

Expresión fenotípica de las moléculas CD5 y CD6 en la leucemia linfoide crónica B-CD5+

The B-CD5+ chronic lymphoid leukemia related to the phenotype expression

Lic. Bertha Beatriz Socarrás Ferrer^I; Lic. Lázaro O. del Valle Pérez^I; DraC. Consuelo Macías Abraham^I; Dra. Vianed Marsán Suárez^I; Dra. Miriam Sánchez Segura^I; Dra. Rosa María Lam^I; Lic. Ruby Alonso Ramírez^{II}; Dr. Enrique Montero Casimiro^{II} y DrC. Porfirio Hernández Ramírez^I

^I Instituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Centro de Inmunología Molecular. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Las moléculas CD5 y CD6 tienen función coestimuladora y muestran homología en su estructura. Se evaluó la expresión de la molécula CD6 mediante el uso del anticuerpo monoclonal anti-CD6 (T1) en el inmunofenotipaje celular de pacientes con leucemia linfoide crónica B y se comparó con la expresión de la molécula CD5. Los resultados demuestran una homología en la expresión fenotípica de ambas moléculas, CD5 y CD6, lo que asociado con que ambos receptores linfocitarios se encuentran físicamente vinculados, permite sugerir que la molécula CD6 constituye un marcador biológico de interés en la evaluación del pronóstico y la posibilidad de nuevas variantes terapéuticas en esta enfermedad.

Palabras clave: moléculas CD₅ y CD₆, LLC-B- CD₅⁺, citometría de flujo.

ABSTRACT

CD5 and CD6 molecules have a co-stimulant function and show homology in structure. We assessed CD6 molecule expression using anti-CD6 (T1) monoclonal antibody in the cellular immunophenotyping from patients presenting B chronic

lymphoid leukemia, and it was compared to CD5 molecule expression. Results show a homology in phenotype expression of both molecules (CD5 and CD6), what associated with the fact that both lymphocyte receptors are physically linked, allow to suggest that CD6 molecule is a interesting biological marker in prognosis assessment, and the possibility of new therapeutic variants in this disease.

Key words: CD₅ and CD₆ molecules, LLC-B- CD₅⁺, flow cytometry.

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfocítica crónica (LLC) se caracteriza por una proliferación monoclonal y acumulación de linfocitos pequeños de apariencia madura, en sangre periférica, médula ósea y tejidos linfoides.¹⁻³ El riesgo de desarrollar LLC aumenta progresivamente con la edad y es por lo general más frecuente en hombres que en mujeres.³ Es una enfermedad heterogénea con determinadas características citogenéticas, moleculares e inmunofenotípicas, y se ha observado que más del 95 % de los pacientes con LLC tienen el fenotipo B (LLC-B) y solo entre el 2-5 % de los casos se ha reportado el fenotipo T (LLC-T).^{4,5}

Las células leucémicas de la LLC-B tienen un patrón inmunofenotípico definido por expresión positiva de los antígenos específicos de células B, CD19, CD20, CD22; fuerte positividad del antígeno T CD5, aunque exista ausencia de otros marcadores T; expresan solo una cadena ligera de las inmunoglobulinas (κ o λ) y una baja densidad de inmunoglobulinas de superficie. Todos estos elementos son necesarios para un diagnóstico preciso de la LLC y su diferenciación de otros síndromes linfoproliferativos crónicos.^{1,5-8}

Diferentes investigaciones han demostrado que las moléculas CD5 y CD6 tienen función coestimuladora debido a su capacidad de incrementar los estímulos proliferativos inducidos por el receptor de células T (TCR).⁹⁻¹²

Estos receptores muestran homología en su estructura y en su patrón de expresión, por lo que consideramos de interés evaluar y comparar los niveles de expresión de ambas moléculas (CD5 y CD6) en pacientes con el diagnóstico de LLC-B-CD5⁺.

MÉTODOS

Se estudiaron 18 pacientes con el diagnóstico de LLC-B-CD5⁺ procedentes del Instituto de Hematología e Inmunología y del Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras" con edades comprendidas entre 55 y 80 años. Se utilizó como control un individuo supuestamente sano.

El estudio inmunofenotípico se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta con un panel de anticuerpos monoclonales (AcMo) específicos para antígenos expresados en linfocitos B y T. Para evaluar la expresión de la molécula CD6 se

utilizó el AcMo IOR-T1 de producción nacional. El análisis se realizó en la ventana de la población linfoide por citometría de flujo en un FaC Scan (*Becton Dickinson*, EE. UU.).¹³

El panel de AcMo empleados en el diagnóstico incluyó: anti-CD3(OKT3), anti-CD5(Cris1), específicos de células T; anti-CD19(B4) y anti-CD20(B1), específicos de células B (DAKO, Dinamarca) y el anti-CD6 (IOR-T1) (CIMAB, S.A.). Se evaluó la expresión de las moléculas CD3, CD19, la combinación de CD20 con CD19; CD6 con CD3 y CD19 y CD5 con CD3 y CD19. La lectura se realizó mediante la adquisición de 10 000 células en cada tubo. Cada marcador se consideró positivo si un porcentaje superior al 20 % de los linfocitos expresaba el antígeno.

Análisis estadístico

Para comparar las medias y desviaciones estándares de los porcentajes de expresión de las moléculas CD5 y CD6 en la membrana celular de los enfermos con LLC, se utilizó el estadígrafo t de Student para muestras independientes, con un nivel de significación de 0,05.

RESULTADOS

Nuestros resultados mostraron homología en la expresión fenotípica de ambas moléculas, CD5 y CD6, en los enfermos con LLC-B, CD5+, al comparar las mismas no se observó diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$), como se muestra en la [tabla](#). El patrón de expresión de la molécula CD6/CD19 en relación con CD5/CD19 en el donante sano fue también similar (2,9 % y 2,8 %, respectivamente), al igual que la expresión CD6/CD3 y CD5/CD3 (78,4 % y 73,4 %).

Tabla. Comparación de la expresión fenotípica de las moléculas CD5 y CD6 en células B y T en los enfermos con diagnóstico de LLC-B (n=18)

Células B X ± DE (%)	Células T		
CD6/CD19	45,67 ± 34,10	CD6/CD3	23,94 ± 20,88
CD5/ CD19	42,04 ± 32,87	CD5/CD3	28,5 ± 28,7
p= 0,74		p= 0,59	

DISCUSIÓN

La LLC es una enfermedad caracterizada por la acumulación progresiva de linfocitos B morfológicamente maduros, pero inmunológicamente incompetentes a nivel de sangre periférica, médula ósea y órganos linfoides. Este aumento clonal de células B es producto de una alteración en el balance entre la apoptosis o muerte celular programada y la proliferación celular que permite la acumulación progresiva de células LLC-B, CD5+.¹⁴ La regulación mediada por citocinas y la proliferación/apoptosis relacionada con genes y señales que involucran a moléculas co-receptoras como CD6 y CD40, son importantes factores en la regulación de este

balance.^{1,3} Bcl-2 está sobreexpresado en la mayoría de los pacientes con LLC-B, lo cual se relaciona con la prevención de la apoptosis y la interacción CD40/CD40L estimula la proliferación de estas células.

Las moléculas CD5 y CD6 son glicoproteínas de membrana tipo I que pertenecen al grupo B de la superfamilia de receptores con dominios ricos en cisteína tipo SF-SRCR.^{15,16} Están expresadas en linfocitos T maduros, timocitos medulares y en un subtipo de células B llamada B 1a, que se encuentra implicada en la producción de autoanticuerpos polirreactivos en enfermedades autoinmunes y en procesos linfoproliferativos como la LLC-B.¹⁷⁻¹⁹

La molécula CD6 se localiza en el cromosoma 11, en la región 11q13, contigua al gen CD5; existe una gran similitud en la organización de los dominios extracelulares de CD5 y CD6, lo cual sugiere que ambos genes evolucionaron a partir de la duplicación de un gen ancestral común.²⁰ Se ha demostrado que CD5 y CD6 se acumulan en la sinapsis inmunitaria durante la activación de los linfocitos T y existe unión física de estas moléculas al complejo CD3/TCR, lo cual sitúa a estas 2 proteínas en una posición óptima para modular la señalización mediada por el receptor de las células T y su participación en los procesos de activación.¹²

La asociación entre CD6 y el complejo CD3/TCR constituye una base física que corrobora la función co-estimuladora o accesoria de CD6 y lo convierte en un co-receptor capaz de modular las señales transmitidas durante la activación de la célula T. Esta molécula se puede asociar directamente y de forma independiente con CD5 o con el complejo CD3/TCR.²¹⁻²³ Diferentes investigaciones han demostrado que el CD5 también está implicado en la modulación de la activación y diferenciación de los linfocitos T y B y de diferentes señales, dependiendo del tipo celular analizado y su estado madurativo.

La asociación física de CD5 con el receptor antigénico de las células T (TCR) y B (BCR), así como con otros receptores co-estimuladores de la superficie celular, indica la capacidad de esta molécula de modular directamente las señales de ambos receptores y su influencia sobre la señalización de otros receptores asociados.¹²

La molécula CD6 se encuentra relacionada con la prevención de la apoptosis inducida por anti-IgM y se ha sugerido que esta molécula está implicada en la supervivencia de las células de la LLC-B a través de la regulación del radio Bcl-2/Bax. Las características combinadas del sistema Fas/FasL y las señales de supervivencia generadas de la interacción CD6/CD6L, puede contribuir a la acumulación de las células leucémicas y a la progresión de la enfermedad por disminución de la respuesta apoptótica.^{11,22}

Todo lo anteriormente expuesto y la homología en la expresión fenotípica de las moléculas CD6 y CD5 encontrada en nuestro trabajo, nos permite afirmar que estos 2 receptores pueden formar una unidad funcional compartiendo señales similares o complementarias,¹⁴ por lo que podemos considerar que el AcMo T1 anti-CD6 (CIMAB, S.A., Cuba) identifica y define un nuevo epítipo dentro de la molécula CD6, el cual tiene participación en los mecanismos de activación a través de las proteínas quinasas con la inducción de la síntesis de RNAm para la interleucina 2, y que desempeña un importante rol como receptor fisiológico de la célula T para la potenciación de la respuesta inmunitaria. La molécula CD6 constituye un marcador biológico de interés en el diagnóstico, evaluación del pronóstico e incluso como posible blanco terapéutico de los enfermos con LLC-CD5+.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández P. Leucemia linfocítica crónica. Aspectos clínicos y biológicos. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1999;15:7-20.
2. Korte W, Cogliatti S. Chronic lymphocytic leukemia the old and the new. Ther Umsch 2004;61:151-6 (Artículo en alemán).
3. Leportier M. Chronic lymphocytic leukaemia. Rev Prst 2004;54:359-67.
4. Cmunt E, Michalova K, Karban J, Zemanova Z, Sindelarova L, Bosakova Z, et al. Lymphocyte immunophenotyping and cytogenetics for more precise prognosis in patients with type chronic lymphatic leukaemia. Cas Lek Ces 2003;142:105-11.
5. Guillaume N, Alimardani G, Capiod JC, Claisse JF. Relevance of cytological and immunophenotypical analysis for the diagnosis of B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Ann Biol Clin 2002;60:673-81.
6. Lewis RE, Cruse JM, Pierce S, Lam J, Tadros Y. Surface and cytoplasmic immunoglobulin expression in B-cell chronic lymphocytic leukaemia CLL. Exp Mol Pathol 2005;79:146-50.
7. Schroers R, Pukrop T, Durig J, Haase D, Duhrsen U, Trumper L, et al. B-cell chronic lymphocytic leukemia with aberrant CD8 expression: Genetic and immunophenotypic analysis of prognosis factors. Leuk Lymphoma 2004;45:1677-81.
8. Sánchez M, Marsan V, Socarrás BB, Cos Y, Rivero R, M Martínez, et al. Caracterización inmunofenotípica de la leucemia linfocítica crónica B. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2007;27(2): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892007000200001&lng=es&nrm=iso
9. Faxas ME, Barros MC, Ortiz A, García C. Observaciones clínicas de la fase I como el anticuerpo monoclonal IOR-T1 en pacientes con linfomas T cutáneo. Rev Cubana Oncol 1999;15:36-42.
10. Arango MC, Faxas ME, Pérez Y, Camacho R. Citotoxicidad natural inducida por la activación de linfocitos T en pacientes con cáncer de mama. Rev Cubana Oncol 2002;41:5-10.
11. Osorio LM, García CA, Jondal M, Chow SC. The anti-CD6 mAb, IOR-T1, defined a new epitope on the human CD6 molecule that induces greater responsiveness in T cell receptor/ CD3 mediated T cell proliferation. Cell Immunol 1994;154:123-33.
12. Gimferrer I, Calvo M, Mittelbrum M, Farnós M, Sarrías MR, Enrich C, et al. Relevance of CD6-mediated interactions in T cell activation and proliferation. J Immunol 2004;173:2262-70.
13. Cavalcanti GB, Sale VS, Cavalcanti E, Silva DG, López MC, Paiva AD AD, et al. Detection of CD5 in B-cell chronic lymphoproliferative diseases by flow cytometry. A strong expression in B chronic lymphocytic leukaemia. Acta Cir Bras 2005;20(Supp 1):101-7.

14. Brossard C, Semichon M, Trautmann A, Bismuth G. CD5 Inhibits signalling at the immunological synapse without impairing its formation. *J Immunol* 2003;170:4623-6.
15. Hardy R, Hayakawa K. CD5 B cells, a fetal B cell lineage. *Adv Immunol* 1994;55:297-303.
16. Vila JM, Padilla O, Arman M, Gimferrer I, Lozano F. The scavenger receptor cysteine-rich superfamily (SCRC-SF). Structure and function of group B members. *Inmunología* 2000;19:105-10.
17. Mayer B, Funke I, Seed B, Riethmuller G, Weiss E. Expression of the CD6 T lymphocyte differentiation antigen in normal human brain. *J Neuroimmunol* 1990;29:193-7.
18. Hippen KL, Tze LE, Behrens TW. CD5 maintains tolerance in anergic B cells. *J Exp Med* 2000;191:883-6.
19. Lydyard PM, Jewell AP, Jamin C, Youinou Y. CD5 B cells and B-cell malignancies. *Curr Opin Hematol* 1999;6:30-7.
20. Bowen MA, Whitney GS, Neubauer M, Starling C, Palmer D, Zhang J, et al. Structure and chromosomal location of the human CD6 gene: Detection of five human CD6 isoforms. *J Immunol* 1997;158:1149-53.
21. Kobarg J, Whitney GS, Palmer D, Aruffo A, Bowen MA. Analysis of the tyrosine phosphorylation and calcium fluxing of human CD6 isoforms with different cytoplasmatic domains. *Eur J Immunol* 1997;27:2971-9.
22. Osorio LM, De Santiago A, Aguilar-Santelises M, Mellsted H, Jondal M. CD6 ligation modulates the Bcl-2/Bax ratio and protects chronic lymphocytic leukemia B cells from apoptosis induced by anti-IgM. *Blood* 1997;89:2833-8.
23. Hassan NJ, Barclay AN, Brown MH. Optimal T cell activation requires the engagement of CD6 and CD166. *Eur J Immunol* 2004;34:930-9.

Recibido: 12 de enero del 2009.

Aprobado: 20 de enero del 2009.

Lic. *Bertha Beatriz Socarrás Ferrer*. Instituto de Hematología e Inmunología.
Apartado 8070, Ciudad de La Habana, CP 10800, Cuba. e-mail:
ihidir@hemato.sld.cu