



FUNDACION H.A.BARCELO
FACULTAD DE MEDICINA

Instituto Universitario de Ciencias de la Salud
De la Fundación H. A. Barceló

**METANÁLISIS DE PROTEÍNAS EN LINFOMAS T PARA EL
APORTE DE DATOS EN VISTA DE UNA NUEVA PROPUESTA
TERAPEÚTICA**

Directora del proyecto: Dra. Alejandra Duarte

INFORME FINAL

Período: marzo 2015 – marzo 2017

C.A.B.A.

INDICE

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	5
3. Materiales y Métodos.....	8
3.1. Estrategia de búsqueda bibliográfica.....	8
3.2. Criterios de inclusión.....	8
3.3. Extracción de los datos.....	9
3.4. Análisis estadístico.....	9
4. Resultados.....	10
4.1. Expresión de V β en pacientes con linfoma T cutáneo.....	10
4.1.1. Meta-análisis de V β 5 en pacientes con linfoma T cutáneo.....	11
4.1.2. Análisis de la expresión de V β 5 comparación de los otros V β en pacientes con linfoma T cutáneo.....	13
4.2. Expresión de V β en pacientes con linfoma granular grande T.....	14
4.2.2. Meta-análisis de V β 3 en pacientes con linfoma granular grande T..	14
5. Discusión.....	17
6. Conclusión.....	20
7. Bibliografía.....	21

1. RESUMEN

Los linfomas son un grupo heterogéneo de enfermedades proliferativas malignas del tejido linfoide con origen celular, morfología, citogenética diferente. La clasificación de los linfomas continúa siendo motivo de controversia sin que hasta la fecha, se cuente con un esquema aceptado internacionalmente. La determinación del inmunofenotipo por citometría de flujo es una excelente herramienta para el diagnóstico, clasificación y monitoreo de los linfomas, demostrando poseer una alta precisión cuantitativa. Esta técnica permite analizar población de células T patológicas.

Los linfomas representan un 5,3% de todos los tipos de cáncer y corresponden al 56% de los cánceres de la sangre. Aunque el pronóstico de la enfermedad ha mejorado en los últimos años, los tratamientos siguen siendo poco satisfactorios. El desarrollo de técnicas de análisis genómico por técnicas de microarray ha facilitado la identificación de variantes patológicas dentro de los diferentes tipos de linfoma que ni a nivel morfológico ni de inmunohistoquímica básica era posible identificar. Los diferentes tipos genómicos sirven no solo de cara al pronóstico sino que facilita la identificación potencial dianas terapéuticas.

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 en la gran mayoría de sus células. No ha sido analizado hasta el momento la expresión de los diferentes genes V β del receptor apuntando al mismo posible blanco terapéutico. Es por esto que en este proyecto estudiamos la asociación entre la expresión de determinados ordenamientos de los diferentes V β con diferentes tipos de linfomas T. Se realizó una búsqueda bibliográfica para identificar estudios clínicos reportando análisis de expresión de diferentes V β en linfomas T. Mediante estudios de meta-análisis pudimos observar que para los linfomas cutáneos T podría tomarse como posible parámetro de diagnóstico y tratamiento el aumento en la expresión de V β 5 del TCR. Observamos también un aumento en la expresión de V β 3 analizando estudios de pacientes con Linfoma granular grande T.



Nuestros resultados, sumado trabajos en los cuales utilizan los segmentos V β como blanco para la inducción de apoptosis, permite aportar conocimientos para la implementación de diferentes herramientas terapéuticas planteando la posibilidad de generar vacunas dirigidas específicamente a este segmento o mediante inmunoterapia con células dendríticas. Estas herramientas permitirá tratamientos altamente específicos, que solo afectaría a unos pocos clones de linfocitos T normales.

2. INTRODUCCIÓN

Los linfomas son un grupo heterogéneo de enfermedades proliferativas malignas del tejido linfoide con origen celular, morfología, citogenética, conducta biológica y respuesta al tratamiento variables (Zutter & Hess, 1998). Tanto el linfoma de Hodgkin como los linfomas no Hodgkin (LNH) se originan en los tejidos linfoides y pueden diseminarse a otros tejidos, sobre todo los últimos y para todos, el pronóstico de supervivencia o curación depende de la variedad histológica (“National cancer institute sponsored study of classifications of non hodgkin’s lymphomas. Summary and description of a working formulation for clinical usage,” 1982). De ahí que el diagnóstico preciso y sobre todo su clasificación sean importantes además, por las siguientes razones: 1) anualmente aumenta el número de casos nuevos; 2) las características morfológicas y clínicas comunes ayudan al patólogo a reconocer las distintas variedades de linfoma; 3) el agrupamiento de los linfomas permite resaltar aspectos de su conducta biológica, relacionada a su vez con el pronóstico.

Los patólogos dependían únicamente de la morfología para nombrar y clasificar a los linfomas. A la fecha y desde hace muchos años, se utiliza el inmunofenotipo, el cual busca rearrreglos clonales no detectables por métodos citogenéticos habituales que pueden ser de los genes de los receptores de las células T. Este se volvió importante para determinar la naturaleza maligna de una proliferación linfoide y la variedad de linfoma a la que pertenece (Zutter & Hess, 1998)(Benharroch et al., 2012).

Existen diferentes clasificaciones entre ellas la clasificación o formula de trabajo, que pretende establecer conexiones entre las clasificaciones existentes estudiando la morfología únicamente con hematoxilina-eosina. La clasificación revisada europeo americana de los linfomas (REAL), que incluye el papel del inmunofenotipo y los datos clínicos en el diagnóstico. La última clasificación es la de Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual continúa con los principios de la REAL.

A pesar de los esfuerzos, la clasificación de los linfomas continúa siendo motivo de controversia sin que hasta la fecha, se cuente con un esquema aceptado internacionalmente.

El desarrollo del inmunofenotipo por citometría de flujo es una excelente herramienta para el diagnóstico, clasificación y monitoreo de los linfomas, demostrando poseer una alta precisión cuantitativa (Rawstron et al., 2007; Sausville et al., 2003). Esta técnica permite analizar población de células T patológicas.

Es sabido que el correcto desarrollo de los linfocitos T es un proceso altamente regulado y posee múltiples pasos de control (N. Zhang, Hartig, Dzhagalov, Draper, & He, 2005). El precursor T pasa por re-arreglos de la cadena beta (β) del receptor de células T (TCR). La región Variable (V) de la cadena β del TCR permite la diferenciación de 23 familias $V\beta$, dependiendo del re-arreglo que produzca en el timo. Normalmente en sangre podemos encontrar ciertas familias de $V\beta$ que predominan en el repertorio de células T ($V\beta 2$, $V\beta 4$, $V\beta 6$, $V\beta 13$) (Beck et al., 2003a). En eventos posteriores la selección es por estimulación e inducción de apoptosis sobre secuencias específicas de $V\beta$ (N. Zhang et al., 2005). Esta selección es dada por proteínas de origen bacteriano o viral denominadas superantígenos (sags), lo que modifica el repertorio de estos $V\beta$ en las células T periféricas (Choi et al., 1989).

Los linfomas representan un 5,3% de todos los tipos de cáncer y corresponden al 56% de los cánceres de la sangre (Y. Zhang, Xu, Liu, & Li, 2016). Aunque el pronóstico de la enfermedad ha mejorado en los últimos años los tratamientos siguen siendo poco satisfactorios. El desarrollo de técnicas de análisis genómico por técnicas de microarray ha facilitado la identificación de variantes patológicas dentro de los diferentes tipos de linfoma que ni a nivel morfológico ni de inmunohistoquímica básica era posible identificar. Los diferentes tipos genómicos sirven no solo de cara al pronóstico sino que facilita la identificación potencial de dianas terapéuticas (de Leval, Bisig, Thielen, Boniver, & Gaulard, 2009; Le Noir et al., 2012).

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 en la gran mayoría de sus células.

Es sabido que las células tumorales se alteran una variedad de mecanismos moleculares que aumentan su resistencia a la apoptosis (Cavallo, De Giovanni, Nanni, Forni, & Lollini, 2011; Hanahan & Weinberg, 2000). Han sido publicados ensayos pre-clínicos donde se determina que la exposición a sags bacterianos fue capaz de aumentar significativamente la sobrevivencia de ratones portadores de linfomas T (Mundiñano et al., 2010). Más aun, la expresión permanente de un sag viral indujo la remisión completa de un linfoma T sumamente agresivo en más del 90% de los ratones portadores de esta neoplasia (Mundiñano et al., 2010).

No ha sido analizado hasta el momento la expresión de los diferentes genes V β del receptor apuntando al mismo posible blanco terapéutico.

En base a los datos antes expuestos desarrollamos la hipótesis de que las células T neoplásicas que expresan el receptor para el antígeno conservan la capacidad de responder a sags pudiendo estos inducir apoptosis de estas células.

Es por esto que el objetivo general de este proyecto fue estudiar la asociación entre la expresión de determinados ordenamientos de los diferentes V β con diferentes tipos de linfomas T. El estudio es, mediante meta-análisis, a partir del estado de conocimiento actual tomado de los datos publicados en bases del NIH y trabajos publicados en revistas científicas nacionales e internacionales.

Estos estudios permiten abrir una puerta a futuro para el estudio de la inducción de apoptosis en líneas celulares de linfomas T luego del tratamiento con sags específicos para estas células. Pudiendo ampliar el estudio para la implementación de una herramienta terapéutica antitumoral novedosa, altamente específica para células T neoplásicas.

3. MATERIALES Y METODOS

Tipo de investigación: Proyecto tipo I

Período: 2015-2017

Ámbito del estudio: El proyecto se desarrolló en la sede de Buenos Aires-Capital Federal.

Universo de estudio: Trabajos publicados en bases de datos de pacientes con linfomas T en los cuales se les realizó un análisis de la expresión de V β del TCR.

Materiales y Métodos:

3.1. Estrategia de búsqueda bibliográfica:

Se realizó una búsqueda bibliográfica para identificar estudios clínicos reportando análisis de expresión de diferentes V β en linfomas T definidos de acuerdo con la clasificación de la OMS de 2008.

Se buscó en MEDLINE (PubMed) los estudios publicados y se realizaron búsquedas manuales de bibliografías de revisiones sistemáticas.

Se seleccionaron títulos de publicaciones y resúmenes para identificar estudios clínicos de expresión de V β . No hubo restricciones en cuanto al diseño o tratamiento del estudio, aunque los ensayos prospectivos fueron seleccionados preferentemente.

3.2. Criterios de inclusión:

Los criterios de inclusión son los siguientes: (1) caso-control o estudio de cohorte publicado como un original estudiar; (2) la exposición de interés fue expresión de V β ; (3) riesgo relativo (RR) con intervalo de confianza del 95% (IC).

Diferentes investigadores registraron y revisaron todos los estudios identificados independientemente.

3.3. Extracción de los datos:

La siguiente información fue extraída de cada estudio por dos investigadores independientemente:

El nombre del primer autor, el año de publicación, el tamaño de la muestra y el número de caso que presentan la expresión de los diferentes $V\beta$ estudiados en cada trabajo. Presentamos todos los resultados como RR por simplicidad) con IC del 95%.

3.4. Análisis estadístico:

El análisis estadístico se basó en tres estrategias generales: 1) Promediar los resultados a través de los estudios; 2) Evaluación de la heterogeneidad de los resultados, y 3) para el caso de que se confirme que los resultados son heterogéneos, explicar tal heterogeneidad en función de las características diferenciales de los estudios integrados.

Los datos se analizaron con los estadísticos de forest plot, correlación lineal de Pearson, estadístico de DerSimonian y Laird, y el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis.

4. RESULTADOS

4.1. Expresión de V β en pacientes con linfoma T cutáneo

Para el desarrollo del trabajo se realizó una compilación de datos de trabajos publicados donde se analizaron la expresión de V β del TCR en pacientes diagnosticados con linfomas/leucemias T.

De acuerdo a la clasificación de la OMS (2008) y en base a la cantidad de trabajos encontrados en la búsqueda bibliográfica se comenzó analizando la expresión de V β en el linfoma T cutáneo.

Se analizaron 10 trabajos con un total de 1044 pacientes. Entre todos estos pacientes se midieron la expresión de 24 tipos diferentes de V β . Los datos fueron agrupados como se muestra en la tabla 1.

paper	Año de publicación	n	Vbeta analizados																						
			1	2	3	4	5	6	7	8	12	13	14	17	18	20	21	22	23						
Enrico Scala	2015	533	0	210	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Natalia Potoczna	2006	84	0	0	0	0	7	1	0	7	1	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0		
Eric C Vonderheid	2005	36	1	0	3	0	14	2	1	2	3	3	1	0	1	1	1	1	1	2	0	0	0		
literatura adicional		136	0	0	0	0	30	0	0	15	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Linnemann T	2004	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Enrico Scala	2010	149	0	8	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Suzanne Morgan	2006	15	0	3	1	0	1	1	0	0	1	2	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0		
Rose Beck	2003	43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0		
Prashant Tembnare	2011	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0		
clotilde Jackow	1997	42	0	9	0	29	4	7	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
TOTAL		1044	1	230	4	29	67	11	1	33	5	28	2	4	8	4	3	3	2						

Tabla 1: datos tomados de los trabajos analizados.

Luego un análisis de todos los V β mediante un estudio de *forest plot* se tomaron los datos que no se acercaban a un efecto nulo. El gráfico muestra el efecto producido en la medición de cada uno de los V β obtenidos de los diferentes trabajos. Se observó un aumento mayor en la expresión del V β 5 en comparación de los demás (Ver figura 1).

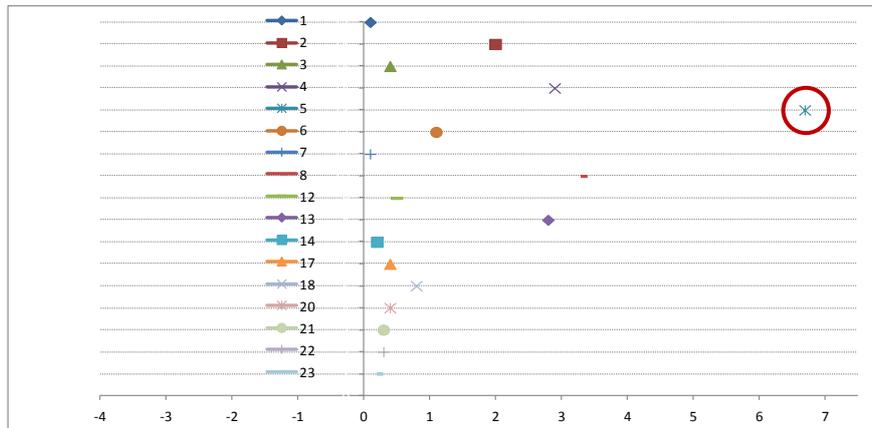


Figura 1: el eje vertical corresponde a un tamaño de efecto nulo, hacia la derecha del eje se muestran los niveles de expresión de los diferentes $V\beta$, los datos que se encuentran más alejados son los que demuestran una mayor expresión.

4.1.1. Meta-análisis de $V\beta 5$ en pacientes con linfoma T cutáneo

Se comenzó el estudio realizando un análisis de *Dersimonian y Laird's* de los datos de $V\beta 5$ obtenidos en los diferentes trabajos. Para esto se comenzó con la prueba de Ji-cuadrado (Q), dando la misma estadísticamente no significativa. También se analizó la heterogeneidad de los datos (ver tabla 2)

HETEROGENEIDAD

Prueba de heterogeneidad de Dersimonian y Laird's

Estadístico Q (Ji-cuadrado)	gl	Valor p
9,5636	8	0,2970

Estadísticos de heterogeneidad	Estimador
Varianza entre estudios	0,6474
Varianza intra-estudios	3,3061
Coeficiente RI	0,1638
(Prop. de varianza total debida a la varianza entre estudios)	
Coef. variación entre estudios	0,3006

Tabla 2: Análisis de Dersimonian y Laird's .

Este resultado indica que la expresión de los otros $V\beta$ no ejercen influencia sobre los observados de $V\beta 5$ (ver figura 2).

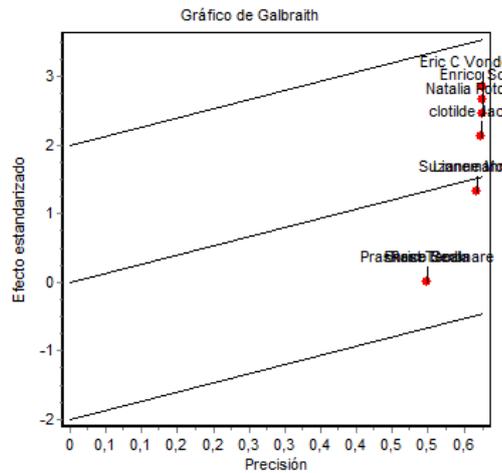


Figura 2: El gráfico de Galbraith muestra que existe una alta precisión en los datos analizados.

Se analizaron luego la influencia de los efectos fijos y aleatorios en el estudio, indicando que el aumento en la expresión de Vβ5 en los pacientes no se debe a efectos aleatorios. Los resultados pueden verse en el gráfico de Odds ratio (ver figura 3).

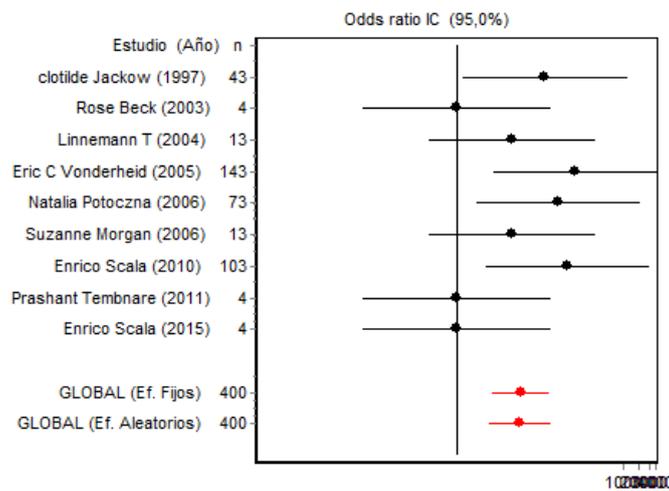


Figura 3: El gráfico de Odds ratio muestra que no existe influencia acumulativa de efectos aleatorios.

Se continuó con el análisis de sensibilidad, donde se estudió el efecto de cada uno de los estudios en la estimación global del efecto y por lo tanto la robustez del análisis. Al realizar la repetición de el meta-análisis tantas veces como estudios seleccionados, omitiendo cada vez un estudio combinándose todos los restantes dieron resultados similares demostrando que el efecto tiene una

misma dirección, magnitud y significación estadística. Esto permite concluir que los resultados son robustos (ver figura 4)

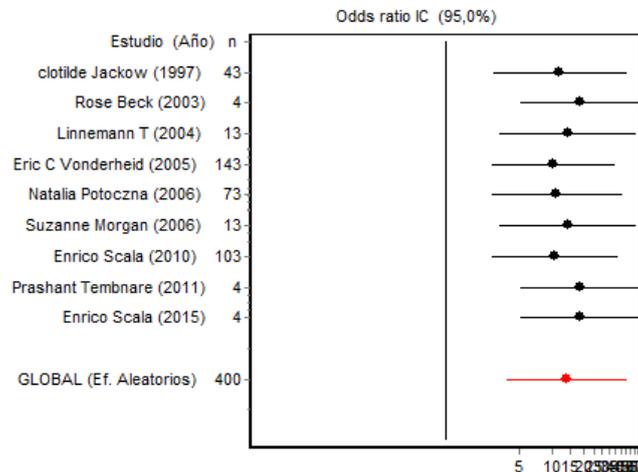


Figura 4: El gráfico de Odds ratio para sensibilidad muestra que no diferencias en los diferentes meta-análisis realizados.

Por último se analizó el sesgo de publicación de los resultados, mediante la prueba de Begg, dando la misma no significativa (p 0,2515).

4.1.2. Análisis de la expresión de V β 5: comparación de los otros V β en pacientes con linfoma T cutáneo

Los datos fueron analizados en conjunto por comparación no paramétrica mediante el estudio de Kruskal-Wallis. Los resultados mostraron una diferencia significativamente mayor en la expresión del V β 5 en comparación con los otros V β en pacientes con linfoma cutáneo T (p 0,0028). Se muestra la representación de los datos en la figura 5.

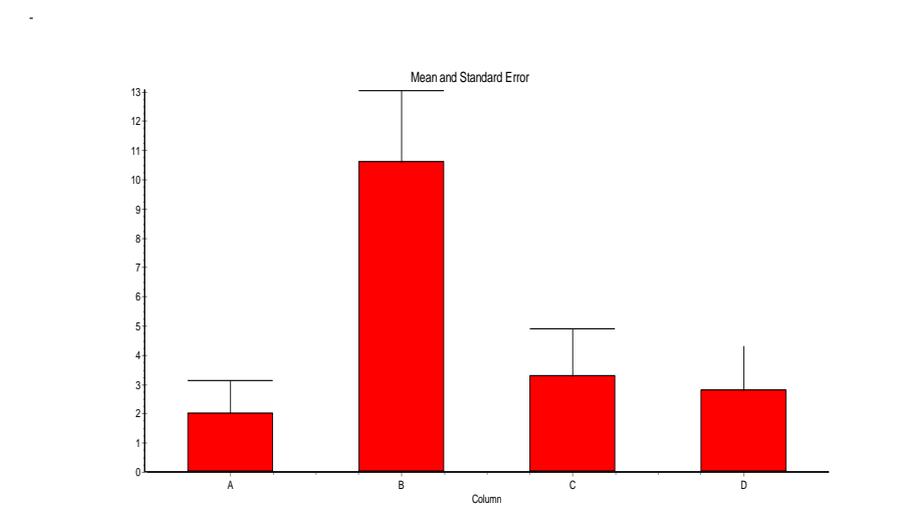


Figura 4: Análisis de Kruskal-Wallis. Donde A: expresión de Vβ2; B: expresión de Vβ5; C: expresión de Vβ8; D: expresión de Vβ13.

4.2. Expresión de Vβ en pacientes con linfoma granular grande T

Se analizaron 5 trabajos con un total de 154 pacientes. Entre todos estos pacientes se midieron la expresión de 20 tipos diferentes de Vβ. se observó mayor porcentaje de expresión del Vβ tipo 3 (Ver figura 5).

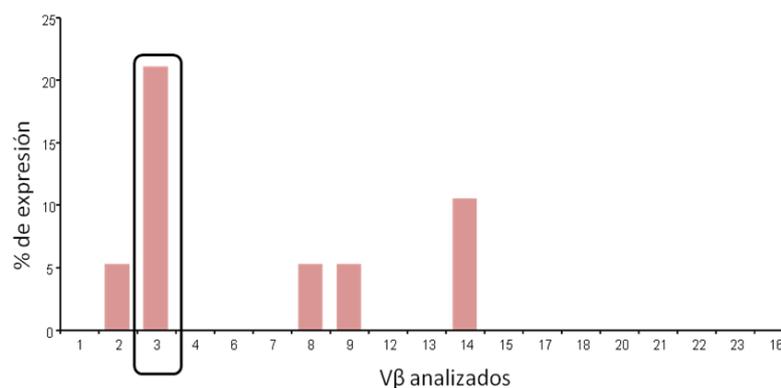


Figura 5: Expresión de diferentes Vβ en Linfoma granular T.

4.2.1. Meta-análisis de Vβ3 en pacientes con linfoma granular grande T

Se realizó un análisis de *Dersimonian y Laird's* de los datos de Vβ3 obtenidos en los diferentes trabajos. Se comenzó con la prueba de Ji-cuadrado (Q),

dando la misma estadísticamente no significativa. También se analizó la heterogeneidad de los datos (ver tabla 3).

HETEROGENEIDAD

Prueba de heterogeneidad de Dersimonian y Laird's

Estadístico Q (Ji-cuadrado)	gl	Valor p
1,5343	4	0,8205

Estadísticos de heterogeneidad	Estimador
Varianza entre estudios	0,0000
Varianza intra-estudios	1,0250
Coficiente RI	0,0000
(Prop. de varianza total debida a la varianza entre estudios)	
Coef. variación entre estudios	0,0000

Tabla 3: Análisis de Dersimonian y Laird's .

Este resultado indica que la expresión de los otros $V\beta$ no ejercen influencia sobre los observados de $V\beta_3$ (ver figura 6).

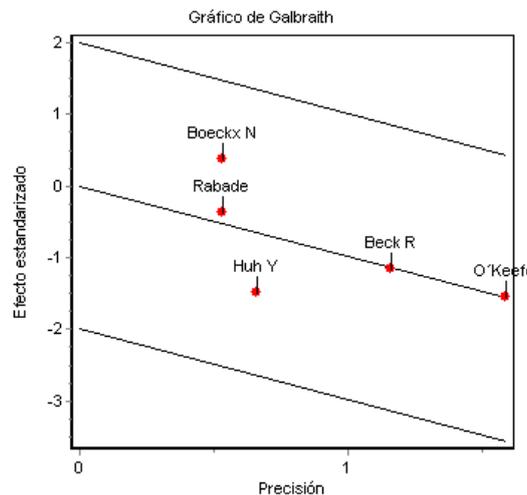


Figura 6: El gráfico de Galbraith muestra que existe una alta precisión en los datos analizados.

Se observó que puede existir una influencia de efectos aleatorios en el aumento en la expresión de $V\beta_3$ analizados por el gráfico de Odds ratio (ver figura 7).

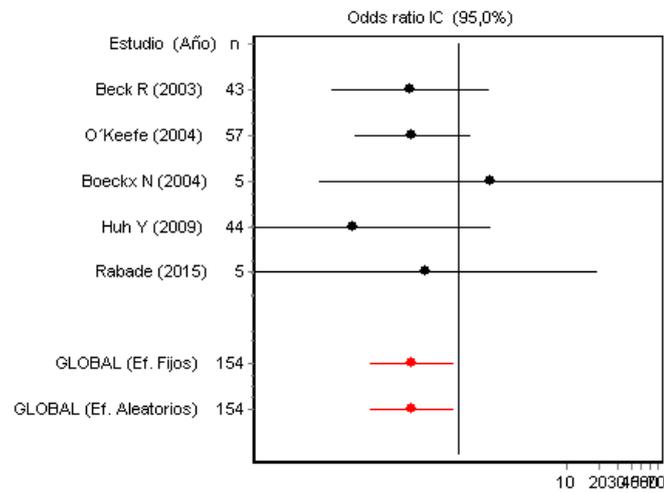


Figura 3: El gráfico de Odds ratio muestra que existe influencia acumulativa de efectos aleatorios.

Estos resultados pueden deberse a un número reducido de trabajos encontrados, para lo cual el análisis debe ser repetido aumentando el números de trabajos a analizar.

DISCUSIÓN

En la mayoría de los pacientes con sospecha de un desorden linfoproliferativo, la histo o citomorfología, suplementada con la inmunohistoquímica o el inmunofenotipo por citometría de flujo pueden discriminar un desarrollo maligno de uno reactivo. Sin embargo, existe un 5%-10% de los casos en los que el diagnóstico se torna más complicado y es en estos pacientes donde resulta de importancia el análisis molecular de clonalidad.

Los Linfomas granular grande (LGG) representan el 10-15% de las células mononucleares circulantes y morfológicamente se identifican por su tamaño grande (15-18 μ m), núcleo redondo o dentado. El fenotipo de estas células puede ser de linfocitos T citotóxicos (CD8+, CD57+) (Lamy & Loughran, 2011). Cuando la expansión de LGG es monoclonal y se asocia a infiltración de la médula ósea y el bazo por estas células, el cuadro recibe el nombre de leucemia de linfocitos grandes granulares (LLGG), y se considera un desorden linfoproliferativo crónico de bajo grado. El diagnóstico de LLGG se basa en el hallazgo de una expansión monoclonal de LGG en sangre periférica y médula ósea con un inmunofenotipo característico (CD3+, CD4-, CD8+, CD16+, CD28- y CD57+). La clonalidad se confirma mediante el estudio del reordenamiento del gen del TCR (Mohan & Maciejewski, 2009).

Los linfomas cutáneos de células T (CTCL) son expansiones clonales de células T asociadas a la piel que típicamente expresan el receptor de células T con un inmunofenotipo (TCR) $\alpha\beta$ + CD3+ CD4+ CD8- (Kim & Hoppe, 1999). Recientemente, la Sociedad Internacional de Linfomas Cutáneo (ISCL) ha propuesto 5 criterios hematológicos para definir el desarrollo de las leucemias de este tipo; los mismos incluyen, (1) un conteo de células Sézary de 1,0K por μ l ó más; (2) un incremento de las células T CD3+ CD4+ en sangre resultando en un aumento del ratio de CD4/CD8 de diez veces; (3) un aumento de células T con fenotipo aberrante; (4) Linfocitosis con una genética molecular que

evidencie un clon dominante de células T; y (5) anormalidades cromosómicas de clones T en sangre (Vonderheid et al., 2002).

Si bien en las últimas décadas, diferentes estudios han analizado las aberraciones genéticas presentes en pacientes con CTCL, el nivel de información sobre las mismas resulta muy escaso, no habiéndose identificado aún ninguna anomalía cromosómica recurrente ni un perfil molecular específico.

Adicionando a estos estudios, anticuerpos dirigidos contra las cadenas alfa (α) o beta (β) del TCR también han empezado a ser utilizadas clínicamente para la cuantificación de células T neoplásicas en sangre. A pesar del comienzo en la utilización de esta última técnica, la misma no se encuentra hasta el momento completamente estandarizada.

Los anticuerpos monoclonales comercialmente disponibles abarcan más del 80% del repertorio TCR V β (van den Beemd et al., 2000). Ahora es posible que algunos de estos anticuerpos marcados con diferentes cromóforos se mezclen entre sí y se utilicen para el cribado rápido de linfoproliferaciones de células T sospechosas e inmunodeficiencia (Beck et al., 2003b; Langerak et al., 2001; Lima et al., 2001).

En comparación con los estudios moleculares de reordenamiento del gen TCR, la evaluación por citometría de flujo del uso de la cadena V β permite la cuantificación directa y la inmunofenotípica caracterización de la familia V β del clon maligno. Después de la caracterización del clon maligno, también se puede utilizar el análisis de citometría de flujo V β para el seguimiento del tratamiento y clínico en un paciente en particular.

En el desarrollo de nuestro proyecto analizamos trabajos en los cuales se estudiaba la expresión de V β del TCR en pacientes con CTCL. Pudimos demostrar en base a un estudio de meta-análisis evaluando la expresión de los V β encontrados en mayor proporción en estos estudios que pacientes con CTCL poseen una mayor expresión de V β 5 en comparación con otros como V β 2, V β 8 y V β 13. En cuanto al estudio de los LGG pudimos observar una mayor expresión de V β 3 en estos pacientes, pero debido a que esta patología es de bajo grado, el bajo número de estudios que han podido ser analizados

por meta-análisis no terminan de ser concluyentes. Para finalizar este análisis debe incluirse un mayor número de casos con análisis de V β .

Las implicancias clínicas de los resultados de este trabajo sugieren que en CTCL el segmento V β 5 podría ser utilizado no solo como marcador de clasificación tumoral, sino que podría ser seleccionado como blanco para iniciar estudios inmunoterapéuticos.

El estudio para la posible utilización de segmentos V β como blanco terapéutico ha sido descrito en un trabajo donde se utilizaron superantígenos (sags) (Mundiñano et al., 2010). Los sags son proteínas de origen viral o bacteriano que, a diferencia de los antígenos convencionales, interactúan solo con los sitios constantes de las regiones variables (V β) de los receptores para el antígeno de linfocitos T (TCR) (Ivars, 2007; Piazzon et al., 1997). Se ha demostrado tanto, *in vivo* como *in vitro*, que luego de la interacción de los linfocitos T reactivos con Sags específicos se produce la muerte por apoptosis específica de las células reactivas (Mundiñano et al., 2010).

En ensayos pre-clínicos en ratones se vio que la expresión de Sags bacterianos fue capaz de aumentar la sobrevivencia de ratones portadores de linfomas T. Más aún, la expresión permanente de un Sag viral codificado por el Virus del Tumor Mamario Murino (MMTV) indujo la remisión completa de un linfoma T sumamente agresivo en más del 90% de los ratones portadores de esta neoplasia (Mundiñano et al., 2010).

Nuestros resultados, sumados trabajos en los cuales utilizan los segmentos V β como blanco para la inducción de apoptosis, permite aportar conocimientos para la implementación de diferentes herramientas terapéuticas planteando la posibilidad de generar vacunas dirigidas específicamente a este segmento o mediante inmunoterapia con células dendríticas. Estas herramientas permitirán tratamientos altamente específicos, que solo afectaría a unos pocos clones de linfocitos T normales.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo nos permiten concluir que para los linfomas cutáneos T podría tomarse como posible parámetro de diagnóstico y tratamiento el aumento en la expresión de V β 5 del TCR.

En cuanto al estudio de los LGG pudimos observar una mayor expresión de V β 3 en estos pacientes, pero debido a que esta patología es de bajo grado, el bajo número de estudios que han podido ser analizados por meta-análisis no terminan de ser concluyentes. Para finalizar este análisis debe incluirse un mayor número de casos con análisis de V β .

BIBLIOGRAFÍA

- Beck, R. C., Stahl, S., O'Keefe, C. L., Maciejewski, J. P., Theil, K. S., & Hsi, E. D. (2003a). Detection of Mature T-Cell Leukemias by Flow Cytometry Using Anti-T-Cell Receptor V?? Antibodies. *American Journal of Clinical Pathology*. <https://doi.org/10.1309/835B-04QX-GNNF-NRJU>
- Beck, R. C., Stahl, S., O'Keefe, C. L., Maciejewski, J. P., Theil, K. S., & Hsi, E. D. (2003b). Detection of Mature T-Cell Leukemias by Flow Cytometry Using Anti-T-Cell Receptor V?? Antibodies. *American Journal of Clinical Pathology*, 120(5), 785–794. <https://doi.org/10.1309/835B-04QX-GNNF-NRJU>
- Benharroch, D., Meguerian-bedoyan, Z., Lamant, L., Amin, C., Brugières, L., Haralambieva, E., ... Delsol, G. (2012). of Morphology, 91(6), 2076–2084.
- Cavallo, F., De Giovanni, C., Nanni, P., Forni, G., & Lollini, P. L. (2011). 2011: The immune hallmarks of cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 60(3), 319–326. <https://doi.org/10.1007/s00262-010-0968-0>
- Choi, Y. W., Kotzin, B., Herron, L., Callahan, J., Marrack, P. C., & Kappler, J. W. (1989). Interaction of Staphylococcus aureus toxin “superantigens” with human T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(22), 8941–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.22.8941>
- de Leval, L., Bisig, B., Thielen, C., Boniver, J., & Gaulard, P. (2009). Molecular classification of T-cell lymphomas. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 72(2), 125–143. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2009.01.002>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. <https://doi.org/10.1007/s00262-010-0968-0>
- Ivars, F. (2007). Superantigen-induced regulatory T cells in vivo. *Chemical Immunology and Allergy*, 93, 137–160. <https://doi.org/10.1159/0000100862>
- Kim, Y. H., & Hoppe, R. T. (1999). Mycosis fungoides and the Sezary syndrome. *Seminars in Oncology*, 26(3), 276–289.
- Lamy, T., & Loughran, T. P. (2011). How I treat LGL leukemia. *Blood*, 117(10), 2764–2774. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-296962>

- Langerak, a W., van Den Beemd, R., Wolvers-Tettero, I. L., Boor, P. P., van Lochem, E. G., Hooijkaas, H., & van Dongen, J. J. (2001). Molecular and flow cytometric analysis of the Vbeta repertoire for clonality assessment in mature TCRalpha beta T-cell proliferations. *Blood*, 98(1), 165–173. <https://doi.org/10.1182/blood.V98.1.165>
- Le Noir, S., Ben Abdelali, R., Lelorch, M., Bergeron, J., Sungalee, S., Payet-Bornet, D., ... Asnafi, V. (2012). Extensive molecular mapping of TCRalpha/delta- and TCRbeta-involved chromosomal translocations reveals distinct mechanisms of oncogene activation in T-ALL. *Blood*, 120(16), 3298–3309. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04-425488>
- Lima, M., Almeida, J., Santos, A. H., dos Anjos Teixeira, M., Alguero, M. C., Queirós, M. L., ... Orfão, A. (2001). Immunophenotypic analysis of the TCR-Vbeta repertoire in 98 persistent expansions of CD3(+)/TCR-alpha beta(+) large granular lymphocytes: utility in assessing clonality and insights into the pathogenesis of the disease. *The American Journal of Pathology*, 159(5), 1861–8. [https://doi.org/S0002-9440\(10\)63032-5](https://doi.org/S0002-9440(10)63032-5) [pii]
- Mohan, S. R., & Maciejewski, J. P. (2009). Diagnosis and therapy of neutropenia in large granular lymphocyte leukemia. *Current Opinion in Hematology*, 16(1), 27–34. <https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e32831c8407>
- Mundiñano, J., Berguer, P. M., Cabrera, G., Lorenzo, D., Nepomnaschy, I., & Piazzon, I. (2010). Superantigens increase the survival of mice bearing T cell lymphomas by inducing apoptosis of neoplastic cells. *PLoS ONE*, 5(12), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015694>
- National cancer institute sponsored study of classifications of non-hodgkin's lymphomas. Summary and description of a working formulation for clinical usage. (1982). *Cancer*, 49(10), 2112–2135. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19820515\)49:10<2112::AID-CNCR2820491024>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19820515)49:10<2112::AID-CNCR2820491024>3.0.CO;2-2)
- Piazzon, I., Nepomnaschy, I., Buggiano, V., Bekinschtein, P., Goldman, A., Berguer, P., ... Lombardi, G. (1997). [Superantigens and murine mammary tumor retrovirus]. *Medicina*, 57 Suppl 2, 21–33.
- Rawstron, A. C., Villamor, N., Ritgen, M., Böttcher, S., Ghia, P., Zehnder, J. L.,

- ... Hillmen, P. (2007). International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia*, 956–964. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404584>
- Sausville, J. E., Salloum, R. G., Sorbara, L., Kingma, D. W., Raffeld, M., Kreitman, R. J., ... Stetler-Stevenson, M. (2003). Minimal residual disease detection in hairy cell leukemia. Comparison of flow cytometric immunophenotyping with clonal analysis using consensus primer polymerase chain reaction for the heavy chain gene. *American Journal of Clinical Pathology*, 119(2), 213–217. <https://doi.org/10.1309/G629-9513-NGLC-UB1K>
- van den Beemd, R., Boor, P. P., van Lochem, E. G., Hop, W. C., Langerak, A. W., Wolvers-Tettero, I. L., ... van Dongen, J. J. (2000). Flow cytometric analysis of the Vbeta repertoire in healthy controls. *Cytometry*, 40(4), 336–345.
- Vonderheid, E. C., Bernengo, M. G., Burg, G., Duvic, M., Heald, P., Laroche, L., ... Willemze, R. (2002). Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 46(1), 95–106.
- Zhang, N., Hartig, H., Dzhagalov, I., Draper, D., & He, Y. W. (2005). The role of apoptosis in the development and function of T lymphocytes. *Cell Res.*, 15(10), 749–769. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290345>
- Zhang, Y., Xu, W., Liu, H., & Li, J. (2016). Therapeutic options in peripheral T cell lymphoma. *Journal of Hematology & Oncology*, 9(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s13045-016-0267-0>
- Zutter, M. M., & Hess, J. L. (1998). Guidelines for the diagnosis of leukemia or lymphoma in children. *American Journal of Clinical Pathology*, 109(4 Suppl 1), S9-22.