



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"
DR. ANTONIO FRAGA MOURET.**



***CANTIDAD DE LINFOCITOS T GAMMA DELTA EN PACIENTES CON
MIELOMA MULTIPLE DE RECIENTE DIAGNOSTICO Y DONADORES DE
BANCO DE SANGRE.***

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN

HEMATOLOGIA

PRESENTA:

DR. SERGIO IVAN CUIN MACEDO

ASESOR

DR. JORGE VELA OJEDA

MÉXICO, D.F. 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Jesús Arenas Osuna.
Jefe de División de Educación en Salud

Dr. Jorge Vela Ojeda.
Jefe del Servicio de Hematología y Profesor titular del curso de la UMAE
Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza”.

Dr. Sergio Iván Cuin Macedo
Residente de Tercer año de Hematología de la UMAE Hospital de
Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza”.

ÍNDICE	
Tema	Página
Caratula	1
Hoja de autorización de tesis	2
Índice	3
Resumen	4
Abstract	5
Introducción	6
Material y Métodos	9
Resultados	14
Discusión	15
Conclusiones	17
Bibliografía	18
Anexos	21

CANTIDAD DE LINFOCITOS T GAMMA DELTA EN PACIENTES CON MIELOMA MULTIPLE DE RECIENTE DIAGNOSTICO Y DONADORES DE BANCO DE SANGRE.

INTRODUCCION: El Mieloma Múltiple es la tercer neoplasia hematológica más frecuente en nuestro medio, Actualmente se conoce que la inmunovigilancia contra las neoplasias es deficiente permitiendo la proliferación de células neoplásicas, sin conocer aun el papel de los linfocitos T $\gamma\delta$ en la etiopatogenia de la enfermedad ni la cantidad de linfocitos t gamma delta en pacientes con mieloma múltiple.

OBJETIVO: Conocer la cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$ en pacientes con Mieloma Múltiple de reciente diagnóstico y donadores de banco de Sangre

MATERIAL Y METODOS: Es un estudio Analítico, observacional, ambispectivo comprendido de Nov 09 A Feb 2011 con los siguientes criterios de inclusión. Diagnóstico reciente de Mieloma Múltiple, expediente clínico completo, cualquier Genero. Edad 16 años o más. Criterios de No Inclusión: Otras neoplasias concomitantes. tratamiento de quimioterapia, VIH. Uso de inmunosupresores. Pacientes diagnosticados en otro nosocomio. Antecedente de uso de Bifosfonatos. Pacientes con enfermedades autoinmunes, Antecedente de uso de interferon o cualquier otro medicamento biológico; se realizo la cuantificación de linfocitos T $\gamma\delta$ mediante citometría de flujo empleando para el análisis estadístico t students así como frecuencias.

RESULTADOS: Se incluyeron 45 pacientes con mieloma múltiple edad promedio 54 años(DE13) y 50 donadores de banco sangre edad promedio39(DE10.6) con una media de Linfocitos T $\gamma\delta$ de 11 y 60(DE 14 y 36) respectivamente con una t de -8 y -9 (IC-60-37/-59-38) p0.0005 .

CONCLUSIONES: Los pacientes con Mieloma Múltiple tienen una menor cantidad de Linfocitos T gamma Delta diferencia significativa con los donadores de banco central de sangre.

PALABRA CLAVE: Linfocito T Gamma Delta.

QUANTITY OF Lymphocyte T GAMMA DELTA IN PATIENT WITH MULTIPLE MyELOMA OF RECENT DIAGNOSES AND DONORS OF BLOOD BANK.

INTRODUCTION: Multiple Myeloma is third hematologic malignancie more frequent in our means, At the moment it is known the absent of inmunosurveillance against the neoplasias allows the proliferation of neoplasics cells , without even knowing the paper of the lymphocyte T $\gamma\delta$ in the multiple myeloma illness neither the quantity of lymphocyte T $\gamma\delta$ in patient with multiple myeloma.

OBJECTIVE: know the quantity of lymphocyte T $\gamma\delta$ in patient with Multiple Mieloma of recent diagnosis and donors of Blood bank

MATERIAL AND METHODS: It is an Analytic, observational study, ambispectiv of Nov 09 TO Feb 2011 with the following inclusion approaches. Recent Diagnostic of Multiple Myeloma, complete clinical file. Age 16 years or more. Approaches of Non Inclusion: Other concomitant neoplasias. chemotherapy , HIV. Inmunosupresiv drugs Patients diagnosed in another hospital .use of Bifosfonatos , Antecedent of interferon use or any other biological drugs ; the lymphocyte quantification T $\gamma\delta$ was made by flow cytometry using for the statistical analysis t students as well as frequencies.

RESULTS: 45 patients were included with multiple myeloma age average 54 años(DE13) and 50 bank donors age average 39(DE10.6) with a stocking of Lymphocyte T $\gamma\delta$ of 11 and 60(DE 14 and 36) respectively with a t of -8 and -9 (IC-60-37/-59-38) p0.0005.

CONCLUSIONS: The patients with Multiple Myeloma have a smaller quantity of Linfocitos T gamma Delta than donors of central bank of blood.

KEY WORD: Lymphocyte T $\gamma\delta$

ANTECEDENTES CIENTIFICOS

Las enfermedades neoplásicas se han incrementado en frecuencia reportándose que en México el cáncer es la segunda causa de muerte, dentro de ellas. Encontrando Mieloma Múltiple como la tercer neoplasia hematológica más importante con una ocurrencia de tres casos por cada 100,000 habitantes x año. El mieloma múltiple representa 1% de todas las neoplasias y 10% de las neoplasias hematológicas(1).

El Mieloma Múltiple es un tipo de cáncer hematológico producto de la proliferación neoplásica de células plasmáticas que origina la acumulación y proliferación de estas células en la medula ósea y su posterior infiltración a otros tejidos(2), lo que altera la hematopoyesis produciendo síntomas y signos diversos que concluyen en una enfermedad de evolución mortal, produciendo más de 3992 defunciones anuales en EUA (1), con una tasa de mortalidad mundial de 5 casos por cada 100,000 habitantes a nivel mundial y en México 659 muertes por año(3).

Para el desarrollo de este padecimiento intervienen factores inherentes al huésped, a su medio ambiente y a la genética celular (2). Dentro de los primeros la inmunidad del huésped se encuentra comprometida(4); en donde los pacientes tienen una frecuencia mayor de infecciones de 0.80 a 2.22 por paciente por año, en donde los factores que intervienen en estos pacientes son disminución importante en la producción de inmunoglobulinas(4), así como incapacidad para efectuar una adecuada respuesta inmune así como alteraciones funcionales de las células efectoras(5), además de condicionar una menor respuesta frente procesos infecciosos(6)

Una de las subpoblaciones de linfocitos T, son los linfocitos $T_{\gamma\delta}$ que forman parte del componente natural de la inmunidad celular correspondiendo 1%-10% (7) de la población total de linfocitos, reconocidos mediante la activación del receptor de células T $\gamma\delta$ mediante citómetro de flujo.

La Función de los Linfocitos T $\gamma\delta$ se puede dividir en dos grandes grupos $\gamma 2$ que responde a procesos infecciosos o bien $\gamma 1$ que responde frente a neoplasias actividad no limitada a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, dependiendo pues su actividad de ligandos inducidos por estrés en las células tumorales,(8) , cerca del 70% de esta población de linfocitos T $\gamma\delta$ expresan $V2\gamma V\delta 2$ TCR que pueden ser activados por receptores semejantes a los bifosfonatos (10)

Los $LT\gamma\delta$ se han estudiado ampliamente en relación a su función inmunológica; sin embargo aún no está definido su papel con precisión. Entre otras cosas, se han considerado como células de “primera línea de defensa”, “células reguladoras” y “células de función intermedia entre inmunidad innata y adaptativa” (8)

Actualmente se considera que hay 2 subtipos de estos linfocitos:

1. Linfocitos T $V\gamma 9 V\delta 2+$: representan la mayoría de los linfocitos T $\gamma\delta$ de sangre periférica. Esta variedad de células juegan un papel muy importante en la defensa contra los patógenos intracelulares y neoplasias hematológicas . Se ha demostrado por estudios “in vitro” que estas células activadas son capaces de destruir líneas celulares de linfoma y mieloma.
2. Linfocitos T $V\delta 1+$: son más abundantes en los tejidos epiteliales, donde pueden actuar como primera línea de defensa contra infecciones y enfermedades malignas .

Un estudio reciente mostró que los $LT\gamma\delta V\gamma 9 V\delta 2+$ activados tienen función de células presentadoras de antígenos (CPA), aunque este estudio solo se enfocó a este subtipo de células y hace falta determinar si todas las variedades de $LT\gamma\delta$ tienen la misma capacidad de Células Presentadores de Antígenos o solo es esta variedad En otros estudios sobre la respuesta inflamatoria, se ha demostrado que los $LT\gamma\delta$ interaccionan con macrófagos, granulocitos y células dendríticas.

Estudios *in vitro e in vivo*, han demostrado que los compuestos aminobifosfonatos, tienen homología estructural con el ligando del TCR $\gamma\delta$, induciendo activación y proliferación de LT $\gamma\delta$ circulantes dependientes de IL-2 (11). Ante esta evidencia se ha sugerido que la expansión selectiva de las células T $\gamma\delta$ contribuye al efecto antitumoral documentado para estas drogas. En relación a este efecto, el subtipo celular V γ 9+ CD4- CD8- se expande eficientemente en sangre periférica, en presencia de zoledronato(11).

Un aspecto muy importante en estas células, es que se les atribuye efecto antitumoral. En relación a esto, algunos estudios han mostrado que los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden infiltrar tumores sólidos y exhibir una actividad lítica selectiva contra una variedad tumoral. Tanto las células T $\gamma\delta$ residentes como las circulantes, expresan un patrón de receptores distinto de quimiocinas el cual les permite extravasarse potencialmente y migrar hacia la matriz extracelular y atacar el sitio tumoral en respuesta al estímulo .

Además de la interacción con los Linfocitos NK, favoreciendo la activación de estos últimos y desencadenando la respuesta por citotoxicidad(8) frente a algunas neoplasias como linfoides (12) , Un efecto de los linfocitos T $\gamma\delta$ activados es conocido en otras neoplasias solidas como melanoma, cáncer de colon apoyando la teoría que la disminución sérica de estos (solo demostrada Ca de mama) puede tener significancia en la fisiopatogenia de las neoplasias y en el tratamiento(11-14); si bien hasta el momento se han reportado estudios invitro con medicamentos que incrementan la cantidad de linfocitos $\gamma\delta$ T como aminofosfonatos , (18) sugiriendo el papel de estas células en el mieloma múltiple, encontrando además ciertos fármacos como agentes alquilantes que pueden condicionar disminución cuantitativa de este subgrupo de linfocitos actualmente aun no está determinado si los linfocitos T $\gamma\delta$ se encuentran disminuidos en relación con individuos sanos o bien el papel que pueden llegar a tener en la respuesta al tratamiento como coadyuvante en respuesta celular frente a la neoplasia.

SUJETOS MATERIAL Y METODOS.

Características Del Lugar: Se realizara en el Servicio de hematología del Hospital de especialidades “Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza en donde se recibe una influencia de la zona norte del Distrito Federal así como el estado de México.

TIPO DE ESTUDIO

Estudio Analítico, observacional, ambispectivo

GRUPO DE ESTUDIO

Pacientes adultos con diagnóstico de Mieloma Múltiple de reciente diagnóstico tratados en el servicio de Hematología del HECMN-La Raza.

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

El investigador asociado reviso los expedientes clínicos y electrónicos de los sujetos que cumplieron los criterios de inclusión, no inclusión y exclusión. Busco la cifra reportada y se comprobo la fórmula para la obtención de Linfocitos T gamma delta obtenida mediante citometria de flujo en el analizador automático para biometría hemática modelo Cell Dyn 3000 marca Abbott la cantidad de leucocitos, linfocitos y monocitos por microlitro. Posteriormente se procedió a la tinción para los antígenos extracelulares con los anticuerpos monoclonales dirigidos contra CD19PerCP, CD3PerCP, CD4PerCP, CD8FITC, CD3FITC/C16+56PE, anti V α 24PE, V β 11FITC, TCR $\gamma\delta$ PE, (Becton Dickinson, Cal. EUA).

En una serie de tubos Falcon se colocaron 10^6 células / 100 μ L a los que se le adicionaron 20 μ L de anticuerpo deseado extracelular, se incubaron durante 20 minutos a 4 C en la oscuridad, posteriormente se adicionó solución de lisis diluida 1:10 (Becton Dickinson, Cal. EUA), se incubó por 10 minutos a 4 C en oscuridad, se lavo con solución salina isotónica (1500 rpm/10 minutos), y se resuspendió con 0.8 mL de solución salina isotónica en los tubos que contenían marcadores extracelulares

Se incubó durante 10 minutos en oscuridad a 4 °C, posteriormente se lavo con solución salina isotónica (1500 rpm/10 minutos) y se adicionó el anticuerpo dirigido contra

Posterior a esto se procedió a la adquisición de 20,000 eventos en el citómetro de flujo modelo "FACScalibur" utilizando el programa de "CellQuestPro", de cada uno de los tubos, eligiéndose la región linfocítica para el posterior análisis de CD3,CD4,CD8, CD19; TCR γδ, se adquirieron 500,000 eventos en el citómetro de flujo modelo "FACScalibur" utilizando el programa de "CellQuestPro",

Se obtuvieron los resultados de la región analizada para los diferentes marcadores monoclonales (anti – CD3 y anti TCR- γδ) en forma de porcentaje. Se calculó la cantidad de células que tuvieran los antígenos CD3 y TCR-γδ x 10⁶/L de la siguiente manera:

Con los porcentajes de cada una de las poblaciones celulares, se calculó el número de células expresado como 10⁶/L para la SPB y la SPM. En el caso de la muestra de aféresis, se calculó el número de células x 10⁶/Kg peso del paciente, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{CMN} \times 10^6 / \text{L} = \text{CMN} \times 10^6 / \mu\text{l}$$

$$\frac{\text{Lc} \times 10^6}{\text{L}} = \frac{\text{CMN}}{\text{L}} \times 10^6 \times \frac{\% \text{Lc}}{100}$$

$$\frac{\text{CD3+} \times 10^6}{\text{L}} = \frac{\text{CMN}}{\text{L}} \times 10^6 \times \frac{\% \text{CD3+}}{100}$$

$$\frac{\text{T} \gamma\delta+ \times 10^6}{\text{L}} = \frac{\text{CMN}}{\text{L}} \times 10^6 \times \frac{\% \text{CD3+}}{100} \times \frac{\% \text{T} \gamma\delta}{100}$$

$$\frac{\text{CD 34+} \times 10^6}{\text{L}} = \frac{(\text{CMN} \times 10^6 \times \% \text{CD34} \times \text{Vol}(\text{ml}))}{\text{peso del paciente (Kg)}}$$

Kg L 100

$$\frac{T_{\gamma\delta} + x10^6}{(Kg)} = \frac{CMN \times 10^6}{L} \times \frac{\%CD3+}{100} \times \frac{\%CT\gamma\delta}{100} \times Vol(ml) / \text{peso del paciente}$$

Kg L 100 100

CN = Leucocitos Lc= Linfocitos Vol = Volumen del concentrado de CMN
obtenido por proceso de aféresis.

CRITERIOS DE SELECCION

Criterios de Inclusión:

- Diagnóstico reciente de Mieloma Múltiple
- Contar con expediente clínico completo
- Genero: masculino ó femenino.
- Edad 16 años o más.
- ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) 0 – 4

Criterios de No Inclusión:

- Otras neoplasias concomitantes.
- Haber recibido tratamiento de quimioterapia .
- VIH.
- Uso de inmunosupresores.
- Pacientes diagnosticados en otro nosocomio.
- Antecedente de uso de Bifosfonatos.
- Pacientes con enfermedades autoinmunes asociadas
- Antecedente de uso de interferon o cualquier otro medicamento biológico

Criterios de Exclusión:

- Expediente incompleto

ANALISIS ESTADISTICO

Posteriormente se vaciaron los datos en la hoja de recolección utilizando la media , promedio y desviaciones estándar para establecer la relación de los pacientes con diagnostico de Mieloma Múltiple con la edad, distribución por genero tipo de mieloma y estadio clínico empleando el programa PSS para la obtención de t student con intervalos de confianza para comparar la cifra de linfocitos T y \bar{d} entre los dos grupos de estudio.

PERIODO DE REALIZACION:

Abril 2008 a Febrero 2011

RESULTADOS

Se ingresaron un total de 45 pacientes con diagnóstico reciente de mieloma múltiple en el periodo comprendido de abril 2008 a Febrero 2011, se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, no inclusión y exclusión. Se ingresaron a 22 Mujeres (49%) y 23 hombres (51%) con diagnóstico reciente de Mieloma Múltiple (tabla 1) con una media de edad de 54 años con una desviación estándar de 13 de los cuales

Las características de los 45 pacientes con diagnóstico reciente de Mieloma Múltiple expresan la inmunoglobulina Ig G 34 pacientes correspondiendo a 75%, Ig A 7 pacientes(15%) Enfermedad de cadenas ligeras 3 pacientes correspondiendo a 6%, No secretor de inmunoglobulinas 1(4%) (Tabla 2) en cuanto al estadio clínico de acuerdo a los criterios de Durie y Salmon en el momento del diagnóstico se encontró III a 43 pacientes (95%) I a 2 pacientes correspondiendo 5% (Tabla 3) en cuanto al daño renal B 21 pacientes(47%) A sin daño renal 24(53%) (tabla 4)

En cuanto a respuesta al tratamiento estándar en nuestro hospital se encontró que 22 pacientes alcanzaron la Respuesta Completa (48%) Respuesta Parcial 10 (22%) Refractario 8 (17%) Defunción 3 pacientes(6%) (Tabla 5)

El grupo de Donadores de Banco Central de Sangre 55 donadores 27 hombres(49%) Mujeres 28(51%) con una media de edad de 39 años con una desviación estándar de 10(Tabla 6)

La Media de Linfocitos T Gamma Delta fue de 11(DE 14) en el grupo de Mieloma Múltiple y de 60(36) en el grupo de donadores de Banco De sangre una T de -8 (IC -60 a -37) con una P de 0.000005 (Tabla 7)

DISCUSION

El Mieloma Múltiple es una neoplasia maligna de células plasmáticas que constituye aproximadamente el 10% de todas las neoplasias hematológicas²⁵. La edad de presentación promedio en nuestro estudio fue de 54 años, con 16.6% de los pacientes menores de 50 años, esta resultó menor que la reportada tanto en series grandes, como en la revisión de 1027 pacientes realizada por Kyle y colaboradores en donde la edad promedio fue de 66 años y 10% de los pacientes fueron menores de 50 años , así como en reportes con un menor número de pacientes como el de Jiménez que incluyó 50 pacientes, donde la edad promedio fue de 63 años con un rango de 45 a 83 años. Factores genéticos solos o en combinación con factores ambientales pueden explicar estas diferencias en la edad de presentación en pacientes mexicanos.

El tipo de Mieloma más frecuente fue IgG presente en poco más de la mitad de los pacientes coincidiendo con lo reportado en la mayoría de los estudios y el tipo IgA se reportó en 7%, en 6% se encontraron cadenas ligeras sin elevación de inmunoglobulinas, esto último contrasta con otras series en donde el reporte ha sido de 4%²⁶ y de 16% . en nuestro estudio se encuentra 4% de Mieloma Múltiple no secretor siendo la forma menos frecuente este si correspondiendo con lo reportado en la literatura mundial.

El estadio clínico IIIB fue el hallado en más de la mitad de los pacientes; en algunos estudios este reporte ha sido menor, de tan solo 14% y en otros el estadio clínico III fue hallado en 75% de los pacientes sin embargo la mayoría se encontró en IIIA, representando el IIIB tan solo 26.1% esta diferencia con nuestros hallazgos puede ser explicada debido a que los pacientes analizados fueron únicamente los hospitalizados, esto aunado a la práctica en la población latinoamericana, de acudir para su atención médica en etapas tardías de la enfermedad. Las tasas de respuesta completa documentadas son de 48 % , siendo mayores de lo reportadas en la literatura mundial.

En este estudio se demuestra también que pacientes con mieloma múltiple se encuentran disminuidos la cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$ como en pacientes con Ca de mama y Ca de colon sin embargo dentro de la metodología no es posible con los medios con los que contamos determinar cuál de las dos subpoblaciones de linfocitos T $\gamma\delta$ se midieron conociendo que la variante V γ 9 V δ 2 tienen mayor efecto antitumoral, siendo esto una de las debilidades del estudio, si bien contamos con un buen número de pacientes y no se encuentran perdidas los grupos de edad son diferentes con una media de 54 años en el grupo de pacientes y de 34 en el grupo de donadores, aunque actualmente no se conoce que exista una diferencia en cuanto a la cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$ relacionados con la edad

Un punto relevante que se encontró en nuestro estudio es que los pacientes que tienen menor cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$ tienen tasas de respuesta menores que los pacientes con mayor cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$ sin embargo el diseño del estudio no es el adecuado para aseverar que lo anterior es estadísticamente significativo abriendo la probabilidad de abrir nuevos protocolos de estudio.

Una vez que se ha comprobado que existe una diferencia significativa entre ambos grupos y el rol ya conocido de la actividad antineoplásica de los linfocitos T $\gamma\delta$ una de las estrategias terapéuticas que se pueden emplear es otorgar a todos los pacientes bifosfonatos como el Acido Zoledronico sin importar el grado de afección ósea por que ha documentado in vitro que estos medicamentos son análogos al receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ incrementando la cantidad de los mismos, sin embargo este es solo una efecto visto in vitro aun no comprobado en pacientes brindando la posibilidad de otro protocolo de investigación.

CONCLUSION

El Mieloma Múltiple es una de las neoplasias hematológicas más frecuentes en nuestro medio en este estudio de documenta que cuentan con una menor cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$ en relación con donadores de banco central de sangre brindando la oportunidad de adoptar estrategias terapéuticas que incrementen este subgrupo de linfocitos para mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Duque-Rodríguez. Epidemiología de las enfermedades hematológicas en el ámbito nacional. *Gac Méd Méx* 2002; 138 (1): 11-14.
2. Vela J. García R, Borbolla E, Mieloma Múltiple Ed Elsevier México 2006
3. Tirado y Mohar, Epidemiologia De Las Neoplasias Hemato-Oncologicas, *Cancerología* 2 (2007): 109-120
4. Wintrobe. *Clinical hematology*. 11ª edición. Lippincott Williams & Wilkins; USA, 2003.
5. Ian Mckay, Rosen Fred Et al *The immune System New Eng J Med*115;125-130
6. Williams. *Hematology*. 6ª edición. Mc Graw Hill; USA, 2001.
7. Wilhelm M, Kunzmann V, Eckstein S, et al. Gammadelta T cells for immune therapy of patients with lymphoid malignancies. *Blood*. 2003;102(1):200-206.
8. *Lawrence S. Lamb, Jr., Richard D. Lopez; γδ T Cells: A New Frontier for Immunotherapy; Biology of Blood and Marrow Transplantation* 11:161–168
9. Guangyong Peng, Helen Y. Wang, Weiyi Peng, Tumor-Infiltrating γδ T Cells Suppress T and Dendritic Cell Function via Mechanisms Controlled ; *Immunity* 27, 334–348, August 2007
10. Kuzman v, Bauner E, et al, Stimulation of γδ T cells by aminobisphosphonates of antiplasma cell activity in multiple myeloma , *Blood* 15 July 00, 96
11. Maniar A, Zhang X, et al Human γδ T lymphocytes induce robust NK cell-mediated antitumor cytotoxicity through CD137 , *Blood* sep 2010; 116

12. Hebbeler AM, Cairo C, Cummings JS, Pauza CD. Individual Vgamma2-Jgamma1.2_ T cells respond to both isopentenyl pyrophosphate and Daudi cell stimulation: generating tumor effectors with low molecular weight phosphoantigens. *Cancer Immunol Immunother.* 2007;56(6):
13. Dieli F, Vermijlen D, Fulfaro F, et al. Targeting human {gamma}delta} T cells with zoledronate and interleukin-2 for immunotherapy of hormonerefractory prostate cancer. *Cancer Res.* 2007; 67(15):
14. Corvaisier M, Moreau-Aubry A, Diez E, et al. V gamma 9V delta 2 T cell response to colon carcinoma cells. *J Immunol.* 2005;175(8):5481-5488.
15. Kabelitz D, Wesch D, Pitters E, Zoller M. Characterization of tumor reactivity of human V gamma 9V delta 2 gamma delta T cells in vitro and in SCID mice in vivo. *J Immunol.* 2004;173(11)
16. Bank I, Book M, Huszar M, Baram Y, Schnirer I, Brenner H. V delta 2_ gamma delta T lymphocytes are cytotoxic to the MCF 7 breast carcinoma cell line and can be detected among the T cells that infiltrate breast tumors. *Clin Immunol Immunopathol.* 1993;67(1):17-24.
17. Gao Y, Yang W, Pan M, et al. Gamma delta T cells provide an early source of interferon gamma in tumor immunity. *J Exp Med.* 2003;198(3): 433-442.
18. Das H, Wang L, Kamath A, et al, V gamma 2 delta T cell receptor recognition aminobisphosphonates *Blood* 2009 98;1616
19. Ferrick DA, Mulvania T, Ferlin differential production of interferon gamma in response TH1 and TH2stimulating pathogenesis by gamma delta T cells in vivo *Nature* 2001; 373.
20. Ferrarini M, Ferrero E, Dagna L, Poggi A and Zocchi MR . Human $\gamma\delta$ T cells: a nonredundant system in the immune-surveillance against cancer. *Trends Immunol* 2002: 23 (1): 14-18.

21. Malkovsky M, Fisch P, Wallace M, Sen A, Mejia G, Lewis MG, Lisziewicz J, Lori F and Poccia F. Gamma/delta T cells: From bench to bedside. Clin. Applied Immunol. Rev. 2003 : 235–245.
22. Sato K, Kimura S, Segawa H, Yokota A, Matsumoto S, Kuroda J, Nogawa M, Yuasa T, Kiyono Y, Wada H and Maekawa T. Cytotoxic effects of $\gamma\delta$ T cells expanded ex vivo by a third generation bisphosphonate for cancer immunotherapy. Int. J. Cancer 2005: 116; 94–99.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RZA"
DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Yo, _____
_____, doy mi consentimiento voluntario para participar en el proyecto de investigación "CUANTIFICACION DE LINFOCITOS T GAMMA DELTA EN PACIENTES CON MIELOMA MULTIPLE Y DONADORES DE BANCO DE SANGRE. ", que se me ha explicado que representa un riesgo mínimo para mi salud con la única molestia de dolor al momento de la toma de la muestra así como enrojecimiento probabilidad de infección conociendo que el beneficio de este estudio es conocer mejor mi enfermedad para mejorar mi calidad de vida además se que este estudio está registrado en el Comité Local de Investigación

2. Por lo anterior, autorizo el uso de información médica así como resultados de estudios de laboratorios realizados en el seguimiento y monitoreo de mi padecimiento.
3. Se que los responsables del proyecto me contestarán cualquier pregunta que pueda tener en relación al estudio .
4. Manifiesto que: SI () NO () me interesa conocer el resultado del estudio.
6. Mi firma en este documento manifiesta mi participación voluntaria, sin embargo, no libera a los investigadores, a la institución que los respalda, de su responsabilidad Ética, así como de la confidencialidad de los resultados dentro de los límites legales.
7. Es de mi conocimiento que para cualquier pregunta que tenga relacionada con el proyecto, podré acudir con el responsable del mismo, Dr Jorge Vela Ojeda MJSH Mat 7476302 o bien a Dr. Sergio Ivan Cuin Macedo Mat 99164700 , a quien puedo localizar en departamento de hematología del hospital de Especialidades "La Raza" o bien al teléfono 57245920
8. Autorizo además que los datos obtenidos en esta investigación se puedan emplear en investigaciones futuras y relacionadas.
9. Este convenio se firma por duplicado quedando original en ambas partes.

En México DF, a _____ de _____ de 200____ .

Nombre y Firma del Participante

Nombre y Firma del Testigo 1

Nombre y Firma del Testigo 2 .

Dr. Jorge Vela Ojeda MJSH Mat 7476302

Nombre	GEN	Edad	TIPO MM	EC	A/B	Respuesta
1	F	56	Ig G	III	A	RP
2	F	65	Ig G	III	B	RP
3	F	54	Ig G	III	B	Refractario
4	M	45	Ig G	III	A	RC
5	F	65	IgG	III	A	RP
6	M	34	Ig G	III	A	Refractario
7	F	56	I G	III	B	RP
8	F	35	Ig G	III	B	Refractario
9	F	71	Ig G	III	A	RC
10	M	45	Ig G	III	B	Refractario
11	M	67	Ig G	III	B	RC
12	F	85	IgG	III	B	Def
13	F	67	Ig G	III	B	RC
14	M	69	Ig A	III	B	Refractario
15	M	51	IgG	III	B	RC
16	M	38	Ig A	III	A	RC
17	F	71	Ig A	III	A	RC
18	M	38	Ig G	III	B	Refractario
19	M	54	Ig G	III	B	RC
20	F	69	Ig G	III	B	RC
21	F	52	Ig G	III	B	RC
22	F	65	Ig A	I	A	RP
23	F	68	Ig G	III	A	RP
24	M	66	Ig A	III	B	RP
25	F	61	ECL	III	A	Def
26	M	54	Ig G	III	A	RP
27	F	63	Ig G	I	A	RP
28	M	63	Ig A	III	B	Def
29	M	35	Ig G	III	A	Refractario
30	F	39	Ig G	III	B	Def
31	M	45	Ig G	III	A	RC
32	M	34	ECL	III	A	RC
33	M	55	Ig A	III	A	RC
34	F	69	NS	III	B	RC
35	F	69	Ig G	III	A	RC
36	M	68	Ig G	III	A	RC
37	M	60	IgG	III	A	RP
38	M	44	Ig G	III	A	RC
39	M	65	Ig G	III	A	RC
40	F	68	Ig G	III	B	Refractario

41	M	74	ECL	III	B	RC
42	M	81	Ig G	III	A	Def
Nombre	GEN	Edad	TIPO MM	EC	A/B	Respuesta
1	F	56	Ig G	III	A	RP
2	F	65	Ig G	III	B	RP
3	F	54	Ig G	III	B	Refractario
4	M	45	Ig G	III	A	RC
5	F	65	IgG	III	A	RP
6	M	34	Ig G	III	A	Refractario
7	F	56	I G	III	B	RP
8	F	35	Ig G	III	B	Refractario
9	F	71	Ig G	III	A	RC
10	M	45	Ig G	III	B	Refractario
11	M	67	Ig G	III	B	RC
12	F	85	IgG	III	B	Def
13	F	67	Ig G	III	B	RC
14	M	69	Ig A	III	B	Refractario
15	M	51	IgG	III	B	RC
16	M	38	Ig A	III	A	RC
17	F	71	Ig A	III	A	RC
18	M	38	Ig G	III	B	Refractario
19	M	54	Ig G	III	B	RC
20	F	69	Ig G	III	B	RC
21	F	52	Ig G	III	B	RC
22	F	65	Ig A	I	A	RP
23	F	68	Ig G	III	A	RP
24	M	66	Ig A	III	B	RP
25	F	61	ECL	III	A	Def
26	M	54	Ig G	III	A	RP
27	F	63	Ig G	I	A	RP
28	M	63	Ig A	III	B	Def
29	M	35	Ig G	III	A	Refractario
30	F	39	Ig G	III	B	Def
31	M	45	Ig G	III	A	RC
32	M	34	ECL	III	A	RC
33	M	55	Ig A	III	A	RC
34	F	69	NS	III	B	RC
35	F	69	Ig G	III	A	RC
36	M	68	Ig G	III	A	RC
37	M	60	IgG	III	A	RP
38	M	44	Ig G	III	A	RC
39	M	65	Ig G	III	A	RC
40	F	68	Ig G	III	B	Refractario
41	M	74	ECL	III	B	RC
42	M	81	Ig G	III	A	Def

TABLA 1

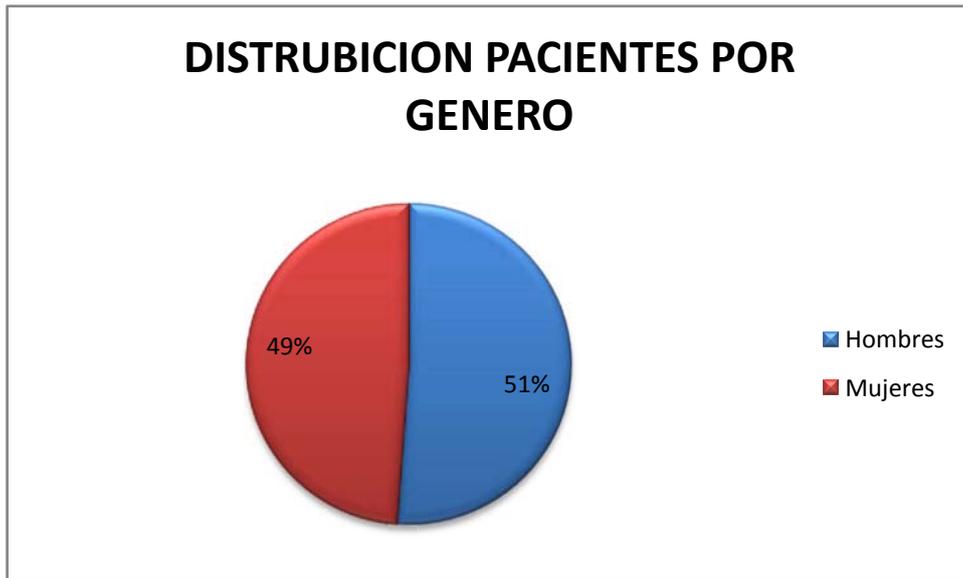


Tabla 2

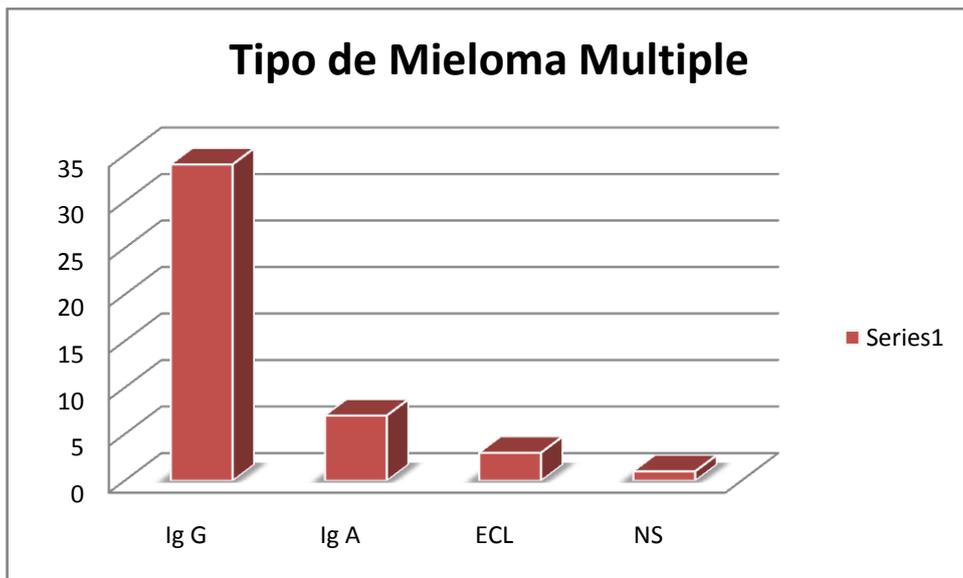


Tabla 3

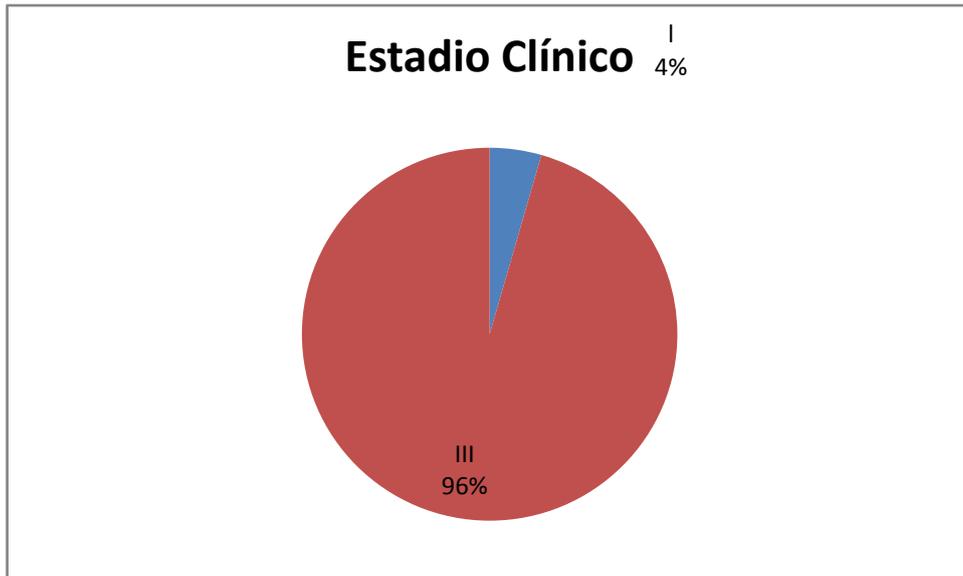


Tabla 4

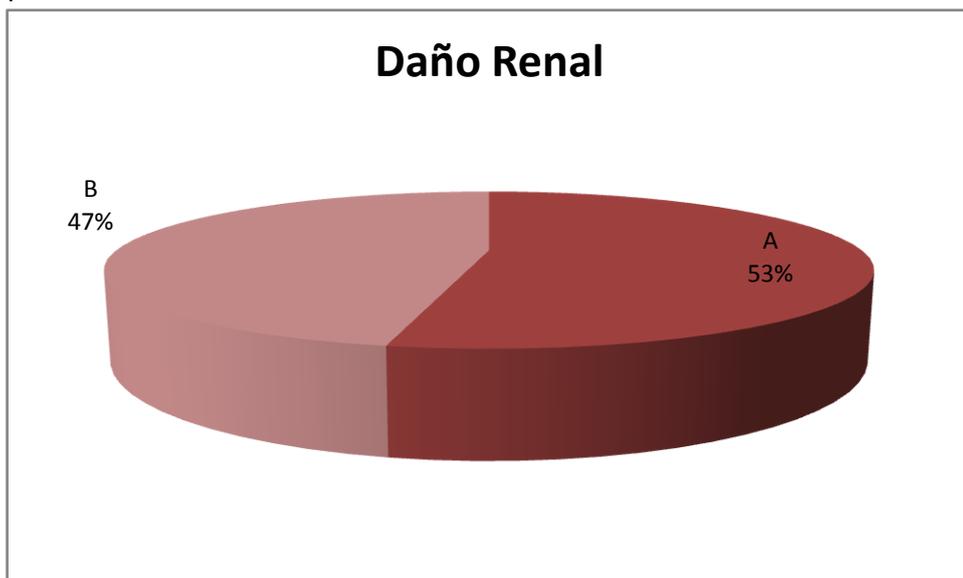


Tabla 5

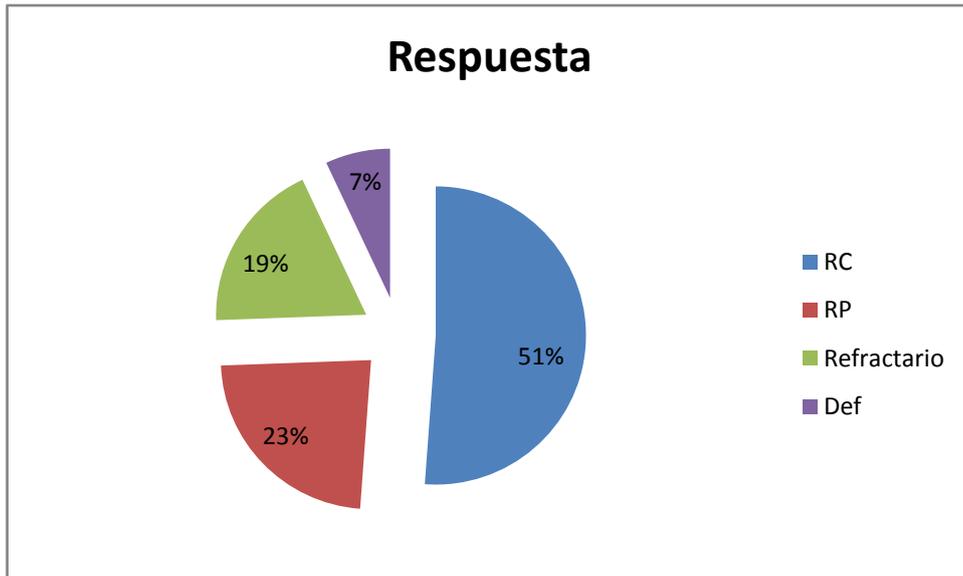


Tabla 5.1

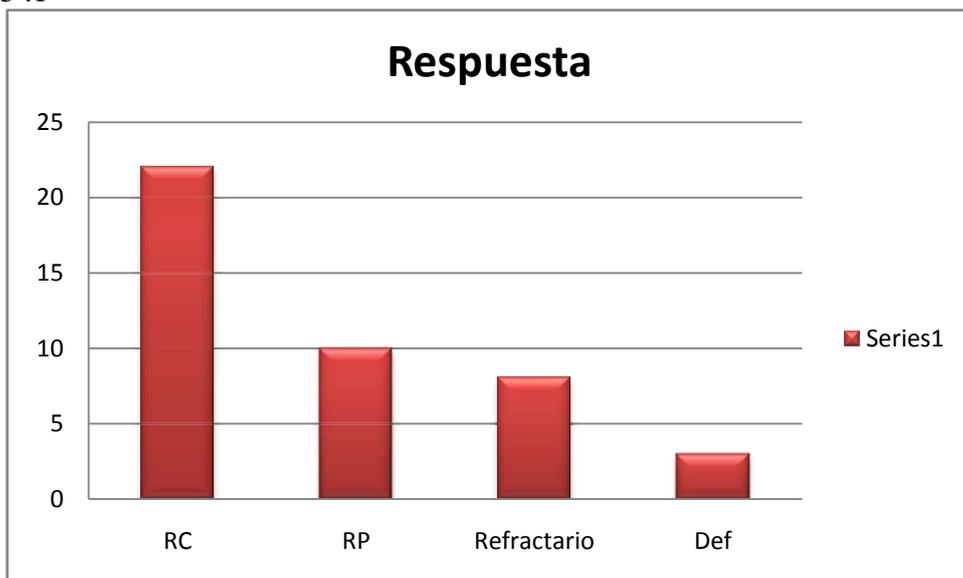


Tabla 6

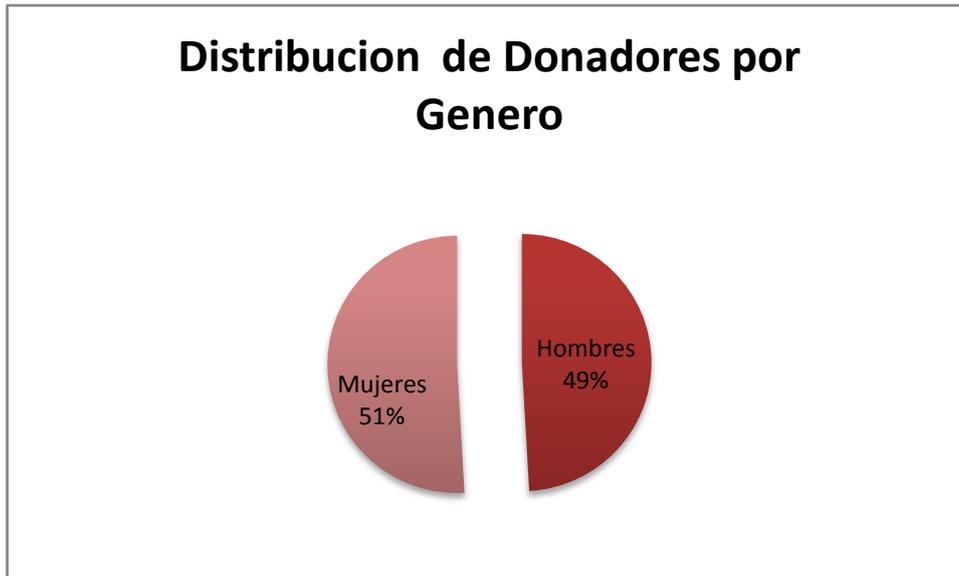


Tabla 7

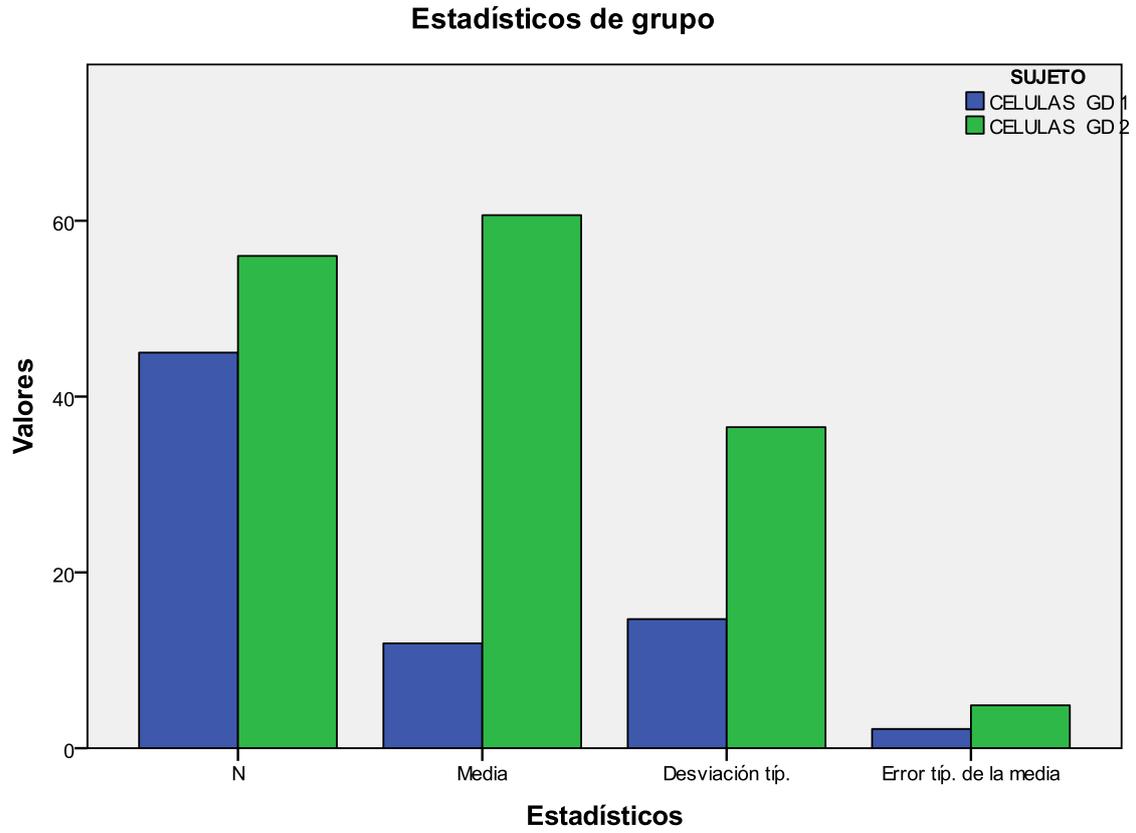
Linfocitos T $\gamma\delta$

Estadísticos de grupo

SUJETO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
CELULAS GD	1	45	11.9267	14.68660	2.18935
	2	56	60.6348	36.52059	4.88027

Tabla 8

Linfocitos T $\gamma\delta$



Células GD 1= Mieloma Múltiple
Células GD 2= Donadores Banco De Sangre

Linfocitos T $\gamma\delta$

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
CELUL	Se han asumido varianzas iguales	27.894	.000	-8.410	99	.000	-48.70805	5.79137	-60.19939	-37.21671
AS GD	No se han asumido varianzas iguales			-9.106	75.541	.000	-48.70805	5.34886	-59.36227	-38.05383