

Receptores estereotipados en leucemia linfocítica crónica

Stereotyped receptors in chronic lymphocytic leukemia

Stanganelli C

*División Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Hematológicas,
Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina*

cstanganelli@hematologia.anm.edu.ar



SUBCOMISIÓN
DE LLC:
MUTACIONES EN
LEUCEMIA LINFÁTICA
CRÓNICA-RECEPTORES
ESTEREOTIPADOS
EN LLC

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 405-412
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: leucemia linfocítica crónica,
IGHV,
receptor de células B estereotipado.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia,
IGHV,
stereotyped B-cell receptor.

Introducción

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es la forma más común de leucemia en adultos en el mundo occidental, representando casi el 30% de todas las leucemias⁽¹⁾. El curso clínico es muy variable, con tiempos hasta la progresión que van de meses a décadas⁽²⁾. Si bien las clasificaciones de estadios clínicos establecidas independientemente por Rai y col⁽³⁾ y Binet y col⁽⁴⁾ son de importancia pronóstica, las mismas no resultan suficientes para predecir con certeza el curso clínico en estadios tempranos de la enfermedad, así como tampoco para identificar pacientes con mal pronóstico. Esto determina la búsqueda de marcadores adicionales para estratificar a

los pacientes que presentan mayor riesgo de progresión de la enfermedad. En el año 1999 dos equipos de trabajo^(5,6) demostraron independientemente que el nivel de mutaciones presentes en los genes *IGHV* (*immunoglobulin heavy chain variable region*) permite dividir a la LLC en dos grandes grupos acorde al porcentaje de homología respecto de la línea germinal. Aquellos casos con $\geq 98\%$ de homología son considerados no mutados (NM), se asocian con peor evolución clínica, estadios avanzados, morfología atípica, rearrreglos genómicos de mal pronóstico y resistencia al tratamiento, mientras que los casos con homología $< 98\%$ son considerados mutados (M) y

presentan, en términos generales, mejor pronóstico. Estos datos han sido posteriormente confirmados por numerosos grupos, demostrando que el estado mutacional de *IGHV* es uno de los predictores de pronóstico más poderosos en la LLC^(7,8).

Durante la maduración de las células B normales en los órganos linfoides primarios, el reordenamiento

de los genes de la cadena pesada de la inmunoglobulina (*IGH*): región variable (*V*), región diversidad (*D*) y región unión *J* (*Joining*), unidos a los genes de la cadena liviana de la inmunoglobulina (*IGL*), kappa o lambda, proporciona la base para la estructura del receptor de células B (*B-cell receptor*; BCR) de la inmunoglobulina (*Ig*)⁽⁹⁾ (**Figura 1**).

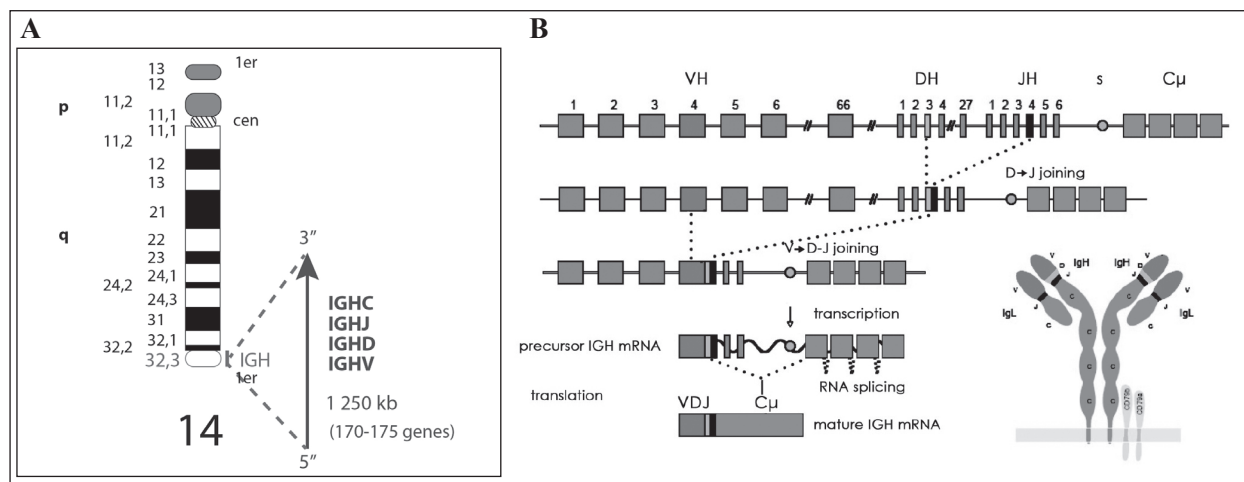


Figura 1. Recombinación V-D-J de los genes de inmunoglobulina. **A)** Diagrama mostrando el locus *IGH*@ humano, localizado en el brazo largo del cromosoma 14 (14q32.33). **B)** Recombinación V-D-J de los genes de la cadena pesada de las inmunoglobulinas⁽¹⁰⁾.

Los fragmentos *V* se agrupan por homología de secuencia en 7 familias: *VH1-VH7*, que al unirse luego a los segmentos *D* y *J* originan un amplio repertorio de rearrreglos *IGHV* posibles. Asimismo, cuando la molécula de *Ig* de la superficie celular reconoce su antígeno (*Ag*) específico, se puede producir diversidad adicional con la inducción de mutaciones somáticas en los genes *VH*. Este proceso, conocido como hipermutación somática (*HMS*), contribuye a un mejor reconocimiento antigénico por el BCR. Así, el repertorio de células B comprende alrededor de 10^{12} especificidades antigénicas diferentes. En este contexto, la probabilidad que dos clones de células B independientes pudieran llevar exactamente el mismo BCR sólo por azar es prácticamente insignificante.

Por su parte, la LLC muestra un repertorio de genes *IGHV* sesgado, siendo los que pertenecen a las familias *VH3*, *VH4* y *VH1*, los más utilizados^(6,11-14). Asimismo, las mutaciones somáticas no están distribuidas uniformemente entre las familias *VH*, se observa mayor representación de *VH3* y *VH4* en el grupo M y sobreexpresión de *VH1* en el estado NM^(11,15). Además, la *HMS* no es uniforme entre los genes *IGHV*: el gen *IGHV1-69* presenta pocas o nin-

guna mutación, por el contrario los genes *IGHV3-7*, *IGHV3-23* e *IGHV4-34*, muestran una carga significativa de *HMS*⁽¹¹⁾. También, el uso de genes *IGHV* varía en diferentes regiones geográficas, entre ellos el gen *IGHV3-21* se encuentra sobreexpresado en los países del norte de Europa en comparación con la región mediterránea^(12,16).

Simultáneamente, se ha observado que una proporción de pacientes con LLC exhibe secuencias de aminoácidos (aa) altamente homólogas en la región *VH CDR3* (*variable heavy chain complementarity-determining region 3*) de la *IGH*, producto de la unión V-D-J^(13,17). Dado que *VH CDR3* es una región crítica para la elaboración del sitio de reconocimiento antigénico, esas secuencias casi idénticas denominadas "estereotipadas" (*BCRE: B-cell receptor estereotipado*), podrían determinar especificidades antigénicas similares. Las mismas se encuentran con mayor frecuencia en los casos con *IGHV-NM*^(17,18) y se agrupan en *clusters* de homología. Existen diferentes criterios para identificar este tipo de receptores. El primero, establecido por Messmer y col.⁽¹⁷⁾ y Tobin y col.⁽¹⁹⁾, requiere utilizar los mismos genes *IGHV-IGHD-IGHJ*. Poco después se agruparon en *clusters*, secuencias con una identidad de aa en *VH*

CDR3 igual o superior al 60%^(18,19) y una diferencia en longitud ≤ 3 aa, aun con genes *IGHV* distintos. Más recientemente se observó que las secuencias VH CDR3 estereotipadas podrían ser compartidas entre casos que utilizaban genes de *IGHV* diferentes pero pertenecientes al mismo clan filogenético, lo que significa que su línea germinal es cercana y está evolutivamente relacionada, estableciendo un nuevo criterio más exigente para la identificación

de BCRES, que requiere que sólo las secuencias reordenadas que portan genes *IGHV* del mismo clan (sea: I, II o III), puedan asignarse al mismo grupo. Las secuencias deben tener además: idénticas longitudes de VH CDR3 y posiciones exactas de aa compartidos dentro de esta región, poseer al menos el 50% de identidad de aa y mostrar 70% de aa con propiedades físico-químicas similares⁽¹⁴⁾ (**Tabla 1**).

Tabla 1. Criterios para la descripción de receptores estereotipados.

	Stamatopoulos y col, 2007 ⁽¹⁸⁾	Agathangelidis y col, 2012 ⁽¹⁴⁾
VH CDR3 % identidad de aa	≥ 60	≥ 50
VHCDR3 % semejanza de aa	n/a	≥ 70
Gen IGHV	Cualquiera	Clan
Largo VH CDR3	≤ 3	=
Patrón compartido	n/a	=

n/a: no aplica

Al presente, se describieron 19 *clusters* denominados mayores, por ser los más frecuentes⁽¹⁴⁾. El porcentaje de casos de LLC BCRES varía de 12,5 a 32% en las cohortes publicadas^(18,20), lográndose porcentajes de 20-30% en las series de mayor tamaño⁽¹⁴⁾. En algunos casos, la presencia de BCRES asignados a un *cluster* determinado se correlaciona con el curso clínico de la enfermedad, independientemente del estado mutacional o del gen *IGHV* involucrado^(12,18,21-23).

Distintas evidencias han sugerido que el uso del gen *IGHV3-21* en la LLC puede representar un factor pronóstico adverso, independientemente de la presencia de HMS^(18,24,25). Sin embargo, estudios de los

países mediterráneos demostraron que la LLC con *IGHV3-21 cluster #2*, presenta una mayor agresividad clínica, con un menor tiempo al primer tratamiento (TTT) o tiempo hasta la progresión, en comparación con los casos de LLC que expresaron *IGHV3-21* no estereotipado^(12,13). Esta observación fue confirmada por un estudio reciente sobre 8593 casos, que encontró que sólo las LLC con *IGHV3-21* estereotipado correspondientes al *cluster #2*, presentaban un curso agresivo independientemente de su estado mutacional, el resto de las *IGHV3-21* heterogéneas (no estereotipadas) mostraban un curso dependiente de su estado mutacional, tal como ocurre en los otros pacientes con LLC⁽²²⁾. (**Tabla 2**).

Tabla 2. Genes IGHV y receptores estereotipados de uso frecuente en LLC, sus implicancias clínicas.

Rearreglo	Evolución	Referencias
Gen. IGHV usado		
• <i>IGHV3-21</i>	Desfavorable	24, 25
• <i>IGHV3-23 e IGHV1-69</i>	Desfavorable	15, 26, 27
Clusters		
• <i>Cluster #1: IGHV1-5-7</i>	Desfavorable	18, 22, 28
• <i>Cluster #2: IGHV3-21</i>	Desfavorable	12, 13, 18, 22
• <i>Cluster #4: IGHV4-34</i>	Favorable	18, 29, 30
• <i>Cluster #8: IGHV4-39</i>	Alto riesgo transformación en Richter	31, 32

NM: no mutado; **IGHV:** immunoglobulin heavy chain variable region

Además, el *cluster* #2 mostró una alta frecuencia de deleciones 11q⁽²⁹⁾ y 13q⁽³⁰⁾. Recientemente Rossi y col.⁽³²⁾, analizando asociaciones preferenciales entre alteraciones genéticas específicas y subgrupos de BCRES, encontraron alta frecuencia de mutaciones en *SF3B1* (*splicing factor 3b subunit 1*) en *IGHV3-21-LLC* perteneciente al *cluster* #2, dato confirmado por Strefford y col.⁽³³⁾. Consistentemente, este subgrupo de pacientes mostró una mayor tasa de progresión de la enfermedad con requerimiento terapéutico, en comparación con los casos de LLC-*cluster* #2 y *SF3B1* no mutado o con *IGHV3-21* con BCRs heterogéneos. Estos datos sugieren que la asociación entre mutación de *SF3B1* y *cluster* #2 contribuiría a promover la progresión de la enfermedad.

Asimismo, considerando las LLC-M, la expresión de *IGHV3-23* identifica a un subgrupo de pacientes con características clínicas y biológicas específicas, representando un factor de mal pronóstico⁽²⁷⁾. Por otra parte, el gen *IGHV1-69*, el representado más frecuentemente en la familia VH1, está altamente asociado a un perfil NM y presenta mala evolución clínica^(15,19,34,35), sus secuencias estereotipadas se pueden asignar a los *clusters* #3, #5, #6, #7 y #69⁽²²⁾. Por su parte, algunos rearrreglos que involucran el gen *IGHV4-34*, pueden asignarse a dos *clusters* de BCRES distintos: el *cluster* #4 (*IGHV4-34/IGKV2-30*) y el *cluster* #16 (*IGHV4-34/IGKV3-20*). Con respecto al *cluster* #4, se asoció a una configuración casi exclusivamente M. Los pacientes incluidos en él se caracterizaron por tener una edad temprana en el momento del diagnóstico, un TTT largo, un perfil citogenético usualmente favorable y un curso indolente a pesar de su edad de presentación temprana^(18,29). Con relación al gen *IGHV4-39*, los casos asignados al *cluster* #8 mostraron un curso clínico agresivo, complicado por infecciones severas recurrentes, transformación a Richter o la ocurrencia de un tumor sólido secundario⁽³¹⁾. A su vez, la LLC con *IGHV4-39* asignada al *cluster* #8 mostró mayor prevalencia de trisomía 12 y mutaciones en *NOTCH1* (*neurogenic locus notch homolog protein 1*) respecto de la *IGHV4-39-LLC* con BCR heterogéneos (Tabla 2). Con referencia al *cluster* #1, representado por el uso de *IGHV1-5-7*, se correlaciona con menor sobrevivencia respecto de aquellos pacientes con igual rearrreglo pero con secuencias VH CDR3 heterogéneas⁽²²⁾.

Análisis de una cohorte de Argentina

En nuestro laboratorio efectuamos el análisis del estado mutacional, del repertorio de genes *IGHV* y de la presencia de receptores estereotipados en una cohorte de pacientes con LLC, utilizando la metodología previamente descrita⁽³⁶⁾. Se estudiaron 244 pacientes (146 varones; 49,8%; edad media: 65,3 años, rango: 35-88 años; estadios clínicos RAI 0: 30,2%; I-II: 54,4%; y III-IV: 15,4%), observándose 143 rearrreglos (58,1%) asociados al estado M y 103 (41,9%) al NM, dos pacientes presentaron rearrreglos dobles. La distribución de familia tiene el siguiente esquema: *IGHV3*> *IGHV4*> *IGHV1*. Los genes *IGHV* observados con mayor frecuencia fueron: *IGHV3-23*, *IGHV4-34*, *IGHV1-69*, *IGHV3-21* e *IGHV3-48* (38,1% del total).

Las secuencias de aa VH CDR3 estereotipadas se identificaron según el criterio tradicional, mediante alineamiento en pares con secuencias estereotipadas conocidas disponibles en diferentes bases de datos públicas^(13,18). También se efectuó el alineamiento de secuencias entre nuestros casos para investigar posibles estereotipos nuevos. Asimismo, efectuamos la búsqueda de BCRES correspondientes a *clusters* mayores⁽¹⁴⁾. Nuestra serie mostró BCRES en el 11,8% con los dos criterios empleados (Tabla 3). Encontramos dos casos con 100% de homología de secuencia en VH CDR3 no incluidos en los *clusters* conocidos, que fueron denominados NAR.

La Figura 2 muestra la distribución entre BCRES y heterogéneos para los distintos genes *IGHV*. Respecto a los rearrreglos que involucran el gen *IGHV3-21* (6,5% del total), 43,8% (7/16) de los reordenamientos que implican este gen se incluyeron en el *cluster* #2 siendo además este *cluster* el más frecuente en nuestra cohorte (Figura 3a). En cuanto al gen *IGHV4-34*, presente en el 8,9% de los rearrreglos, 27,5% (6/22) de los casos fueron estereotipados correspondientes al *cluster* #4 de buen pronóstico, mientras que 9,1% (2/22) se incluyeron en el *cluster* #16, el restante 63,4% (14/22) fueron heterogéneos (Figura 2). Con referencia al gen *IGHV1-69*, el mismo se encontró presente en el 8,1% (20/246) de los rearrreglos, 11,4% (7/20) de los cuales fueron estereotipados, 2 casos asignados al *cluster* #3, mientras que 5 correspondieron al *cluster* #7. A su vez, el *cluster* #1, de mal pronóstico, se encontró en 5 rearrreglos, 2 incluyeron el gen *IGHV1-2* y 3 pacientes el gen *IGHV1-3*.

Tabla 3. Receptores estereotipados en pacientes argentinos con LLC.

<i>Clusters</i> Stamatopoulos Bomben	NM <i>IGHV</i>	Gen <i>IGHV</i> (N° de pacientes)	N° de pacientes	Agathangelidis <i>Clusters</i> Mayores	NM <i>IGHV</i>	Gen <i>IGHV</i> (N° de pacientes)	N° de pacientes
1	3/3	1-3 (1),1-2 (2)	3	1	5/5	1-2(2), 1-3 (3)	5
2	2/6	3-21 (6)	6	2	3/7	3-21 (7)	7
3	1/1	1-69 (1)	1	3	1/1	1-69 (1)	1
4	0/4	4-34 (4)	4	4	0/6	4-34 (6)	6
7	7/7	1-69 (5), 3-30(1), 4-31 (1)	7	7H	2/2	1-69 (2)	2
8	1/1	4-39 (1)	1	8	1/1	4-39 (1)	1
N6	0/1	3-30 (1)	1	-	-	-	-
10	1/1	3-30 (1)	1				
-	-	-	-	14	0/1	4-34 (1)	1
16	0/2	4-34 (2)	2	16	0/2	4-34 (1)	2
28	1/1	1-2 (1)	1	28A	2/2	1-2 (1), 1-3 (1)	2
-	--	-	-	77	0/2	4-4 (1), 4-59 (1)	2
NAR	0/2	3-23 (2)	2	-	-	-	-
Total	16/29		29 (11,8%)	Total	14/29		29 (11,8%)

NM: no mutado; *IGHV*: inmunoglobulin heavy chain variable region

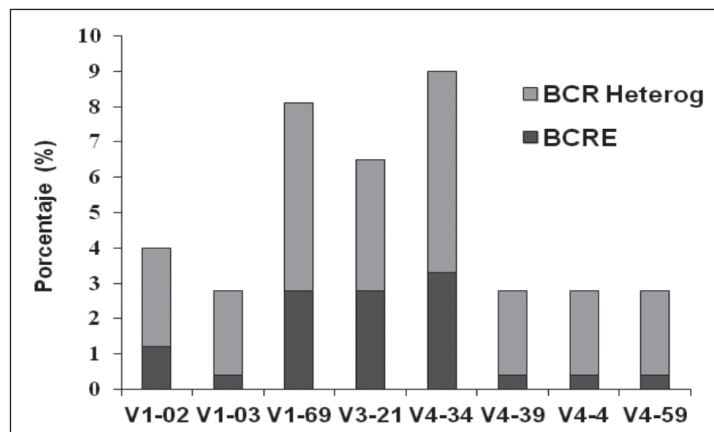


Figura 2. Distribución entre receptores estereotipados y heterogéneos en pacientes argentinos con LLC.

Al comparar la distribución de los BCREs entre los diferentes *clusters* mayores en nuestra cohorte con los datos publicados⁽¹⁴⁾, observamos que en ambos grupos hay una cantidad similar de casos incluidos en el *cluster* #2, pero en los pacientes argentinos hay más rearrreglos en los *clusters* #1 y #4 (**Figura 3b**). Concluyendo, la presencia de BCREs es la evidencia molecular más poderosa de la selección antigénica en la ontogenia de la LLC. El análisis inmunogenético de los BCRs tienen relevancia clínica en la LLC donde el estudio molecular de los genes de la Ig expresados por el BCR identifica subgrupos de pacientes con diferentes características biológicas,

presentación clínica y evolución, indicando que la reactividad funcional del Ag del BCR está implicada críticamente en el comportamiento biológico de los clones malignos^(30,37,38). Por estas razones, la incorporación del análisis de BCREs podría refinar los modelos pronósticos, brindando información adicional a la clasificación de grupos de riesgo genético, permitiendo definir subgrupos de pacientes que comparten características clínicas, biológicas y de evolución, sobre todo cuando están involucrados los *clusters* #1, #2, #4, por ser los más frecuentes y mejor caracterizados a nivel biológico.

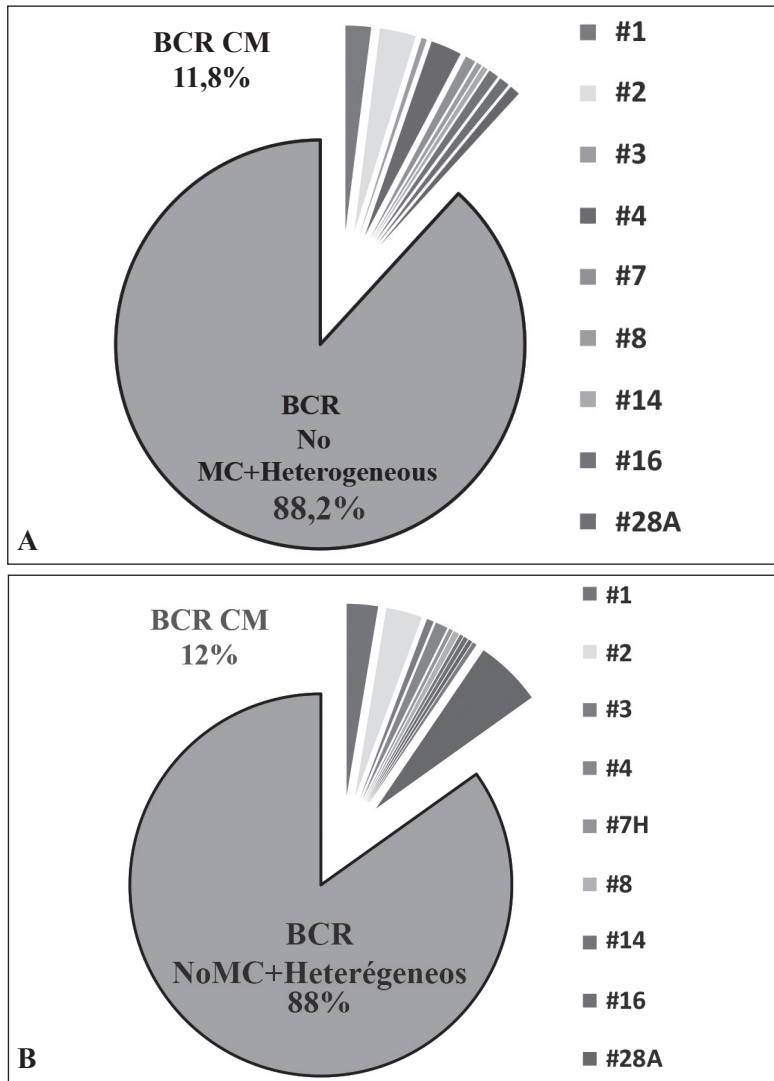


Figura 3. Receptores estereotipados en pacientes con LLC. Clusters mayores. **A)** Pacientes argentinos. **B)** Series de la literatura⁽¹⁴⁾.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. Smith A, Howell D, Patmore R y col. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the haematological malignancy research network. *Br J Cancer*. 2011; 105:1684-92.
2. Dighiero G, Hamblin TJ. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 2008; 371: 1017-29.
3. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP y col. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975; 46: 219-34.
4. Binet JL, Auquier A, Dighiero G y col. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981; 48: 198-206.
5. Damle RN, Wasil T, Fais F y col. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999; 94: 1840-7.
6. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A y col. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999; 94: 1848-54.

7. Ghia P, Stamatopoulos K, Belessi C y col. ERIC recommendations on IGHV gene mutational status analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2007; 21: 1- 3.
8. Langerak AW, Davi F, Ghia P y col. Immunoglobulin sequence analysis and prognostication in CLL: guidelines from the ERIC review board for reliable interpretation of problematic cases. *Leukemia*. 2011; 25: 979-84.
9. Chiorazzi N, Rai K and Ferrarini, M. Mechanisms of disease. *Chronic Lymphocytic Leukemia*. *N Engl J Med*. 2005; 352: 804-15.
10. Stanganelli C, Dos Santos P, Panero J y col. Análisis del estado mutacional y rearrreglos del gen IGHV en pacientes con leucemia linfocítica crónica y linfoma de células del manto. *Hematología*. 2016; 20: 54-62.
11. Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S y col. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest*. 1998; 102:1515-25.
12. Ghia P, Stamatopoulos K, Belessi C y col. Geographic patterns and pathogenetic implications of IGHV gene usage in chronic lymphocytic leukemia: the lesson of the IGHV3-21 gene. *Blood*. 2005; 105: 1678-85.
13. Bomben R, Dal Bo M, Capello D y col. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukaemia with stereotyped B cell receptor: results from Italian multicentre study. *Br J Haematol*. 2009; 144: 492-506.
14. Agathangelidis A, Darzentas N, Hadzidimitriou A y col. Stereotyped B-cell receptors in one third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapeutic interventions. *Blood*. 2012; 119: 4467-75
15. Mauerer K, Zahrieh D, Gorgun G y col. Immunoglobulin gene segment usage, location and immunogenicity in mutated and unmutated chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2005; 129:499-510.
16. Cahill N, Sutton L-A, Jansson M y col. IGHV3-21 gene frequency in Swedish cohort of patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2012; 12:201-6.
17. Messmer BT, Albesiano E, Messmer D y col. The pattern and distribution of immunoglobulin VH gene mutations in chronic lymphocytic leukemia B cells are consistent with the canonical somatic hypermutation process. *Blood*. 2004; 103: 3490-5.
18. Stamatopoulos K, Belessi C, Moreno C y col. Over 20% of patients with chronic lymphocytic leukemia carry stereotyped receptors: pathogenetic implications and clinical correlations. *Blood*. 2007; 109: 259-70.
19. Tobin G, Thunberg U, Karlsson K y col. Subsets with restricted immunoglobulin gene rearrangement features indicate a role for antigen selection in the development of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2004; 104:2879-85.
20. Bianchi S, Moreno P, Landoni A y col. Immunoglobulin heavy chain V-D-J gene rearrangement and mutational status in Uruguayan patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2010; 51:2070-8.
21. Darzetis N, Stamatopoulos K. The significance of stereotyped B-cell receptors in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013; 27: 237-50.
22. Baliakas P, Agathangelidis A, Hadzimitiou A y col. Not all IGHV3-21 chronic lymphocytic leukemias are equal:prognostic considerations. *Blood*. 2015; 125: 856-9.
23. Stamatopoulos K, Agathangelidis A, Rosenquist R y col. Antigen receptor stereotypy in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2017; 31: 282-91.
24. Tobin G, Thunberg U, Johnson A y col. Somaticly mutated Ig V(H)3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002; 99: 2262-4.
25. Thornsélius M, Kröber A, Murray F y col. Strikingly homologous immunoglobulin gene rearrangements and poor outcome in V3-21-using chronic lymphocytic leukemia patients independent of geographic origin and mutation status. *Blood*. 2006; 107: 2889-94.

26. Dal Bo M, Del Giudice I, Bomben R y col. B-cell receptor, clinical course and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia: the growing saga of the IGHV3 subgroup gene usage. *British Journal of Haematology*. 2010; 153, 3–14.
27. Bomben R, Dal-Bo M, Benedetti D y col. Expression of mutated IGHV3-23 genes in chronic lymphocytic leukemia identifies a disease subset with peculiar clinical and biological features. *Clin Cancer Res*. 2010; 16: 620-6.
28. Darzetas N, Hadzidimitriou A, Murray F y col. A different ontogenesis for chronic lymphocytic leukemia cases carrying stereotyped antigen receptors: molecular and computational evidence. *Leukemia*. 2010; 24, 125-32.
29. Marincevic M, Mansouri M, Kanduri M y col. Distinct gene expression profiles in subsets of chronic lymphocytic leukemia expressing stereotyped IGHV4-34 B-cell receptors. *Haematologica*. 2010; 95: 2072-9.
30. Maura F, Cutrona G, Fabris S y col. Relevance of stereotyped B-cell receptors in the context of the molecular, cytogenetic and clinical features of chronic lymphocytic leukemia. *PLoS ONE*. 2011; 6:e24313.
31. Rossi D, Spina V, Cerr M y col. Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *Clin Cancer Res*. 2009; 15: 4415-22.
32. Rossi D, Spina V, Bomben R y col. Association between molecular lesions and specific B-cell receptor subsets in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013; 121:4902-5.
33. Strefford JC, Sutton L, Baliaka P y col. Distinct patterns of novel gene mutations in poor-prognostic stereotyped subsets of chronic lymphocytic leukemia: the case of SF3B1 and subset #2. *Leukemia*. 2013, 1-4.
34. Potter KN, Orchard J, Critchley E y col. Features of the overexpressed V1-69 genes in the unmutated subset of chronic lymphocytic leukemia are distinct from those in the healthy elderly repertoire. *Blood*. 2003; 101 3082-4.
35. Messmer BT, Raphael BJ, Aerni SJ y col. Computational identification of CDR3 sequence archetypes among immunoglobulin sequences in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*. 2009; 33: 368-76.
36. Stanganelli C, Travella A, Bezares R y col. Immunoglobulin gene rearrangement and mutational status in argentinian patients with chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013; 13: 447-57.
37. Stamatopoulos K. Antigens in CLL: themes and variations. *Blood*. 2010; 115:3855–6.
38. Murray F, Darzetas N, Hadzidimitriou A y col. Stereotyped patterns of somatic hypermutation in subsets of patients with chronic lymphocytic leukemia: implications for the role of antigen selection in leukemogenesis. *Blood*. 2008; 111:1524-33.