

TÍTULO:

**ESTRATEGIAS DE INDUCCIÓN DE APOPTOSIS PARA EL TRATAMIENTO
DE LINFOMAS/LEUCEMIAS**

DIRECTOR: Dra. Alejandra Duarte

INVESTIGADORES COLABORADORES:

Dr. Hernán Pérez ⁽¹⁾.

Dra. Romina Cutrullis ⁽²⁾.

FILIACIÓN DE LOS INVESTIGADORES COLABORADORES:

(1) INIGEM-UBA-CONICET; Hospital de Clínicas-UBA.

(2) IUCS-Fundación H.A. Barceló.

SEDE-LUGAR: C.A.B.A.

FECHA: 2/03/2026

CONTACTO DEL DIRECTOR:

aduarte@fundacion.barcelo.edu.ar

ales_duarte@hotmail.com

I. Índice

Resumen.....	4
Palabras claves.....	4
Abstract.....	5
Palabras claves en ingles.....	5
Introducción.....	6
Hiótesis y Objetivos.....	8
Metodología general.....	9
Resultados.....	12
Conclusión y discusión.....	18
Agradecimientos.....	19
Bibliografía.....	19

II. Resumen

Las leucemias/linfomas de células T presentan pronósticos desfavorables en casos de recaída, y los tratamientos convencionales suelen asociarse a respuestas limitadas y a una toxicidad sistémica severa. El objetivo general de este proyecto es avanzar en el desarrollo de una herramienta terapéutica novedosa y específica capaz de inducir apoptosis en células T neoplásicas. Los supernatígenos (Sags), moléculas de origen viral o bacteriano tienen la capacidad de unirse al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en un sitio diferente al del antígeno convencional, para luego unirse a sitios específicos del receptor del linfocito T (TCR), provocando la apoptosis de los mismos. Dada la toxicidad que pueden presentar los Sags bacterianos libres, la estrategia planteada utiliza células dendríticas (CDs) como transportadoras y presentadoras del ARNm de Sags. Metodológicamente, se logró estandarizar con éxito la obtención y purificación de ARNm de Sags, alcanzando altos rendimientos de concentración y pureza. La optimización de la transfección *in vitro* demostró una eficiencia máxima del 45-50% sin generar citotoxicidad intrínseca, conservando una viabilidad celular del 98% y manteniendo la integridad nuclear. Los ensayos biológicos en co-cultivos confirmaron que las CDs transfectadas indujeron una disminución selectiva y significativa de los linfocitos T que expresan la región reactiva V β 8, preservando estables a las poblaciones no reactivas como la V β 4. Esta reducción poblacional se verificó como muerte por apoptosis mediante el aumento en la marcación con Anexina V. Se concluye que la transfección de células dendríticas con ARNm de Sags podría plantearse como una nueva generación de vacunas terapéuticas de precisión. Una alternativa de vanguardia que logra erradicar selectivamente clones leucémicos por apoptosis.

III. Palabras clave

Linfomas

Leucemias

Superantígenos

Células Dendríticas

Apoptosis

IV. Abstrac (Resumen en inglés)

T-cell leukemias and lymphomas have poor outcomes after relapse. Conventional treatments often yield limited responses and cause severe systemic toxicity. This project aims to develop a novel therapeutic tool that induces apoptosis in neoplastic T cells. Superantigens (Sags) from viruses or bacteria can bind the major histocompatibility complex (MHC) at a unique site and then attach to specific sites on the T-cell receptor (TCR), triggering apoptosis. Because free bacterial Sags can be toxic, this strategy uses dendritic cells (DCs) to deliver and present Sag mRNA. Sag mRNA extraction and purification were standardized, achieving high yields and purity. Optimized *in vitro* transfection reached 45-50% efficiency, preserved 98% cell viability, and maintained nuclear integrity. Biological assays in co-cultures showed that transfected DCs selectively decreased T lymphocytes expressing the reactive V β 8 region while keeping non-reactive populations, such as V β 4, stable. This reduction was confirmed as apoptotic cell death by increased Annexin V staining. Thus, dendritic cell transfection with Sag mRNA is proposed as a next-generation precision therapeutic vaccine, selectively eradicating leukemic clones by apoptosis.

V. Palabras clave en inglés.

Lymphomas,

Leukemias,

Superantigens

Dendritic Cells,

Apoptosis.

VI. Introducción:

Linfomas/leucemias

La leucemia representa aproximadamente el 2,5% de la incidencia mundial de cáncer y contribuye de manera significativa a la mortalidad neoplásica global (1). En particular, las leucemias y los linfomas de células T presentan pronósticos muy desfavorables en casos de recaída, con tasas de supervivencia inferiores al 30% en niños y al 10% en adultos.(2).

Los tratamientos actuales, incluyendo inhibidores de tirosina kinasa o la quimioterapia, suelen asociarse a una toxicidad sistémica severa, como mielosupresión y neurotoxicidad, y no resultan efectivos de manera sostenida en todos los pacientes (3). Asimismo, la terapia citotóxica, como romideosin (bloqueante de la histona desacetilasa) (4), fludarabina (análogos de nucleosidos de purinas) (5), y bortezomib (inhibición de la actividad del proteosoma 26S) (6) se asocian no sólo a respuestas terapéuticas limitadas, sino también a efectos adversos sustanciales (7,8).

Un rasgo central en la patogénesis de estas neoplasias es la desregulación de la maquinaria apoptótica. Las células malignas evaden la muerte celular mediante la alteración en las vías pro y anti-apoptóticas, lo que les confiere resistencia a los esquemas de tratamiento actuales, como la quimioterapia tradicional o los inhibidores de cinasas (9). En este contexto, el desarrollo de terapias capaces de inducir apoptosis de manera selectiva en clones neoplásicos representa un cambio de paradigma clínico. Estas estrategias buscan activar la muerte celular programada específicamente en células tumorales, minimizando la toxicidad sistémica y los efectos colaterales asociados a los tratamientos no dirigidos.

Las limitaciones terapéuticas actuales evidencian la necesidad de desarrollar abordajes más eficaces, selectivos y con mejores perfiles de seguridad. En este escenario, la inmunoterapia ha emergido como una alternativa de gran relevancia.

Superantígenos

Los Superantígenos (Sags) son proteínas bioactivas altamente potentes de origen bacteriano o viral (10). A diferencia de los antígenos convencionales, no necesitan procesamiento intracelular y se unen fuera del sitio de unión al antígeno convencional. Interactúan directamente con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II de las células presentadoras de antígenos y con regiones constantes de la cadena variable beta (V β) del receptor del linfocito T (TCR). Esta interacción provoca una intensa activación inicial seguida de apoptosis específica en

aquellas células T que expresan el dominio V β correspondiente. Estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado que los Sags pueden inducir apoptosis selectiva en células leucémicas tanto *in vitro* como *in vivo* (11), lo que los posiciona como herramientas promisorias para el desarrollo de terapias dirigidas.

Células dendríticas como plataformas vacunales

Con el objetivo de direccionar con mayor precisión las señales apoptóticas, la utilización de células dendríticas (CDs) como vehículos terapéuticos ha revolucionado la inmunoterapia antitumoral. Las CDs constituyen las células presentadoras de antígeno más eficientes del sistema inmunitario.

La estrategia de las denominadas "vacunas de células dendríticas" consiste en aislar estas células del paciente, modificarlas o cargarlas *ex vivo* con antígenos tumorales o moléculas efectoras, y reintroducirlas posteriormente para que actúen como vectores terapéuticos (12). En neoplasias hematológicas, estas plataformas ofrecen la ventaja de ser plataformas altamente personalizables con excelentes perfiles de seguridad, facilitando la inducción de respuestas dirigidas y promoviendo la eliminación de células leucémicas residuales (13).

En este marco, los Sags se perfilan como moléculas efectoras ideales para potenciar este tipo de vacunas/tratamientos. Dado que las CDs expresan altos niveles de MHC clase II, constituyen vectores altamente eficientes para presentar Sags al sistema inmunitario (14,15). La generación de vacunas basadas en CDs transfectadas con ARN mensajero de Sags —o fusionadas directamente con la proteína— permite la presentación dirigida del Sag al linfocitos T neoplásicos, induciendo apoptosis selectiva en la población leucémica reactiva y preservando el resto del microambiente inmunológico (11,16).

VII. Hipótesis y Objetivos

En diferentes especies, incluyendo al hombre, se ha observado que muchos linfomas T poseen un carácter mono u oligoclonal, en cuanto a la expresión de una región V β determinada. Planteamos entonces como **Hipótesis** que las células T neoplásicas humanas que expresan el receptor para el antígeno tienen la capacidad de responder a Sags, subyaciendo a una fuerte señalización que las llevaría a la muerte por apoptosis ofreciendo además la ventaja de no provocar efectos secundarios. A fin de avanzar en la elaboración de una propuesta terapéutica que no incluya la utilización de Sags bacterianos altamente tóxicos, y dado que los Sags virales no tóxicos poseen baja inmunogenicidad, ideamos una herramienta terapéutica antitumoral y específica para células T neoplásicas. La tecnología consiste en la utilización de CDs como molécula transportadora del ARNm de Sag hacia las células neoplásicas T. De esta manera la célula presentadora podría exponer luego este Sag junto con MHC para la unión específica con la región V β del TCR llevando las células neoplásicas a apoptosis.

La ventaja de esta tecnología consiste en la disminución de efectos secundarios, altamente específica para células T neoplásicas que sólo afectaría a unos pocos clones de linfocitos T normales, de fácil implementación y bajo costo.

El **Objetivo General** del proyecto es avanzar en la elaboración de una herramienta terapéutica novedosa y específica para células T neoplásicas. Esta tecnología se basa en la generación de vacunas con células dendríticas que transporten los mensajeros de Sags hacia las células neoplásicas. Esto permitiría la activación y posterior inducción de apoptosis de las células de linfomas/leucemias T.

Objetivos Específicos

Objetivo A: Generar construcciones plasmídicas con las secuencias de Sags y obtención del ARNm de las mismas.

Objetivo B: Puesta a punto de la transfección de CDs.

Objetivo C: Estudiar la modulación de la actividad de células dendríticas cargadas con los ARNm de Sags (CDs-Sag) para la vacunación terapéutica frente a líneas celulares de linfomas T murinos y humanos *in vitro*.

VIII. Metodología general

Obtención y amplificación de secuencias de ADN

Para la obtención de las secuencias de diferentes Sags, se transformaron bacterias (XL1 o BL21) con los plásmidos pGEM conteniendo secuencias de Sag14, Sag8 y Sag2. Las bacterias se crecieron y cultivaron en medio LB hasta alcanzar el crecimiento exponencial, para luego proceder con la técnica de purificación el ADN.

Purificación de ADN

Para la purificación del ADN plasmídico se empleó la técnica de lisis alcalina. Brevemente, las bacterias cultivadas fueron centrifugadas y el pellet se resuspendió en un buffer con ARNasa A para promover la degradación del ARN endógeno. Posteriormente, se realizó la lisis alcalina (buffer SDS y NaOH), desnaturalizando de las proteínas y del ADN genómico bacteriano.

La reacción fue neutralizada con solución de acetato de potasio, y luego se precipito el ADN genómico. Luego de una centrifugación a alta velocidad, el sobrenadante fue transferido a columnas de purificación con membrana de sílice. Luego de sucesivos lavados con soluciones a base de etanol para remover sales y posibles contaminantes, el ADN plasmídico de interés fue eluido utilizando agua libre de nucleasas. Las muestras purificadas fueron finalmente cuantificadas mediante espectrofotometría y almacenadas a -20°C hasta su posterior utilización.

Transfección celular

La transfección se realizó sobre cultivos celulares con de 50-70% confluencia. El reactivo de transfección utilizado fue PEI87K (polietilenimina), adquirido al Departamento de Química Orgánica, perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (prestación de servicio N°21463). El protocolo fue seguido de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, se preparan 2 mezclas: una solución de medio DMEM sin aditivos con la cantidad de PEI correspondiente, otra con el ADN a transfectar (pZ-Sag), diluidos en NaCl 0,15 M (Tabla 5).

Placa de cultivo	DMEM	PEI	ADN	NaCl 0,15 M
T75	750 μ l	35 μ l	5-20 μ g	85 μ l
T25	250 μ l	11,7 μ l	1,7-6,7 μ g	28,3 μ l
Placa de 6 wells	100 μ l	4,7 μ l	0,7-2,7 μ g	11,3 μ l
Placa de 12 wells	50 μ l	2,35 μ l	0,5-2 μ g	6 μ l
Placa de 24 wells	25 μ l	1,2 μ l	0,2-1 μ g	3 μ l

Tabla 5: Cantidades de cada reactivo para las mezclas de transfección.

Ambas soluciones se incuban 10 minutos a TA y luego se mezclan, vertiéndose finalmente sobre el monocapa celular. El reactivo con el medio se mantiene por el tiempo determinado para la expresión de cada plásmido.

Obtención de ARN

Para la obtención del ARNm del Sag, las muestras fueron homogeneizadas en reactivo Trizol. Tras la adición de cloroformo y posterior centrifugación (12.000 x g, 15 min, 4°C), se recuperó la fase acuosa superior que contiene el ARN. Éste fue precipitado mediante la adición de isopropanol e incubación a -80°C. Tras centrifugar nuevamente, el pellet de ARN resultante se lavó con etanol al 75% para eliminar impurezas, se secó al aire y se resuspendió en agua libre de nucleasas. Finalmente, se determinó la concentración y pureza del ARN (relaciones 260/280 nm y 260/230 nm) mediante espectrofotometría (Nanodrop), almacenando las muestras a -80°C hasta su utilización.

Análisis de viabilidad celular e integridad nuclear

Los análisis de viabilidad celular e integridad nuclear se realizaron mediante análisis por microscopía.

La viabilidad celular tras la transfección con el ARNm del Sag purificado se midió a las 24 y 48 horas empleando tinción con azul de tripano.

Para evaluar la integridad nuclear de las células transfectadas, se preparó una solución de colorante Hoechst (10 mg/mL, dilución 1:2000 en PBS) que se incubó con las células lavadas durante 5 a 10 minutos.

Ensayos de inducción de apoptosis en co-cultivos con VLPs

Se obtuvieron CDs y linfocitos a partir de ganglios linfáticos y bazos aislados de ratones BALB/c. Se generaron co-cultivos de linfocitos con CDs. Las subpoblaciones celulares se caracterizaron analíticamente mediante citometría de flujo, utilizando anticuerpos monoclonales específicos (anti-CD4 PE, CD8, y para las distintas regiones V β del TCR, como V β 8 y V β 4).

La inducción de apoptosis en las poblaciones T reactivas se cuantificó mediante la medición de los niveles de Anexina V por citometría de flujo tras 24 horas de tratamiento con el Sag.

Citometría de flujo

Las marcaciones se realizaron con anticuerpos monoclonales conjugados a los siguientes fluorocromos: fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE). Se utilizaron los siguientes anticuerpos de BD-Pharmingen (San Diego, CA, USA):

- a) Marcación de linfocitos T: anti-CD4 (PE).
- b) Marcación específica de TCR: anti-V β 8 (FITC)

Marcación de superficie: 1×10^6 células/ $1 \mu\text{l}$ de buffer de marcación (PBS, azida sódica 0,1% y SFB 3%) serán incubadas con $1 \mu\text{g}$ de anticuerpo durante 30-40 minutos, a 4°C y protegidas de la luz. Las células serán lavadas dos veces y fijadas con PBS- paraformaldehído 0,5%, conservándose a 4°C y en oscuridad hasta el momento de la adquisición.

Las muestras fueron adquiridas en un citómetro de flujo FACScan. Se utilizó el software CellQuest (BD Immunocytometry Systems) para el análisis de datos. Las células muertas se excluyeron basándose en los parámetros de tamaño (FSC) y complejidad (SSC) celular.

Análisis estadístico

Los niveles de significación estadística se determinaron utilizando la prueba t de Student o el análisis de varianza (ANOVA) seguido de las pruebas de Tukey. Los valores se expresaron como media \pm SE. Las diferencias se consideraban significativas cada vez que el valor p era ≤ 0.05 y un análisis de potencia del 95%.

IX. Resultados

Amplificación de secuencias de Sags virales

A partir de clonaciones previas se analizaron las secuencias de diferentes Sags, para esto las mismas fueron amplificadas para purificar los plásmidos que contienen las secuencias de correspondientes de Sags. Luego se realizó la purificación de ADN y se analizó la purificación de estos (Figura 1).

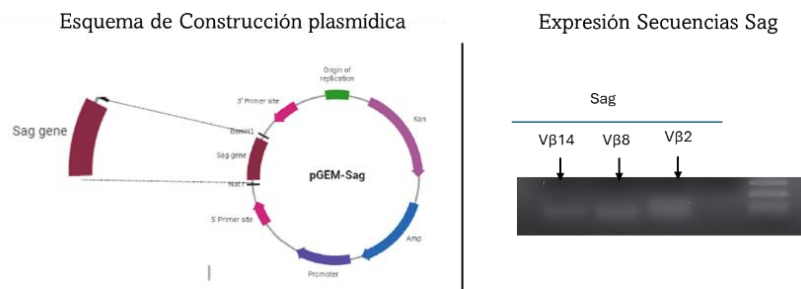


Figura 1: Esquema de la construcción de plásmidos conteniendo los diferentes Sags. Se muestra también la pureza en las secuencias obtenidos.

Cuantificación y pureza del ARNm de SAGs

La estandarización de las técnicas de purificación resultó altamente exitosa, logrando concentraciones óptimas para la posterior transfección. En primera instancia se buscó expresar en células eucariotas los plásmidos clonados con las secuencias de Sags. Para esto se siguió el protocolo esquematizado a continuación (Figura 2).

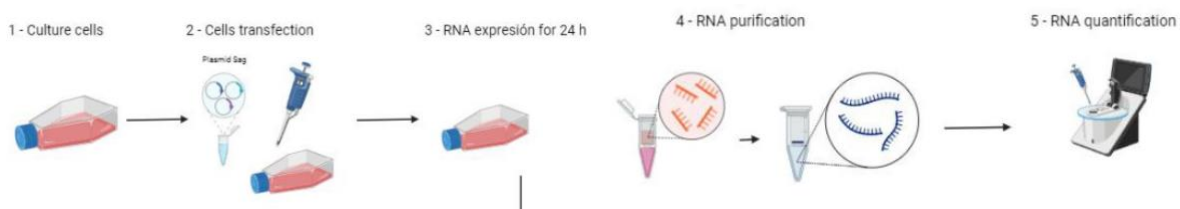


Figura 2: Esquema general para la transfección y purificación de ARNm.

El método de extracción por Trizol alcanzó un rendimiento de 4367,5 ng/μl.

El análisis de pureza del ARN obtenido por Trizol demostró valores excelentes: una relación 260/230 nm de 1,850 (superior al umbral de 1.8, indicando ausencia de contaminación por sales o fenoles) y una relación 260/280 nm de 2,003 (dentro del rango ideal de 2 a 2,2).

El método paralelo utilizando columnas de purificación también entregó resultados de alta calidad, con una concentración de 2575,5 ng/μl, una relación 260/230 nm de 1,820 y un 260/280 nm de 2,120. Ambos métodos confirmaron la obtención de muestras puras y viables para su expresión.

Estandarización de la transfección celular in vitro

Para determinar la eficiencia óptima, se testearon concentraciones escalonadas de ADN/ARN (0,2; 0,7 y 1,2 μg) en placas de 24 pocillos. La cuantificación del porcentaje de células transfectadas se realizó mediante microscopía de fluorescencia evaluando la expresión de la proteína GFP a las 24 y 48 horas post-transfección como se muestra en el esquema de la figura 3.

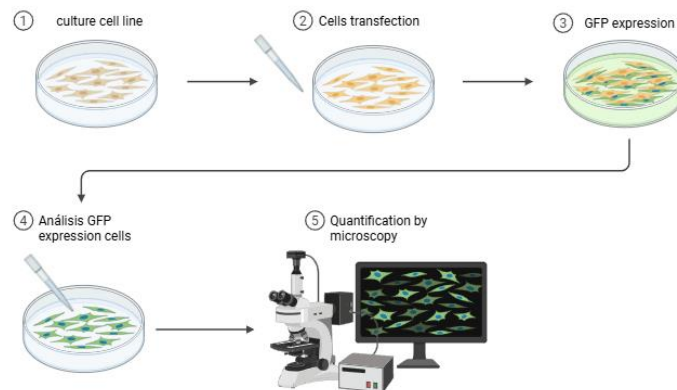


Figura 3: Esquema general para la estandarización de transfección in vitro.

La estandarización de la transfección con el plásmido GFP mostró que la eficiencia aumentaba con la concentración de secuencia de Sag, alcanzando un máximo de 45-50% con 0,7 μg y sin un incremento significativo al usar 1,2 μg, logrando entre un 20-30% de células transfectadas tanto a las 24hs (Figura 4) como a las 48hs (Figura 5) post transfección.

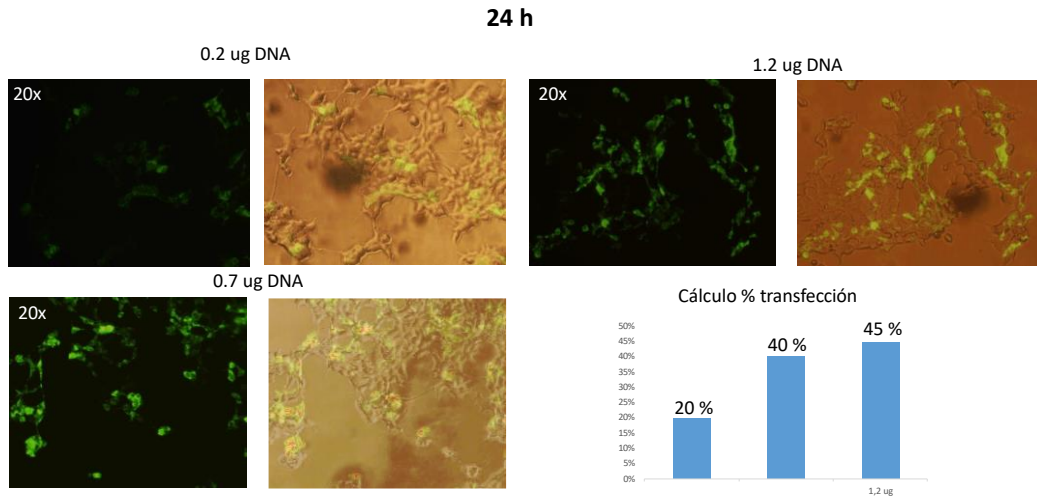


Figura 4: 24hs Post- transfección. Microscopia de fluorescencia mostrando células expresando la secuencia en verde sobre el total de células observadas por la microscopia de campo oscuro. Se muestra en el grafico de barras los % de transfección calculados.

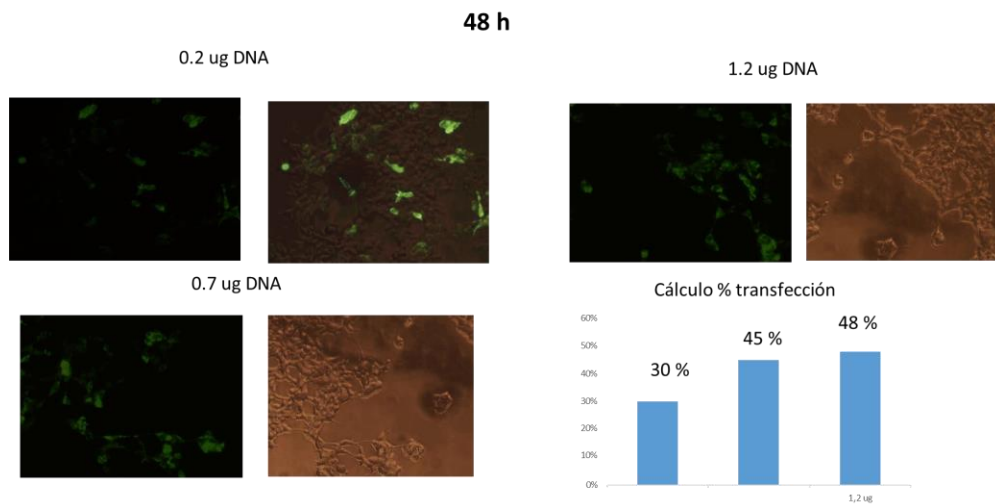


Figura 5: 48hs Post- transfección. Microscopia de fluorescencia mostrando células expresando la secuencia en verde sobre el total de células observadas por la microscopia de campo oscuro. Se muestra en el grafico de barras los % de transfección calculados.

Se determinó que 0,7 μg de ácido nucleico era la cantidad óptima para lograr el mayor número de células transfectadas.

Análisis de viabilidad e integridad de las células transfectadas

La evaluación temporal demostró que la transfección con la secuencia del Sag no es generadora de citotoxicidad celular, evidenciada por no comprometer la viabilidad celular de las muestras. Esto se demostró mediante el ensayo de azul de tripano, se registró una viabilidad celular del 98% a las 24 horas y del 97% a las 48 horas post-transfección (figura 6).

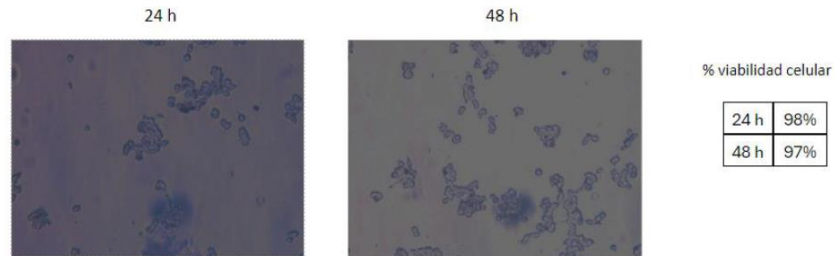


Figura 6: Microscopía mostrando la tinción la viabilidad celular.

Se analizó también la integridad nuclear por tinción con el colorante Hoechst y análisis por microscopía. Se demostró que la transfección no afecta la integridad celular medido a las 24 h y 48 h post transfección evidenciada por una morfología nuclear normal (figura 7).

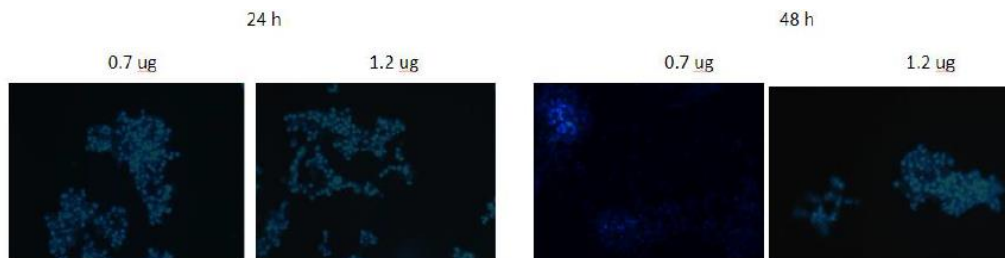


Figura 7: Microscopía mostrando la tinción de los núcleos celulares.

Análisis de expresión de Vβs de la población linfocitaria en ratones

Mediante citometría de flujo, se determinó el perfil de expresión de las regiones Vβ del TCR en los linfocitos de ratones BALB/c, identificando las subpoblaciones predominantes los cuales se muestran en la figura 8.

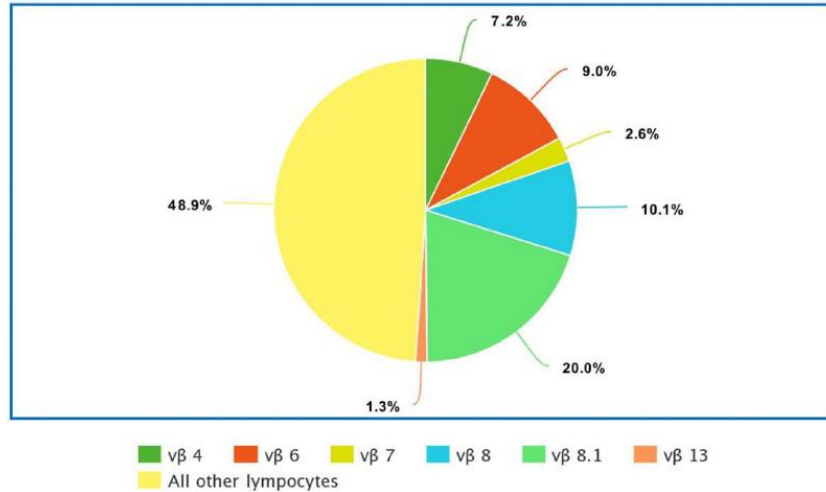


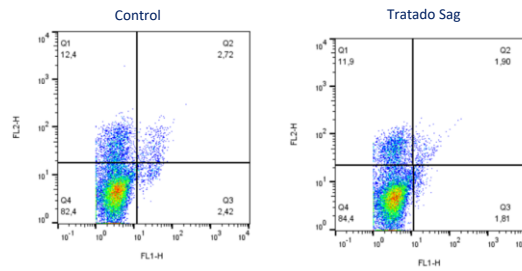
Figura 8: análisis de los porcentajes de expresión de las regiones Vβ en linfocitos T.

Inducción de apoptosis específica de linfocitos T

Se realizaron los primeros análisis de inducción de apoptosis de linfocitos, para esto se utilizó como tratamiento un Sag específico para la región Vβ8 del TCR.

Se observó una disminución significativa y selectiva del porcentaje de linfocitos T que expresan la región Vβ8 en comparación con poblaciones no reactivas. La expresión de Vβ8 disminuye cuando los linfocitos son co-cultivados con CDs que expresan EL Sag específico pasando de 2,72% a 1,90% de células que expresan el marcador, esto no se observa cuando se mide el porcentaje de linfocitos vβ4 cuando son tratados con el Sag (se mantiene en 3,4 y 3,1%) (figura 9).

Medición de V β 8



Medición de V β 4

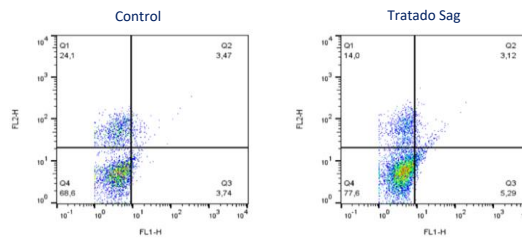


Figura 9: análisis de los porcentajes de expresión de las regiones V β 8 y V β 4 en linfocitos T luego del tratamiento Sag.

Adicionalmente, se confirmó un aumento en los niveles de Anexina V en las poblaciones de linfocitos T reactivas al Sag la cual aumentó de un 0.32% a un 1.37% de células (Figura 10).

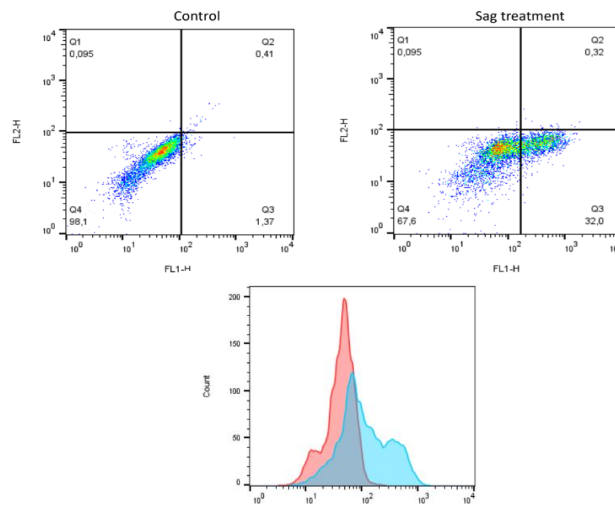


Figura 10: Medición de apoptosis por marcación con anexina V.

Estos resultados verifican que la reducción celular se debe a la inducción de apoptosis.

X. Conclusión y discusión

Los resultados obtenidos demuestran la estandarización exitosa de las técnicas para purificar ARNm de Sag, logrando rendimientos de alta concentración y excelente pureza, por diferentes métodos, además presenta relevancia clínica la demostración de ausencia de citotoxicidad intrínseca. La preservación de una viabilidad celular del 98% a las 24 horas y el mantenimiento de una morfología nuclear intacta confirman que los efectos apoptóticos detectados posteriormente dependen de la interacción específica del Sag expresado, y no de un daño inespecífico derivado del vehículo o la técnica.

Además, se demostró la capacidad de inducción de la muerte celular programada de manera altamente selectiva. Al co-cultivar linfocitos con CDs transfectadas que expresan un Sag específico para la región V β 8, se evidenció una disminución significativa de esta subpoblación reactiva. Este descenso poblacional se correlaciona directamente con la inducción de apoptosis, corroborada por el aumento en los niveles de Anexina V. Crucialmente, la especificidad del tratamiento queda demostrada al observar que los linfocitos no reactivos (como la población V β 4) no sufrieron alteraciones, manteniéndose estables.

La demostración de la alta especificidad del tratamiento representa una ventaja fundamental frente a los enfoques terapéuticos actualmente implementados para leucemias y linfomas T. Como se indicó en la introducción las terapias convencionales, suelen asociarse a una toxicidad sistémica severa y a respuestas limitadas debido a la capacidad de las células malignas de alterar sus vías apoptóticas para evadir la muerte. En contraste, la tecnología aquí planteada logra sobreponerse a esta resistencia forzando una señalización letal que afecta únicamente a los clones neoplásicos reactivos al Sag, preservando el resto del microambiente inmunológico.

El carácter innovador de este abordaje radica en la utilización de células dendríticas como vectores de transporte del ARNm de Sag. Dado que los Sags bacterianos libres presentan una toxicidad inaceptable para su uso sistémico directo, la modificación de las CDs permite aprovechar su inigualable capacidad presentadora de antígenos. Al presentar el Sag junto con el MHC a la región V β del TCR de forma controlada, las CDs actúan como una "vacuna" dirigida y segura. Se concluye que esta estrategia representa una alternativa terapéutica de fácil implementación y bajo costo, con un inmenso potencial para proporcionar una alta eficacia antitumoral minimizando los efectos secundarios en el tratamiento de linfomas y leucemias de células T.

Concluimos que la transfección de células dendríticas con ARNm de Sags da lugar a una nueva generación de vacunas terapéuticas de precisión; una alternativa de vanguardia que logra erradicar selectivamente clones leucémicos por apoptosis, superando de manera contundente la toxicidad sistémica y garantizando la bioseguridad del paciente.

XI. Agradecimientos

Primero quiero agradecer el constante apoyo institucional y soporte financiero al Instituto Universitario de Ciencias de la Salud - Fundación H.A. Barceló. Se reconoce también el vital financiamiento proveniente del proyecto PICT FONCYT.

XII. Bibliografía

1. Huang J, Chan SC, Ngai CH, Lok V, Zhang L. Disease Burden , Risk Factors , and Trends of Leukaemia : A Global Analysis. 2022;12(July):1–8.
2. Pui C, Sandlund JT, Pei D, Campana D, Rivera GK, Ribeiro RC, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia : results of Total Therapy Study XIIIIB at St Jude Children ' s Research Hospital. *Children*. 2004;104(9):2690–6.
3. Malard F, Mohty M. Acute lymphoblastic leukaemia. 2020;6736(19):1–31.
4. Manal M, Chandrasekar MJN, Gomathi Priya J, Nanjan MJ. Inhibitors of histone deacetylase as antitumor agents: A critical review. *Bioorg Chem*. 2016;67:18–42.
5. Lukenbill J, Kalaycio M. Fludarabine: A review of the clear benefits and potential harms. *Leuk Res*. 2013;37(9):986–94.
6. Lee SS, Jung SH, Ahn JS, Kim YK, Cho MS, Jung SY, et al. Pralatrexate in Combination with Bortezomib for Relapsed or Refractory Peripheral T Cell Lymphoma in 5 Elderly Patients. *J Korean Med Sci*. 2016;31(7):1160–3.
7. Duvic M, Tetzlaff MT, Gangar P, Clos AL, Sui D, Talpur R. Results of a phase II trial of brentuximab vedotin for CD30+ cutaneous T-cell lymphoma and lymphomatoid papulosis. *J Clin Oncol*. 2015;33(32):3759–65.
8. Buckstein R, Fraser G, Cheung M, Kukreti V, Kuruvilla J, Imrie K, et al. Alemtuzumab and CHOP Chemotherapy for the Treatment of Aggressive Histology Peripheral T Cell

- Lymphomas: A Multi-Center Phase I Study. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2016;16(1):18-28.e4.
9. Deng M, Shi Y, Chen K, Zhao H, Wang Y, Xie S, et al. CS2164 exerts an antitumor effect against human Non-Hodgkin's lymphomas in vitro and in vivo. *Exp Cell Res.* 2018;369(2):356–62.
 10. Tuffs S, Haeryfar S, McCormick J. Manipulation of Innate and Adaptive Immunity by Staphylococcal Superantigens. *Pathogens.* 2018;7(2):53.
 11. Duarte A, Montagna DR, Pastorini M, Alema M. Apoptosis-mediated inhibition of human T-cell acute lymphoblastic leukemia upon treatment with Staphylococcus Aureus enterotoxin-superantigen. 2023;(June):1–12.
 12. Sabado RL, Balan S, Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res.* 2016;27(1):74–95.
 13. Wang K, Wu D, Chen Z, Zhang X, Yang X, Yang CJ, et al. Inhibition of the superantigenic activities of Staphylococcal enterotoxin A by an aptamer antagonist. *Toxicon.* 2016;119:21–7.
 14. Kalinski P, Okada H. Polarized dendritic cells as cancer vaccines: Directing effector-type T cells to tumors. *Seminars in Immunology.* 2010.
 15. Nava S, Lisini D, Frigerio S, Bersano A. Dendritic Cells and Cancer Immunotherapy : The Adjuvant Effect. 2021;
 16. Mundiñano J, Berguer PM, Cabrera G, Lorenzo D, Nepomnaschy I, Piazzon I. Superantigens increase the survival of mice bearing T cell lymphomas by inducing apoptosis of neoplastic cells. *PLoS One.* 2010;5(12):1–11.