarrollo de biomarcadores pronósticos adicionales para permitir la estratificación de la intensidad del tratamiento de acuerdo con el pronóstico. La identificación de un grupo pronóstico favorable robusto permitiría crear protocolos de des-intensificación del tratamiento con el objetivo de mantener las tasas de curación mientras se reduce la toxicidad; por el contrario, los estudios de intensificación del tratamiento podrían considerarse en el grupo de pacientes con peor pronóstico. Además, identificar un grupo de mayor riesgo nos serviría también de cara al seguimiento, dado que estos pacientes requerirían una monitorización más cercana después del tratamiento.

Los parámetros hematológicos tales como los neutrófilos, los monocitos, los linfocitos y el NLR podrían considerarse biomarcadores asequibles y universalmente disponibles, que podrían ser fácilmente incorporados a la práctica clínica diaria. Además, podrían añadirse a los factores pronósticos convencionales mejorando aún más la estimación del pronóstico en pacientes oncológicos. Son necesarios estudios a una escala mucho mayor para encontrar los puntos de corte más adecuados para los diferentes tumores.

Varios estudios también han investigado el valor predictivo de los marcadores de inflamación pre-tratamiento para determinar la respuesta al tratamiento³. Estos hallazgos tienen potencial para comprender el proceso de la enfermedad y podrían facilitar el desarrollo de pruebas económicas y rápidas para detectar la enfermedad de forma más precoz, lo que finalmente conduciría a un mayor éxito en el tratamiento.

Futuras líneas de investigación podrían basarse en los parámetros inflamatorios para identificar nuevos tratamientos, dado que la evidencia descrita en los estudios analizados en el presente trabajo refuerza la hipótesis que sugiere que los componentes celulares de la respuesta inflamatoria sistémica pueden representar objetivos para nuevas estrategias terapéuticas.

El sistema de estadiaje TNM, en sí mismo, no es una herramienta óptima para la estadificación clínica, ya que simplemente tiene en cuenta información anatómica, y por lo tanto está lejos de poder estratificar el riesgo de forma individual y de poder ser la guía terapéutica precisa para identificar pacientes diana. Por lo tanto, este problema requiere una investigación exhaustiva y la optimización del sistema TNM, especialmente mediante la incorporación de una serie de factores predictivos como podrían ser los parámetros hematológicos.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los recuentos de los parámetros hematológicos pre-tratamiento en sangre periférica en función de la edad, el sexo, la localización del tumor y el consumo de tóxicos. Destaca la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los recuentos de neutrófilos, monocitos y en el ratio entre neutrófilos y linfocitos (NLR) en relación a la extensión local y regional de la enfermedad. No así en el recuento de linfocitos.
2. Se observó una correlación significativa entre la cifra de neutrófilos y la de monocitos, y en menor medida entre la cifra de monocitos y la de linfocitos. No se apreció correlación entre la cifra de neutrófilos y la de linfocitos.
3. Un recuento elevado de neutrófilos y de monocitos y un NLR elevado, analizados pre-tratamiento en sangre periférica, se relacionaron con un peor pronóstico en pacientes con carcinomas escamosos de cabeza y cuello (CECC) de forma independiente, tanto al analizar la supervivencia específica como al analizar la supervivencia libre de recidiva local, regional y a distancia.

En el presente estudio, los linfocitos no mostraron capacidad pronóstica.

En función de los resultados del presente estudio, consideramos que la capacidad pronóstica del NLR, dependió básicamente del recuento de neutrófilos.

Tras realizar un análisis de partición recursiva (RPA), se obtuvieron cuatro nodos terminales en función de las cifras de neutrófilos y monocitos.

La supervivencia específica a los 5 años para los pacientes del primer nodo (Neutrófilos $<4.80 \times 10^9/L$ - Monocitos $<0.52 \times 10^9/L$) fue del 83.9%, para los pacientes del segundo nodo (Neutrófilos $<4.80 \times 10^9/L$ - Monocitos $>0.52 \times 10^9/L$) fue del 73.1%, para los pacientes del tercer nodo (Neutrófilos entre $4.80-7.99 \times 10^9/L$) fue del 61.4%, y para los pacientes del cuarto nodo (Neutrófilos $>7.99 \times 10^9/L$) fue del 47.4%.

4. Los pacientes con tumores de orofaringe HPV positivos contaron con niveles de neutrófilos y monocitos y con un NLR significativamente inferiores a los correspondientes a los pacientes con tumores HPV negativos. No se encontraron diferencias en cuanto al recuento de linfocitos.
5. La clasificación de los pacientes según el recuento de neutrófilos y de monocitos podría ser considerada un biomarcador útil de supervivencia en pacientes con CECC.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357(9255):539-45.
2. Sato H, Tsubosa Y, Kawano T. Correlation between the pretherapeutic neutrophil to lymphocyte ratio and the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced esophageal cancer. *World J Surg*. 2012;36(3):617-22.
3. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88(1):218-30.
4. Chen C, Sun P, Dai Q, Weng H, Li H, Ye S. The Glasgow Prognostic Score predicts poor survival in cisplatin-based treated patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma. Metzke K, ed. *PLoS One*. 2014;9(11):e112581.
5. Selzer E, Grah A, Heiduschka G, Kornek G, Thurnher D. Primary radiotherapy or postoperative radiotherapy in patients with head and neck cancer. *Strahlenther Onkol*. 2015;191(6):486-94.
6. Kobayashi T, Teruya M, Kishiki T, et al. Inflammation-based prognostic score, prior to neoadjuvant chemoradiotherapy, predicts postoperative outcome in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Surgery*. 2008;144(5):729-35.
7. Crumley ABC, McMillan DC, McKernan M, McDonald AC, Stuart RC. Evaluation of an inflammation-based prognostic score in patients with inoperable gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer*. 2006;94(5):637-41.
8. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1073-81.

9. Tortora GJ, Derrickson B, (2012). *Principles of Anatomy and Physiology (13th ed.)*. Hoboken, NJ: Wiley.
10. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(2):85-95.
11. Torisu H, Ono M, Kiryu H, et al. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNFalpha and IL-1alpha. *Int J cancer*. 2000;85(2):182-8.
12. Díaz-Valdés N, Basagoiti M, Dotor J, et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-10 by TGFbeta1 in melanoma enhances tumor infiltration and immunosuppression. *Cancer Res*. 2011;71(3):812-21.
13. Kuss I, Hathaway B, Ferris RL, Gooding W, Whiteside TL. Decreased absolute counts of T lymphocyte subsets and their relation to disease in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res*. 2004;10(11):3755-62.
14. Dworacki G, Meidenbauer N, Kuss I, et al. Decreased zeta chain expression and apoptosis in CD3+ peripheral blood T lymphocytes of patients with melanoma. *Clin Cancer Res*. 2001;7(3 Suppl):947s-57s.
15. Hoffmann TK, Dworacki G, Tsukihira T, et al. Spontaneous apoptosis of circulating T lymphocytes in patients with head and neck cancer and its clinical importance. *Clin Cancer Res*. 2002;8(8):2553-62.
16. Saito T, Kuss I, Dworacki G, Gooding W, Johnson JT, Whiteside TL. Spontaneous ex vivo apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res*. 1999;5(6):1263-73.
17. Reichert TE, Strauss L, Wagner EM, Gooding W, Whiteside TL. Signaling abnormalities, apoptosis, and reduced proliferation of circulating and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with oral carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2002;8(10):3137-45.

18. Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016;38 Suppl 1:E1068-74.
19. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(3):162-74.
20. Gabitass RF, Annels NE, Stocken DD, Pandha HA, Middleton GW. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic, esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13. *Cancer Immunol Immunother*. 2011;60(10):1419-30.
21. Wu W-C, Sun H-W, Chen H-T, et al. Circulating hematopoietic stem and progenitor cells are myeloid-biased in cancer patients. *Proc Natl Acad Sci*. 2014;111(11):4221-6.
22. Huang SH, Waldron JN, Milosevic M, et al. Prognostic value of pretreatment circulating neutrophils, monocytes, and lymphocytes in oropharyngeal cancer stratified by human papillomavirus status. *Cancer*. 2015;121(4):545-55.
23. Trellakis S, Farjah H, Bruderek K, et al. Peripheral Blood Neutrophil Granulocytes from Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Functionally Differ from Their Counterparts in Healthy Donors. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2011;24(3):683-93.
24. Fernandes P, Garcia C, Micheli D, Cunha F, Murta E, Tavares-murta B. Circulating neutrophils may play a role in the host response in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17(5):1068-74.
25. Roxburgh CS, McMillan DC. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. *Futur Oncol*. 2010;6(1):149-63.

26. Dewyer NA, Wolf GT, Light E, et al. Circulating CD4-positive lymphocyte levels as predictor of response to induction chemotherapy in patients with advanced laryngeal cancer. *Head Neck*. 2014;36(1):9-14.
27. Paramanathan A, Saxena A, Morris DL. A systematic review and meta-analysis on the impact of pre-operative neutrophil lymphocyte ratio on long term outcomes after curative intent resection of solid tumours. *Surg Oncol*. 2014;23(1):31-9.
28. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(6):dju124.
29. Proctor MJ, McMillan DC, Morrison DS, Fletcher CD, Horgan PG, Clarke SJ. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival in patients with cancer. *Br J Cancer*. 2012;107(4):695-9.
30. An X, Ding PR, Wang FH, Jiang WQ, Li YH. Elevated neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma. *Tumour Biol*. 2011;32(2):317-24.
31. He J-R, Shen G-P, Ren Z-F, et al. Pretreatment levels of peripheral neutrophils and lymphocytes as independent prognostic factors in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck*. 2012;34(12):1769-76.
32. Jin Y, Ye X, He C, Zhang B, Zhang Y. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as predictor of survival for patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck*. 2015;37(1):69-75.
33. Chang H, Gao J, Xu BQ, et al. Haemoglobin, neutrophil to lymphocyte ratio and platelet count improve prognosis prediction of the TNM staging system in nasopharyngeal carcinoma: Development and validation in 3237 patients from a single institution. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2013;25(11):639-46.

34. Sun W, Zhang L, Luo M, et al. Pretreatment hematologic markers as prognostic factors in patients with nasopharyngeal carcinoma: Neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio. *Head Neck*. 2016;38 Suppl 1:E1332-40.
35. Perisanidis C, Kornek G, Pöschl PW, et al. High neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent marker of poor disease-specific survival in patients with oral cancer. *Med Oncol*. 2013;30(1):334.
36. Tsai Y-D, Wang C-P, Chen C-Y, et al. Pretreatment circulating monocyte count associated with poor prognosis in patients with oral cavity cancer. *Head Neck*. 2014;36(7):947-53.
37. Young CA, Murray LJ, Karakaya E, Thygesen HH, Sen M, Prestwich RJD. The prognostic role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in oropharyngeal carcinoma treated with chemoradiotherapy. *Clin Med Insights Oncol*. 2014;8:81-6.
38. Wong BYW, Stafford ND, Green VL, Greenman J. Prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016;38 Suppl 1:E1903-8.
39. Turri M, Zanoni -, Salzano G, et al. Prognostic value of pretreatment peripheral blood markers in paranasal sinus cancer: Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio. *Head Neck*. 2017;39:730-6.
40. Rassouli A, Saliba J, Castano R, Hier M, Zeitouni AG. Systemic inflammatory markers as independent prognosticators of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2015;37(1):103-10.
41. Haddad CR, Guo L, Clarke S, Guminski A, Back M, Eade T. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer. *J Med Imaging Radiat Oncol*. 2015;59(4):514-9.
42. Kano S, Homma A, Hatakeyama H, et al. Pretreatment lymphocyte-to-monocyte ratio as an independent prognostic factor for head and neck cancer. *Head Neck*. 2017;39(2):247-53.

43. Rosculet N, Chong Zhou X, Ha P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio: Prognostic indicator for head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2017;39:662-7.
44. Schernberg A, Blanchard P, Chargari C, et al. Leukocytosis predicts outcome in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma treated with concurrent cisplatin and radiotherapy. (In press).
45. Arıcıgil M, Akif Dünder M, Yücel A, Arbag H, Kuria Aziz S. Can Platelet and Leukocyte Indicators Give Us an Idea about Distant Metastasis in Nasopharyngeal Cancer? *Prague Med Rep*. 2017;118(1):49-59.
46. Rachidi S, Wallace K, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Lower circulating platelet counts and antiplatelet therapy independently predict better outcomes in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Hematol Oncol*. 2014;7:65.
47. Xu C, Chen YP, Liu X, et al. Establishing and applying nomograms based on the 8th edition of the UICC/AJCC staging system to select patients with nasopharyngeal carcinoma who benefit from induction chemotherapy plus concurrent chemoradiotherapy. *Oral Oncol*. 2017;69:99-107.
48. Dutta S, Crumley ABC, Fullarton GM, Horgan PG, McMillan DC. Comparison of the Prognostic Value of Tumour- and Patient-Related Factors in Patients Undergoing Potentially Curative Resection of Oesophageal Cancer. *World J Surg*. 2011;35(8):1861-6.
49. Lee CC, Huang CY, Lin YS, et al. Prognostic performance of a new staging category to improve discrimination of disease-specific survival in nonmetastatic oral cancer. *JAMA Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2017;143(4):395-402.
50. Gouw ZAR, Paul de Boer J, Navran A, van den Brekel MWM, Sonke JJ, Al-Mamgani A. Baseline peripheral blood leukocytosis: Biological marker predicts outcome in oropharyngeal cancer, regardless of HPV-status. *Oral Oncol*. 2018;78:200-6.

51. Tamhane UU, Aneja S, Montgomery D, Rogers E-K, Eagle KA, Gurm HS. Association between admission neutrophil to lymphocyte ratio and outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol.* 2008;102(6):653-7.
52. Trellakis S, Bruderek K, Dumitru CA, et al. Polymorphonuclear granulocytes in human head and neck cancer: Enhanced inflammatory activity, modulation by cancer cells and expansion in advanced disease. *Int J Cancer.* 2011;129(9):2183-93.
53. Kum RO, Ozcan M, Baklaci D, et al. Elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio in squamous cell carcinoma of larynx compared to benign and precancerous laryngeal lesions. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(17):7351-5.
54. Eder-Czembirek C, Czembirek C, Selzer E. Neoadjuvant radiotherapy plus radical surgery for locally advanced stage III/IV oral cancer: Analysis of prognostic factors affecting overall survival. *Oral Oncol.* 2016;60:1-7.
55. León X, Orús C, Quer M. Design, maintenance, and exploitation of an oncologic database for patients with malignant tumors of the head and neck. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2002;53(3):185-90.
56. Blanche P, Dartigues J-F, Jacqmin-Gadda H. Review and comparison of ROC curve estimators for a time-dependent outcome with marker-dependent censoring. *Biom J.* 2013;55(5):687-704.
57. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.
58. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
59. Cerezo L, López C, de la Torre A, et al. Incidence of human papillomavirus-related oropharyngeal cancer and outcomes after chemoradiation in a population of heavy smokers. *Head Neck.* 2014;36(6):782-6.

60. Green VL, Michno A, Stafford ND, Greenman J. Increased prevalence of tumour infiltrating immune cells in oropharyngeal tumours in comparison to other subsites: relationship to peripheral immunity. *Cancer Immunol Immunother.* 2013;62(5):863-73.
61. Granger JM, Kontoyiannis DP. Etiology and outcome of extreme leukocytosis in 758 nonhematologic cancer patients. *Cancer.* 2009;115(17):3919-23.
62. Mallappa S, Sinha A, Gupta S, Chadwick SJD. Preoperative neutrophil to lymphocyte ratio ≥ 5 is a prognostic factor for recurrent colorectal cancer. *Color Dis.* 2013;15(3):323-8.
63. Hirashima M, Higuchi S, Sakamoto K, Nishiyama T, Okada H. The ratio of neutrophils to lymphocytes and the phenotypes of neutrophils in patients with early gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1998;124(6):329-34.
64. Petrie HT, Klassen LW, Kay HD. Inhibition of human cytotoxic T lymphocyte activity in vitro by autologous peripheral blood granulocytes. *J Immunol.* 1985;134(1):230-4.
65. Hashimoto T, Ohno Y, Nakashima J, Gondo T, Ohori M, Tachibana M. Clinical significance of preoperative peripheral blood neutrophil count in patients with non-metastatic upper urinary tract carcinoma. *World J Urol.* 2013;31(4):953-8.
66. Ulich TR, del Castillo J, Keys M, Granger GA, Ni RX. Kinetics and mechanisms of recombinant human interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha-induced changes in circulating numbers of neutrophils and lymphocytes. *J Immunol.* 1987;139(10):3406-15.
67. Ulich TR, del Castillo J, Guo KZ. In vivo hematologic effects of recombinant interleukin-6 on hematopoiesis and circulating numbers of RBCs and WBCs. *Blood.* 1989;73(1):108-10.

68. Di Carlo E, Forni G, Lollini P, Colombo MP, Modesti A, Musiani P. The intriguing role of polymorphonuclear neutrophils in antitumor reactions. *Blood*. 2001;97(2):339-45.
69. Azab B, Bhatt VR, Phookan J, et al. Usefulness of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Predicting Short- and Long-Term Mortality in Breast Cancer Patients. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(1):217-24.
70. Halazun KJ, Hardy MA, Rana AA, et al. Negative impact of neutrophil-lymphocyte ratio on outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*. 2009;250(1):141-51.
71. Jung MR, Park YK, Jeong O, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor survival following resection in late stage gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2011;104(5):504-10.
72. Kusumanto YH, Dam WA, Hospers GAP, Meijer C, Mulder NH. Platelets and Granulocytes, in Particular the Neutrophils, Form Important Compartments for Circulating Vascular Endothelial Growth Factor. *Angiogenesis*. 2003;6(4):283-7.
73. Wee JL-K, Greenwood DLV, Han X, Scheerlinck J-PY. Inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α regulate lymphocyte trafficking through the local lymph node. *Vet Immunol Immunopathol*. 2011;144(1-2):95-103.
74. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy*. 2001;102(1):5-14.
75. Motomura T, Shirabe K, Mano Y, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio reflects hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation via inflammatory microenvironment. *J Hepatol*. 2013;58(1):58-64.
76. Kantola T, Klintrup K, Väyrynen JP, et al. Stage-dependent alterations of the serum cytokine pattern in colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. 2012;107(10):1729-36.

77. Lawrence MS, Sougnez C, Lichtenstein L, et al. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature*. 2015;517(7536):576-82.
78. Hegde PS, Karanikas V, Evers S. The Where, the When, and the How of Immune Monitoring for Cancer Immunotherapies in the Era of Checkpoint Inhibition. *Clin Cancer Res*. 2016;22(8):1865-74.
79. Nakashima H, Matsuoka Y, Yoshida R, et al. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio predicts the chemoradiotherapy outcome and survival in patients with oral squamous cell carcinoma: a retrospective study. *BMC Cancer*. 2016;16(1):41.
80. Laytragoon Lewin N, Lewin F, Andersson BÅ, Löfgren S, Rutqvist LE. The use of rapid and cost-effective blood-based biomarkers in combination with tumour TNM stage for individual head and neck cancer patient treatment selection. *Med Oncol*. 2017;34(4):63.
81. Chua W, Clarke SJ, Charles KA. Systemic inflammation and prediction of chemotherapy outcomes in patients receiving docetaxel for advanced cancer. *Support Care Cancer*. 2012;20(8):1869-74.
82. Lorente D, Mateo J, Templeton AJ, et al. Baseline neutrophil–lymphocyte ratio (NLR) is associated with survival and response to treatment with second-line chemotherapy for advanced prostate cancer independent of baseline steroid use. *Ann Oncol*. 2015;26(4):750-5.
83. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer: A meta-analysis. *Head Neck*. 2017;40(3):647-55.
84. Bruckner HW, Lavin PT, Plaxe SC, Storch JA, Livstone EM. Absolute granulocyte, lymphocyte, and monocyte counts. Useful determinants of prognosis for patients with metastatic cancer of the stomach. *JAMA*. 1982;247(7):1004-6.

85. Elias EG, Leuchten JM, Buda BS, Brown SD. Prognostic value of initial mononucleated cell percentages in patients with epidermoid carcinoma of the head and neck. *Am J Surg*. 1986;152(5):487-90.
86. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860-7.
87. Droin N, Hendra J-B, Ducoroy P, Solary E. Human defensins as cancer biomarkers and antitumour molecules. *J Proteomics*. 2009;72(6):918-27.
88. Marcus B, Arenberg D, Lee J, et al. Prognostic factors in oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer*. 2004;101(12):2779-87.
89. Ahn G-O, Brown JM. Matrix Metalloproteinase-9 Is Required for Tumor Vasculogenesis but Not for Angiogenesis: Role of Bone Marrow-Derived Myelomonocytic Cells. *Cancer Cell*. 2008;13(3):193-205.
90. Dirkx AEM, oude Egbrink MGA, Wagstaff J, Griffioen AW. Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis. *J Leukoc Biol*. 2006;80(6):1183-96.
91. Lewis CE, Pollard JW. Distinct Role of Macrophages in Different Tumor Microenvironments. *Cancer Res*. 2006;66(2):605-12.
92. Evani SJ, Prabhu RG, Gnanaruban V, Finol EA, Ramasubramanian AK. Monocytes mediate metastatic breast tumor cell adhesion to endothelium under flow. *FASEB J*. 2013;27(8):3017-29.
93. Lin J-Y, Li X-Y, Tadashi N, Dong P. Clinical significance of tumor-associated macrophage infiltration in supraglottic laryngeal carcinoma. *Chin J Cancer*. 2011;30(4):280-6.
94. Liu S-Y, Chang L-C, Pan L-F, Hung Y-J, Lee C-H, Shieh Y-S. Clinicopathologic significance of tumor cell-lined vessel and microenvironment in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2008;44(3):277-85.

95. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-Associated Neutrophils as a New Prognostic Factor in Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Coleman WB, ed. *PLoS One*. 2014;9(6):e98259.
96. Balermipas P, Michel Y, Wagenblast J, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes predict response to definitive chemoradiotherapy in head and neck cancer. *Br J Cancer*. 2014;110(2):501-9.
97. Wallis SP, Stafford ND, Greenman J. Clinical relevance of immune parameters in the tumor microenvironment of head and neck cancers. Myers JN, ed. *Head Neck*. 2015;37(3):449-59.
98. Kitayama J, Yasuda K, Kawai K, Sunami E, Nagawa H. Circulating lymphocyte is an important determinant of the effectiveness of preoperative radiotherapy in advanced rectal cancer. *BMC Cancer*. 2011;11(1):64.

ANEXO

Pretreatment count of peripheral neutrophils, monocytes, and lymphocytes as independent prognostic factor in patients with head and neck cancer

Cristina Valero, MD,^{1*} Laura Pardo, MD,¹ Montserrat López, PhD,¹ Jacinto García, PhD,¹ Mercedes Camacho, PhD,² Miquel Quer, PhD,¹ Xavier León, PhD^{1,3}

¹Otorhinolaryngology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, ²Laboratory of Angiology, Vascular Biology and Inflammation, Institute of Biomedical Research (IB Sant Pau), Barcelona, Spain, ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Madrid, Spain.

Accepted 5 July 2016

Published online 18 August 2016 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI 10.1002/hed.24561

ABSTRACT: *Background.* The purpose of this study was to analyze the prognostic value of pretreatment count of peripheral neutrophils, lymphocytes, monocytes, and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC).

Methods. Local, regional, and distant recurrence-free survival and disease-specific survival were analyzed according to the count of neutrophils, lymphocytes, monocytes, and NLR.

Results. We observed a decrease in disease-specific survival as the quartile category of neutrophils, monocytes, and NLR increased. In the case of lymphocytes, patients in the lower quartile had lower disease-

specific survival. Considering the disease-specific survival as the dependent variable, a recursive partitioning analysis classified the patients according to the neutrophil and monocyte counts.

Conclusion. High pretreatment count of peripheral neutrophils and/or monocytes was independently related with worse prognosis in patients with HNSCC. Classification based on pretreatment neutrophil and monocyte counts enabled the identification of different prognostic profiles. © 2016 Wiley Periodicals, Inc. *Head Neck* 39: 219–226, 2017

KEY WORDS: head and neck squamous cell carcinoma, neutrophils, monocytes, lymphocytes, neutrophil-to-lymphocyte ratio

INTRODUCTION

There is evidence linking carcinogenesis and inflammation in two ways. On one hand, chronic inflammation promotes tumor development, and, on the other hand, most tumors show an infiltrate of cells related to the inflammatory response that stimulate tumor progression.¹

Both tumor cells and tumor microenvironment promote a systemic inflammatory response that increases the circulating counts of neutrophils, monocytes, and platelets. This response is mediated through the liberation of oxidative stress-related substances,² proinflammatory cytokines, like tumor necrosis factor- α ,³ interleukin-1 α ,³ or transforming growth factor- β .⁴ Moreover, the failure of the immune system to control and eradicate tumor cells could be partly responsible for the tumor progression. A common finding in oncologic patients is a decrease in the absolute values of certain lymphocytes subsets.⁵

The degree of the systemic inflammation correlates with the oncologic outcome in some tumor models.⁶ Studies carried out in different types of solid tumors have associated a decrease in disease control and survival with the increase of the circulating counts of neutrophils and monocytes, the decrease of lymphocytes, and an elevated ratio between neutrophils and lymphocytes, known as neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR).⁷ The results of meta-analysis of patients with solid tumors in different locations conclude that an elevated NLR correlates with poorer overall survival and disease-free survival.^{8,9}

Several studies have analyzed the prognostic capacity of lymphocytes, neutrophils, monocytes, and NLR in patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)^{10–19} (Table 1). Most authors agree that an increase in the NLR,^{10–12,14–16,18,19} an increase in the absolute count of neutrophils,^{17,19} or monocytes,^{13,17} or a decrease in the absolute count of lymphocytes^{17,19} is associated with a worse prognosis. However, the sample size of some of these studies was limited, other studies only included patients with tumors located in one anatomic site, or did not evaluate the prognostic capacity of the absolute counts of neutrophils, monocytes, and lymphocytes as independent markers.

The purpose of this study was to analyze the prognostic value of the pretreatment counts of peripheral neutrophils, monocytes, lymphocytes, and NLR in a large series of patients with HNSCC consecutively treated at a single institution.

*Corresponding author: C. Valero, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 90 Mas Casanovas street, 08041-Barcelona, Spain. E-mail: cvalero@santpau.cat

Contract grant sponsor: This study was supported by a grant from the Instituto de Salud Carlos III (RS PI14/01918). Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), A Way to Build Europe.

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

TABLE 1. Prognostic capacity of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck squamous cell carcinoma in several studies.

Author	Location	No. of patients	Treatment	Determination	Cutoff	Results
An ¹⁰	NP	363	RT	NLR	NLR: 3.73	Relation with disease-specific survival and metastases
He ¹¹	NP	1410	RT	NLR	Quartiles	Decrease of overall survival and disease-free survival in the upper quartile
Perisanidis ¹²	OC	97	CRT	NLR	NLR: 1.9	Relation with disease-specific survival (HR = 10.37)
Tsai ¹³	OC	202	CRT	M, N, L, NLR	Median	No relation of N, L, or NLR with disease-specific survival. Relation of M with disease-specific survival (HR = 7.93)
Young ¹⁴	ORF	249	RT	NLR	NLR: 5.0	Relation with disease-specific survival and locoregional control
Rassouli ¹⁵	H&N	273	CRT	NLR	NLR: 4.2	Relation to disease-specific survival
Jin ¹⁶	NP (M+)	229	CT	NLR	Median	Relation to overall survival
Huang ¹⁷	ORF	702	RT	N, L, M	Median	Relation of N and M with recurrence-free survival. Relation of L with recurrence-free survival only in patients with HPV-positive tumors
Haddad ¹⁸	H&N (III-IV)	46	RT	NLR	NLR: 5.0	Relation with overall survival
Rachidi ¹⁹	H&N	543	Surg, RT, CRT	N, L, NLR	Teriles	Relation of N, L, and NLR with overall survival

Abbreviations: NP, nasopharynx; RT, radiotherapy; NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio; OC, oral cavity; CRT, chemoradiotherapy; HR, hazard ratio; M, monocytes; N, neutrophils; L, lymphocytes; ORF, oropharynx; H&N, head and neck; M+, with distant metastases; CT, chemotherapy; HPV, human papillomavirus; Surg, surgery.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The clinical data used in this study were obtained retrospectively from a database that collects prospectively the epidemiological, treatment, and follow-up data of all patients with HNSCC treated at our institution since 1985.²⁰

We initially included 1189 patients with a histologically confirmed squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx, or hypopharynx diagnosed at our hospital between January 2000 and December 2012. Patients with <2 years follow-up were excluded.

The human papillomavirus (HPV) status of patients with an oropharyngeal carcinoma was established with a SPF-10 polymerase chain reaction and a DNA enzyme immunoassay to test for the presence of HPV-DNA virus. Virus genotyping was performed using a reverse hybridization line probe assay (LiPA25_v1) on all samples testing positive for viral DNA.

We collected the hematological parameters retrospectively from routine laboratory measurements. We only included those patients for whom we obtained the parameters within the 4 weeks before the start of treatment. The following pretreatment hematological parameters were required for inclusion in the study: total white blood cell count; absolute neutrophil count; absolute monocyte count; and absolute lymphocyte count. Complete analytical data were available in 824 patients, which form the sample of the study. The most common causes of exclusion were an interval of more than 4 weeks between the blood test and the start of treatment, or the absence of all the required parameters in the test.

Table 2 includes information regarding the age and sex, tobacco and alcohol consumption, location of the tumor, local and regional extension of the tumor, histological grade, and treatment received of the patients included in the study. The average follow-up of the patients enrolled was 4.49 years (SD = 3.86 years).

All procedures were reviewed and approved by the Institutional Review Board at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain. The investigation conforms to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. Because of the retrospective nature of the study, no formal consent was required.

Data analysis

We first analyzed the relationship between the absolute values of the hematological parameters and the clinical variables, such as age, sex, location of the primary tumor, local and regional extension of the primary tumor, histological grade, and tobacco and alcohol consumption. Second, we explored the relationship between the cited clinical variables and the NLR.

We used a recursive-partitioning analysis (RPA) to evaluate the relationship between the absolute values of the hematological parameters and the disease control, considering disease-specific survival as the dependent variable. We calculated disease-specific survival, local recurrence-free survival, regional recurrence-free survival, and metastases-free survival for the categories obtained with the RPA analysis.

Finally, we adjusted a multivariate model, including as independent variables the location of the primary tumor, the local and regional extension of the primary tumor, the histological grade, and the categories obtained with the RPA analysis.

Statistical study

We used the *t* test and 1-way analysis of variance to compare the cell counts with the clinical variables. We assessed the correlation between the different cell counts using the Pearson correlation test. Receiver operating characteristic (ROC) curves helped us compare the prognostic significance of the hematological parameters analyzed.²¹

Lymphocyte, monocyte, and neutrophil counts were classified into 4 categories based on the quartile distribution in

TABLE 2. Characteristics of the patients included in the study.

Characteristics	No. of patients	%
Age (mean/SD), y	62.2/11.1	
Sex		
Male	717	87.0
Female	107	13.0
Tobacco		
No	93	11.3
<20 cigs/d	140	17.0
≥20 cigs/d	591	71.7
Alcohol		
No	199	24.2
<80 g/d	340	41.3
≥80 g/d	285	34.6
Location		
Oral cavity	119	14.4
Oropharynx	203	24.6
Hypopharynx	82	10.0
Larynx	420	51.0
T classification		
T1	199	24.2
T2	235	28.5
T3	244	29.6
T4	146	17.7
N classification		
N0	456	55.3
N1	98	11.9
N2	234	28.4
N3	36	4.4
Grade		
Well differentiated	101	12.3
Moderately differentiated	642	77.9
Poorly differentiated	81	9.8
Treatment		
Palliative	35	4.2
Surgery +/- radiotherapy	158	19.2
Surgery + radiotherapy	77	9.4
Surgery + chemoradiotherapy	33	4.0
Radiotherapy	271	32.9
Chemoradiotherapy	250	30.3

the whole sample. The upper quartile included the patients with the highest count values, followed by the middle-upper and middle-lower quartiles, and, finally, the lower quartile grouped the patients with the lowest counts.

We included the continuous value of the hematological parameters in an RPA (CHAID method), considering the disease-specific survival as the dependent variable. The survival curves were calculated according to the Kaplan-Meier method. Differences in survival were compared using the log-rank test.

We performed a multivariate analysis using the Cox's proportional hazard regression model, considering the disease-specific survival as the dependent variable. SPSS and Sigma-Plot software were used for statistical analysis.

RESULTS

Table 3 shows the average values of neutrophil, monocyte, and lymphocyte counts, and the average value of NLR according to age, sex, tobacco and alcohol consumption,

location of the primary tumor, local and regional extension of the primary tumor, and histological grade.

We observed a decrease in the number of lymphocytes as the age increased, and an increase in the number of lymphocytes in relation to tobacco consumption. None of the tumor characteristics, such as local or regional extension category, location of the primary tumor, or histological grade, was significantly associated with the number of lymphocytes.

Neutrophils and monocytes significantly increased when the local and regional extension of the disease increased. In addition, patients with oral cavity or laryngeal tumors had a significantly lower count of neutrophils and monocytes than patients with oropharyngeal or hypopharyngeal tumors. As happened with lymphocytes, we observed a decrease in the number of neutrophils and monocytes as the age of the patients increased. Moreover, the number of neutrophils and monocytes increased in relation to tobacco and alcohol consumption. Female patients had a significantly lower count of neutrophils and monocytes than male patients. The NLR value significantly increased as the local or regional extension of the tumor increased.

Correlations among the absolute values of neutrophils, monocytes, and lymphocytes were assessed. There was a significant association between neutrophil and monocyte counts ($r = 0.487$; $p = .0001$) and, to a lesser extent, between monocyte and lymphocyte counts ($r = 0.286$; $p = .0001$). Notably, no significant association between neutrophil and lymphocyte counts was found ($r = 0.047$; $p = .175$).

Information regarding the HPV status was available in 125 patients with oropharyngeal carcinomas. Twenty-four of the patients with an oropharyngeal carcinoma (19.2%) showed HPV positivity, 22 of which were positive for HPV-16 genotype. The mean count of neutrophils, monocytes, and lymphocytes for HPV-negative patients was 6.08, 0.83, and $2.00 \times 10^9/L$, respectively, and for HPV-positive patients it was 4.78, 0.63, and $2.10 \times 10^9/L$, respectively. There were no significant differences in the number of lymphocytes based on the HPV status ($p = .534$), whereas patients who were HPV-positive had a significantly lower number of neutrophils and monocytes compared with HPV-negative patients ($p = .007$ and $p = .004$, respectively).

During the follow-up period, 219 patients (26.6%) had local tumor recurrence, 132 patients (16%) had regional tumor recurrence, and 74 patients (9.0%) had distant metastases. A total of 251 patients (30.5%) died because of tumor progression.

Supplementary Figure S1, online only, shows the disease-specific survival curves according to the quartile distribution of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and NLR. An ordered decrease in disease-specific survival was observed as the quartile category of neutrophils, monocytes, and NLR increased. In the case of lymphocytes, patients in the lower quartile had a lower disease-specific survival, whereas the disease-specific survival in the middle-lower, middle-upper, and upper quartiles was similar.

Table 4 shows the cutoffs of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and NLR obtained performing an RPA considering the disease-specific survival as the dependent variable. Table 4 also shows the number of patients included in each category and the percentage of patients who died because of tumor progression for each category.

TABLE 3. Average value of neutrophils ($\times 10^9/L$), monocytes ($\times 10^9/L$), lymphocytes ($\times 10^9/L$), and neutrophil-to-lymphocyte ratio by clinicopathological variables.

	Neu	p value	Mon	p value	Lym	p value	NLR	p value
Age, y								
<50	5.83	.001	0.74	.022	2.34	.001	2.81	.677
50–65	5.38		0.69		2.14		3.07	
>65	4.92		0.65		1.87		2.98	
Sex								
Male	5.35	.001	0.70	.001	2.06	.693	3.08	.069
Female	4.67		0.57		2.10		2.56	
Tobacco								
No	4.27	.001	0.55	.001	1.87	.003	2.58	.270
<20 cigs/d	4.92		0.66		1.95		3.11	
≥20 cigs/d	5.50		0.77		2.13		3.05	
Alcohol								
No	4.85	.001	0.61	.001	2.01	.476	2.73	.016
<80 g/d	5.03		0.68		2.08		2.86	
≥80 g/d	5.83		0.73		2.10		3.38	
Location								
Oral cavity	4.78	.001	0.62	.001	1.96	.485	2.76	.137
Oropharynx	5.63		0.76		2.09		3.34	
Hypopharynx	6.14		0.73		2.09		3.25	
Larynx	5.05		0.65		2.08		2.88	
T classification								
1	4.30	.001	0.61	.001	2.09	.255	2.29	.001
2	4.96		0.64		2.09		2.77	
3	5.61		0.70		2.10		3.36	
4	6.49		0.80		1.95		3.81	
N classification								
0	4.95	.001	0.65	.002	2.03	.121	2.87	.001
1	5.67		0.70		2.09		3.07	
2	5.61		0.73		2.16		2.99	
3	5.88		0.74		1.90		4.76	
Grade								
Well differentiated	4.84	.087	0.65	.523	2.13	.088	2.50	.032
Moderately differentiated	5.35		0.68		2.08		3.02	
Poorly differentiated	5.09		0.68		1.89		3.57	

Abbreviations: Neu, neutrophils; Mon, monocytes; Lym, lymphocytes; NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio.

In the analysis of neutrophils, monocytes, and NLR, the RPA classified the patients into 3 categories with significant differences in disease-specific survival. In the case of lymphocytes, the RPA only found 1 cutoff point, obtaining 2 categories with significant differences in disease-specific survival. Supplementary Figure S2, online only, shows the classification trees obtained with the RPA.

Using ROC curves, we compared the prognostic capacity of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and NLR. The variable that showed a higher relation with the disease-specific survival was the absolute number of neutrophils (area under the curve [AUC] = 0.630; 95% confidence interval [CI] = 0.589–0.671). It was followed by the NLR (AUC = 0.624; 95% CI = 0.582–0.666) and by the absolute number of monocytes (AUC = 0.623; 95% CI = 0.582–0.665). The prognostic capacity of the absolute number of lymphocytes was more limited (AUC = 0.541; 95% CI = 0.498–0.585; $p = .058$).

The RPA classified the patients into 3 categories according to the number of neutrophils before treatment, with cutoffs at 4.80 and 7.99 neutrophils $\times 10^9/L$. Patients with <4.80 neutrophils $\times 10^9/L$ ($n = 411$; 49.9%) had a 5-year disease-specific survival of 78.2% (95% CI = 73.8% to

82.5%). Patients with 4.80 to 7.99 neutrophils $\times 10^9/L$ ($n = 330$; 40.0%) had a 5-year disease-specific survival of 61.4% (95% CI = 55.7% to 67.0%). Finally, patients with >7.99 neutrophils $\times 10^9/L$ ($n = 83$; 10.1%) had a 5-year disease-specific survival of 47.4% (95% CI = 35.8% to 58.9%). Figure 1 shows the disease-specific survival curves according to the categories defined by the RPA in terms of absolute neutrophils count ($p = .0001$). There was a significant decrease in local, regional, and distant disease-free survival when increasing the category number of neutrophils, as defined by the RPA. Supplementary Table S1, online only, shows the 5-year local, regional, and distant disease-free survival according to the categories defined by the RPA in terms of absolute neutrophil counts.

Table 5 shows the results of a multivariate analysis considering the disease-specific survival as the dependent variable. The independent variables were: location of the primary tumor, local (T1–2 vs T3–4) and regional (N0 vs N+) extension, histological grade, and neutrophil count category, as defined by the RPA. The neutrophil count category, as defined by the RPA, had an independent prognostic value. Considering patients with <4.80 neutrophils $\times 10^9/L$ as the reference category, patients with 4.80 to 7.99 neutrophils $\times 10^9/L$ had a 1.43 higher risk of death as a consequence of

TABLE 4. Percentage of deaths because of the head and neck squamous cell carcinoma in each category obtained with the recursive partitioning analysis considering disease-specific survival as the dependent variable.

	No. patients	% Deaths	<i>p</i> value
Neutrophils			.0001
≤4.80 × 10 ⁹ /L	411	21.9	
4.80–7.99 × 10 ⁹ /L	330	36.4	
≥7.99 × 10 ⁹ /L	83	49.4	
Monocytes			.0001
≤0.58 × 10 ⁹ /L	333	21.0	
0.58–1.01 × 10 ⁹ /L	411	34.3	
≥1.01 × 10 ⁹ /L	80	50.0	
Lymphocytes			.002
≤1.18 × 10 ⁹ /L	82	45.1	
>1.18 × 10 ⁹ /L	742	28.8	
NLR			.0001
≤1.35	82	14.6	
1.35–3.86	577	27.6	
≥3.86	165	48.5	

Abbreviation: NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio.

the tumor (95% CI = 1.08–1.89), and patients with >7.99 neutrophils × 10⁹/L had a 1.91 higher risk of death as a consequence of the tumor (95% CI = 1.29–2.80). The other variables significantly associated with survival were local and regional extension of the disease.

We carried out an analysis of the influence of the HPV status in the prognostic capacity of the neutrophil count in patients with an oropharyngeal carcinoma. We did a multivariate analysis considering the disease-specific survival as the dependent variable, and the local and regional extension of the tumor, histological grade, HPV status, and neutrophil count category defined by the RPA as the independent variables. According to the results of the multivariate study, both the HPV status and the neutrophil

TABLE 5. Results of the multivariate analysis.

	HR	95% CI	<i>p</i> value
Location			
Oral cavity	1		
Oropharynx	0.69	0.48–0.99	.046
Hypopharynx	0.61	0.39–0.95	.03
Larynx	0.47	0.33–0.69	.0001
Local extension			
T1–2	1		
T3–4	3.03	2.24–4.09	.0001
Regional extension			
NO	1		
N+	2.20	1.62–2.98	.0001
Histological grade			
Well differentiated	1		
Moderately differentiated	1.20	0.72–2.00	.489
Poorly differentiated	1.16	0.62–2.18	.638
Neutrophil count			
≤4.80 × 10 ⁹ /L	1		
4.80–7.99 × 10 ⁹ /L	1.43	1.08–1.89	.012
≥7.99 × 10 ⁹ /L	1.91	1.30–2.80	.001

Abbreviations: HR, hazard ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

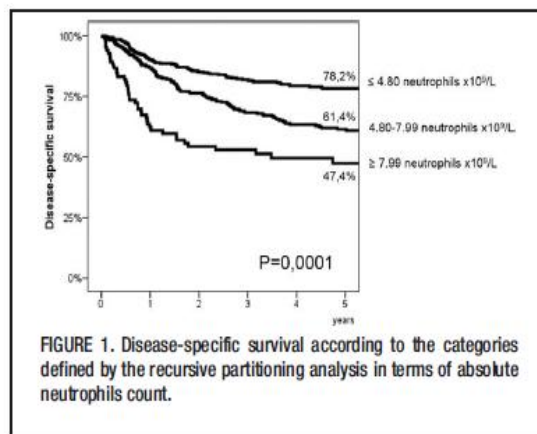


FIGURE 1. Disease-specific survival according to the categories defined by the recursive partitioning analysis in terms of absolute neutrophils count.

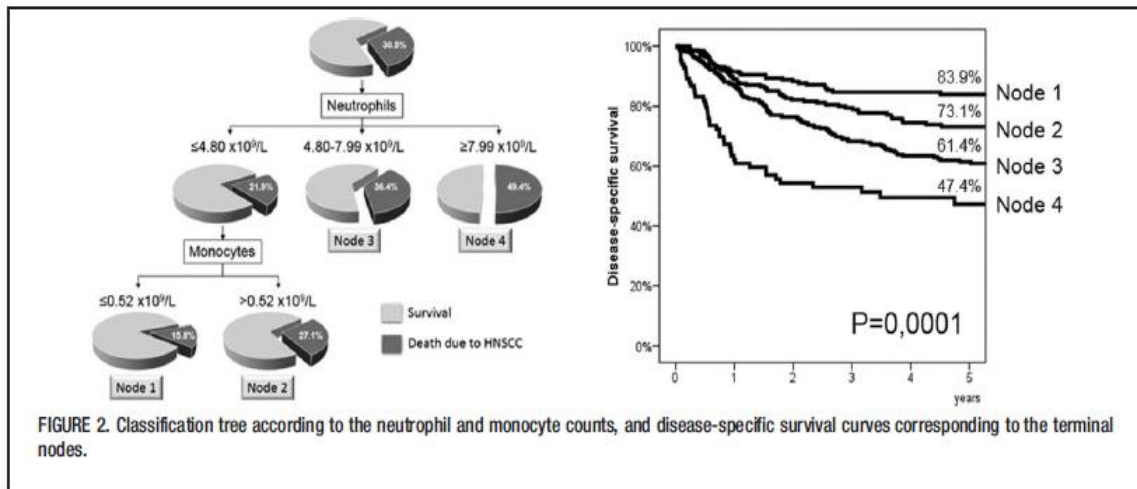
count category were significantly related to disease-specific survival. In the case of oropharyngeal carcinoma, HPV-negative patients had a 2.95 higher risk of death as a consequence of the tumor (95% CI = 1.24–4.23; *p* = .008) compared with HPV-positive patients. Considering patients with <4.80 neutrophils × 10⁹/L as the reference category, patients with 4.80 to 7.99 neutrophils × 10⁹/L had a 1.58 higher risk of death as a consequence of the tumor (95% CI = 0.80–3.15; *p* = .186), and patients with >7.99 × 10⁹/L neutrophils had a 2.71 higher risk of death as a consequence of the tumor (95% CI = 1.19–6.16; *p* = .018).

A classification tree with 4 terminal nodes was obtained by including pretreatment counts of lymphocytes, monocytes, and neutrophils in an RPA. We established a first level of classification based on the number of neutrophils. In the group of patients with the lowest neutrophil count, we established a second level of classification based on the number of monocytes. Patients with a low count of neutrophils (≤4.80 × 10⁹/L) and a low count of monocytes (≤0.52 × 10⁹/L) had a significantly higher disease-specific survival than patients with a low count of neutrophils (≤4.80 × 10⁹/L) and a high count of monocytes (>0.52 × 10⁹/L; *p* = .003). The absolute value of lymphocytes was not included in the model. Figure 2 shows the classification tree according to the neutrophil and monocyte counts and the disease-specific survival curves corresponding to the terminal nodes.

More than 50% of the patients included in the study had a primary tumor located in the larynx. We repeated all the analyses only considering patients with a laryngeal tumor and the results were very similar to those obtained when all the patients were included (data not shown).

DISCUSSION

In the present study, we found that pretreatment peripheral neutrophil count was the hematological parameter most significantly related to disease-specific survival. The prognostic capacity of NLR depended mainly on the number of neutrophils, whereas the number of lymphocytes contributed limitedly. Furthermore, the absolute value of monocytes had similar prognostic capacity to neutrophils.



In assessing the relationship between the absolute values of the different hematological parameters analyzed and the clinical tumor-related variables, our results matched with those of other authors. We observed an increase in the pretreatment count of neutrophils,^{11,13,17,22} and a decrease in the pretreatment count of lymphocytes^{11,13} in relation to the extent of the disease.

In addition, we found a downward trend in the number of neutrophils, monocytes, and lymphocytes as the age of the patients increased. This could represent a compromised immune response because of aging. As the results obtained by He et al¹¹ and Rachidi et al,²³ we observed that female patients had lower counts of neutrophils and monocytes compared with male patients. Our patients with a history of tobacco and alcohol consumption presented a significant increase in the pretreatment count of neutrophils, monocytes, and lymphocytes, as other authors observed.^{17,23} We found trends in the absolute values of the different leukocytes according to tumor volume and clinical characteristics of the patients. These trends could play an important role in the disease evolution.

When we analyzed patients with oropharyngeal carcinomas based on HPV status, we observed that HPV-positive patients showed counts of neutrophils and monocytes significantly lower than HPV-negative patients, but there were no differences in the number of lymphocytes according to the HPV status. Our results match with those of Huang et al,¹⁷ who also found a decrease in the neutrophil and monocyte counts in patients with HPV-positive oropharyngeal carcinomas, and no differences in lymphocyte count. The relevance of the differences in the hematological profiles based on HPV status in terms of treatment response remains to be determined.

The absolute value of neutrophils was the hematological parameter most significantly related to the prognosis. On the contrary, the absolute value of lymphocytes was the parameter with less discrimination capacity. From these results, it follows that, in our group of patients, the prognostic value of NLR depended mainly on the number of neutrophils.

Most studies evaluating the prognostic capacity of NLR in patients with HNSCC found a relationship between its increase and the deterioration in survival and a worse disease control. Only in a study by Tsai et al¹³ that analyzed patients with oral cavity carcinomas at advanced stages, the value of NLR lacked of prognostic capacity.

Most studies do not specifically analyze the independent prognostic value of the different leukocytes. Huang et al¹⁷ evaluated patients with oropharyngeal carcinomas and found that in HPV-negative patients, as are most of our patients, circulating lymphocyte counts had no prognostic value. On the contrary, in patients with HPV-positive disease, a higher lymphocyte count was associated with a significant decrease in recurrence of the disease ($p = .026$). In a study carried out in patients with HNSCC, Rachidi et al¹⁹ found that higher neutrophil counts correlate with lower lymphocyte counts, and patients in the highest tertile of neutrophil count and those in the lowest tertile of lymphocyte count had a shorter overall survival than the rest of the patients.

When we analyzed the disease-specific survival according to the quartile distribution in our patients (Supplementary Figure S1, online only), we observed an orderly decrease in survival with the increase of the number of neutrophils and monocytes. In the case of lymphocytes, patients grouped in the lower quartile had lower survival, whereas patients grouped in the 3 remaining quartiles had no significant differences in survival. These results matched with those obtained by Rachidi et al.¹⁹

The significance of these results could be that only those patients with a significant lymphopenia at the time of the HNSCC diagnosis would have their prognosis compromised, reflecting a clinically relevant compromised immune response. Neutrophils and monocytes would be inflammatory markers promoted by the tumor, with a directly proportional relationship between the number of neutrophils and monocytes and the decrease in survival.

The number of studies evaluating the prognostic value of circulating monocytes in patients with HNSCC is limited. Tsai et al¹³ analyzed patients with oral cavity carcinomas at

advanced stages and they found a progressive increase in the number of monocytes as the tumor volume incremented. The results of univariate and multivariate analyses showed a decreased survival in patients with high monocyte counts. Similarly, Huang et al¹⁷ described a relationship between the number of monocytes and the prognosis in patients with oropharyngeal carcinomas, particularly in the case of patients with HPV-positive disease. To our knowledge, ours is the first study analyzing the prognostic capacity of monocytes in a wide range of patients with HNSCC from different locations.

According to the analysis using ROC curves, the AUC obtained by analyzing the number of monocytes was slightly lower than the AUC obtained by analyzing the number of neutrophils. Even though there was a certain correlation between the circulating counts of neutrophils and monocytes, the prognostic capacity of monocytes was independent of the prognostic capacity of neutrophils. It was verified with the recursive partitioning analysis in which all the hematological determinations were included (see Figure 2). We observed that in patients with a low neutrophil count (<4.80 neutrophils $\times 10^9/L$; $n = 411$; 21.9% deaths because of the tumor), the absolute value of monocytes discriminated between a group of patients with better prognosis (≤ 0.52 monocytes $\times 10^9/L$; $n = 190$; 15.8% deaths because of the tumor), and a group of patients with worse prognosis (>0.52 monocytes $\times 10^9/L$; $n = 221$; 27.1% deaths because of the tumor). Besides, the absolute value of lymphocytes was not included in the model.

Our results at a hematological level matched with the results obtained in the studies of the tumor microenvironment in HNSCC. These studies have found a significant association between the infiltration of the tumor by macrophages^{24,25} and neutrophils²⁶ and a decrease in survival, whereas the presence of intratumoral lymphocytes was associated with a better prognosis.^{27,28} It was beyond the scope of our study to analyze the pathophysiologic mechanisms underlying the interplay between the systemic inflammatory and immune responses and the carcinogenic process.

A major strength of this study was the inclusion of a relatively large number of patients, with an adequate long follow-up, consecutively treated at a single institution. However, because of its retrospective nature, the study is subject to several inherent limitations. We did not dispose of information about the history of immunosuppression, hematological malignancies, or chronic steroid use. Besides, using strict eligibility criteria could cause patient selection bias. In this regard, we evaluated the existence of differences in variables, such as age, sex, tumor location, tumor extension, tobacco and alcohol consumption, or histological grade, depending if the initially selected patients ($n = 1189$) had been finally included in the study ($n = 824$) or not ($n = 365$) (Supplementary Table S2, online only). We found a significant trend in which patients with stage I tumors (T1N0) had less probability of having been included in the study.

CONCLUSION

According to our results, a high pretreatment count of circulating neutrophils and/or monocytes was independently

related to worse prognosis in patients with HNSCC. The classification of patients according to neutrophil and monocyte counts can be considered as a useful biomarker of survival of patients with HNSCC. Patients with a low count of neutrophils and monocytes had the best prognosis.

REFERENCES

- Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009;30:1073–1081.
- Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011;11:85–95.
- Torisu H, Ono M, Kiryu H, et al. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNFalpha and IL-1alpha. *Int J Cancer* 2000;85:182–188.
- Diaz-Valdés N, Basagoiti M, Dotor J, et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-10 by TGFbeta1 in melanoma enhances tumor infiltration and immunosuppression. *Cancer Res* 2011;71:812–821.
- Kuss I, Hathaway B, Ferris RL, Gooding W, Whiteside TL. Decreased absolute counts of T lymphocyte subsets and their relation to disease in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2004;10:3755–3762.
- Roxburgh CS, McMillan DC. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. *Future Oncol* 2010;6:149–163.
- Dewyer NA, Wolf GT, Light E, et al. Circulating CD4-positive lymphocyte levels as predictor of response to induction chemotherapy in patients with advanced laryngeal cancer. *Head Neck* 2014;36:9–14.
- Paramanathan A, Saxena A, Morris DL. A systematic review and meta-analysis on the impact of pre-operative neutrophil lymphocyte ratio on long term outcomes after curative intent resection of solid tumours. *Surg Oncol* 2014;23:31–39.
- Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2014;106:dju124.
- An X, Ding PR, Wang FH, Jiang WQ, Li YH. Elevated neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma. *Tumour Biol* 2011;32:317–324.
- He JR, Shen GP, Ren ZF, et al. Pretreatment levels of peripheral neutrophils and lymphocytes as independent prognostic factors in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck* 2012;34:1769–1776.
- Perisanidis C, Kornek G, Pöschl PW, et al. High neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent marker of poor disease-specific survival in patients with oral cancer. *Med Oncol* 2013;30:334.
- Tsai YD, Wang CP, Chen CY, et al. Pretreatment circulating monocyte count associated with poor prognosis in patients with oral cavity cancer. *Head Neck* 2014;36:947–953.
- Young CA, Murray LJ, Karakaya E, Thygesen HH, Sen M, Prestwich RJ. The prognostic role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in oropharyngeal carcinoma treated with chemoradiotherapy. *Clin Med Insights Oncol* 2014;8:81–86.
- Rassouli A, Saliba J, Castano R, Hier M, Zeitouni AG. Systemic inflammatory markers as independent prognosticators of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2015;37:103–110.
- Jin Y, Ye X, He C, Zhang B, Zhang Y. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as predictor of survival for patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck* 2015;37:69–75.
- Huang SH, Waldron JN, Milosevic M, et al. Prognostic value of pretreatment circulating neutrophils, monocytes, and lymphocytes in oropharyngeal cancer stratified by human papillomavirus status. *Cancer* 2015;121:545–555.
- Haddad CR, Guo L, Clarke S, Guminski A, Back M, Eade T. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2015;59:514–519.
- Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2016;38 Suppl 1:E1068–E1074.
- León X, Orús C, Quer M. Design, maintenance, and exploitation of an oncologic database for patients with malignant tumors of the head and neck [in Spanish]. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2002;53:185–190.
- Blanche P, Dartigues JF, Jacquemin-Gadga H. Review and comparison of ROC curve estimators for a time-dependent outcome with marker-dependent censoring. *Biom J* 2013;55:687–704.
- Trellakis S, Bruderek K, Dumitru CA, et al. Polymorphonuclear granulocytes in human head and neck cancer: enhanced inflammatory activity, modulation by cancer cells and expansion in advanced disease. *Int J Cancer* 2011;129:2183–2193.
- Rachidi S, Wallace K, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Lower circulating platelet counts and antiplatelet therapy independently predict better outcomes in

- patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Hematol Oncol* 2014;7:65.
24. Lin JY, Li XY, Tadashi N, Dong P. Clinical significance of tumor-associated macrophage infiltration in supraglottic laryngeal carcinoma. *Chin J Cancer* 2011;30:280–286.
 25. Liu SY, Chang LC, Pan LF, Hung YJ, Lee CH, Shieh YS. Clinicopathologic significance of tumor cell-lined vessel and microenvironment in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2008;44:277–285.
 26. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-associated neutrophils as a new prognostic factor in cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9:e98259.
 27. Balempas P, Michel Y, Wagenblast J, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes predict response to definitive chemoradiotherapy in head and neck cancer. *Br J Cancer* 2014;110:501–509.
 28. Wallis SP, Stafford ND, Greenman J. Clinical relevance of immune parameters in the tumor microenvironment of head and neck cancers. *Head Neck* 2015;37:449–459.

