



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

## **FACULTAD DE MEDICINA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA  
HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO  
GONZALEZ GARZA"**

### **"INCIDENCIA DE ENFERMEDAD DE HODGKIN EN NIÑOS CON INFECCION DEL VIRUS DE EPSTEIN BARR DEL 2014 AL 2016"**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA**

**PRESENTA:**

**NESTOR JAVIER RIVERA PINEDA**

**ASESOR DE TESIS: DRA. SUSANA ELIZABETH ANAYA AGUIRRE.  
DRA. SANDRA ALICIA SANCHEZ FELIX**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. Agosto 22, 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **IDENTIFICACION DE INVESTIGADORES**

### **INVESTIGADOR PRINCIPAL:**

**Dra. Susana Elizabeth Anaya Aguirre**

Enc. Jefatura de Oncología Pediátrica HG del CMN la Raza

E-mail: s311276@hotmail.com

Teléfono: 55 4463 3333

### **INVESTIGADORES ASOCIADOS**

**Dra. Sandra Alicia Sánchez Félix**

Enc. División de Pediatría del HG del CMN la Raza

E-mail: polosan@infosel.net.mx

Teléfono: 55 5451 0690

**Dr. Néstor Javier Rivera Pineda**

Residente de Pediatría Médica del HG CMN la Raza

E-mail: njrivera@hotmail.com

Teléfono: 55 6027 9855

## INDICE

1.	INDICE	3
2.	RESUMEN	4
3.	MARCO TEORICO	6
4.	JUSTIFICACION	24
5.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
6.	PREGUNTA DE INVESTIGACION	24
7.	HIPOTESIS GENERAL	24
8.	HIPOTESIS ALTERNA Y NULA	25
9.	OBJETIVO GENERAL	25
10.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
11.	PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS	25
12.	TAMAÑO DE LA MUESTRA	26
13.	DEFINICION DE VARIABLES	27
14.	DESCRIPCION DEL ESTUDIO	29
15.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
16.	ASPECTOS ÉTICOS	29
17.	FACTIBILIDAD	30
18.	RESULTADOS	31
19.	DISCUSION	35
20.	CONCLUSIONES	36
21.	HOJA DE RECOLECCION DE DATOS	37
22.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA	38

## RESUMEN

### **INCIDENCIA DE ENFERMEDAD DE HODGKIN EN NIÑOS CON INFECCION DEL VIRUS DE EPSTEIN BARR DE ENERO 2014 A JUNIO 2016**

**Autores:** Anaya-Aguirre Susana Elizabeth, Sánchez-Félix Sandra Alicia, Rivera-Pineda Néstor Javier.

#### **Introducción:**

El VEB se ha relacionado con el desarrollo de neoplasias malignas de células B y de células epiteliales. Estas incluyen al linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, Enfermedad de Hodgkin, así como cánceres en pacientes inmunocomprometidos, como en la enfermedad linfoproliferativa post trasplante, linfoma asociado a SIDA, carcinoma gástrico. [36]

#### **Objetivo:**

Se determinó la Incidencia de la Enfermedad de Hodgkin en niños que tuvieron infección de virus de Epstein Barr en el servicio de oncología pediátrica del Centro Medico La Raza durante el periodo de Enero 2014 a Junio 2016.

#### **Material y métodos:**

*Tipo de estudio:* Estudio transversal descriptivo retrospectivo.

*Análisis estadístico:* Se realizó determinando la incidencia de niños con Enfermedad de Hodgkin en niños con infección de virus de Epstein Barr corroborada por PCR o inmunohistoquímica durante el 2014 al 2016. Esto se hizo determinando la incidencia acumulada: De todos los niños con infección de virus de Epstein Barr corroborada por PCR o Inmunohistoquímica durante el periodo de Enero del 2014 y Junio del 2016 y se determinó cuáles de estos niños desarrollaron Enfermedad de Hodgkin.

**IA (incidencia acumulada)=** Número de niños con Enfermedad de Hodgkin corroborada por inmunohistoquímica / número de niños con infección corroborada de virus de Epstein Barr por PCR o inmunohistoquímica.

#### **RESULTADOS**

Fueron 31 pacientes 18 hombres y 13 mujeres, a los que se les corroboró por biopsia de ganglio enfermedad de Hodgkin. Las variedades histológicas encontradas fueron; Esclerosis nodular 20 pacientes, celularidad mixta 9, predominio linfocítico 1, depleción

linfocitaria ningún paciente y predominio linfocítico nodular 1. De los sitios de afección encontrados fueron la región cervical en 19 pacientes, la región cervical y mediastinal 8 pacientes, retroperitoneal 1 paciente, mediastino 2 pacientes y tórax 1 paciente. De los estadios en los que se encontraron los pacientes con enfermedad de Hodgkin fueron: Estadio I: 2 pacientes, Estadio II: 14 pacientes, Estadio III: 9 y Estadio IV: 6 pacientes. Cuando se realizó el panel viral para virus de Epstein Barr se no se encontró la IgM positiva en ningún paciente, la IgG se encontró positiva en 23 pacientes, IgG negativo en 3 pacientes y a 5 pacientes no se les realizó panel viral o se reportó sin reactivo.

Se encontró en 8 pacientes la proteína latente de membrana LMP-1 del virus de Epstein Barr positiva por inmunohistoquímica. La PCR para virus de Epstein Barr no fue realizada en ninguno de los pacientes.

Los 31 pacientes con diagnóstico Enfermedad de Hodgkin corroborado por biopsia de ganglio linfático, recibieron de tratamiento con quimioterapia con ABVD 8 pacientes, con BEACOPP 22 pacientes y 1 de ellos recibió BEACOPP y DECAL, a 2 de ellos les realizaron trasplante de progenitores hematopoyéticos. La Radioterapia la recibieron 29 pacientes, de los cuales 15 recibieron de 25 a 30 Gys y 14 recibieron de 15 a 25 Gys. Dos pacientes no recibieron radioterapia.

## **CONCLUSIONES**

La Incidencia Acumulada de la Enfermedad de Hodgkin en niños con Infección de Virus de Epstein Barr de Enero del 2014 a junio del 2016 en el servicio de Oncología Pediátrica del CMN La Raza fue del 3.8%.

## MARCO TEÓRICO

### 1. LINFOMA DE HODGKIN (LH)

La enfermedad de Hodgkin fue descrita por primera vez en 1832 por Thomas Hodgkin, quien refiere el aspecto post-mortem de siete pacientes que presentaban adenopatías y bazo aumentados de tamaño. [1] No fue hasta 1900 cuando las células que caracterizan esta entidad fueron descritas por Dorothy Reed y Carl Sternberg. En el año 2001 la World Health Organization (WHO) Lymphoma Classification System designó a la enfermedad de Hodgkin como “Hodgkin Lymphoma”, y lo subdividió en dos tipos, el linfoma de Hodgkin clásico (LH), y el linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular (LHPLN).

Se trata de una entidad que presenta unos rasgos clínicos, epidemiológicos y biológicos únicos, por lo que históricamente ha sido objeto de atención por parte de clínicos, patólogos e investigadores. [2]

MacMahon es una figura capital en el estudio del LH, pues estableció la hipótesis de la causa infecciosa. Su teoría nace a partir de las observaciones de Correa y O’Conor y aplicando los conocimientos que existían gracias al modelo de la polio. Se fundamentaba en la existencia de criterios clínicos (fiebre cíclica con sudoración nocturna), criterios morfológicos (abundante celularidad reactiva que rodeaba a las células malignas) y en datos epidemiológicos (curva bimodal de edad de presentación, diferente edad de presentación en función de criterios geográficos y en función de la clase social, etc.). [3]

MacMahon propuso el paradigma de las “tres enfermedades”, consistente en que el LH no era una única enfermedad, sino que en realidad se trataba de diferentes enfermedades con distintas etiologías que podían ser definidas a partir de la edad de diagnóstico, estableciendo 3 grupos: 0-14 años, 15-34 años y mayores de 50 años. [4]. Posteriormente, ya en 1994, el grupo de Armstrong A, Alexander G y Jarret R (grupo muy activo en el campo de la investigación en LH y su relación con el VEB) reformulan en modelo de MacMahon planteando que en realidad existirían “4 modelos de LH” [5]

Estos paradigmas se mantienen vigentes como un modelo teórico de lo que puede ser esta enfermedad y que podría explicar sus diferentes comportamientos. No obstante, se han llevado a cabo algunos trabajos que analizaban el LH en esos grupos de edad, con un número considerable de pacientes, y que no han conseguido observar las diferencias esperables en función de la presencia del VEB en cuanto a forma de presentación, supervivencia etc. De hecho en la actualidad se acepta, a la vista de los resultados realizados, que las diferentes poblaciones presentan variaciones de estos patrones teóricos, llegando incluso a no presentarse siempre la clásica incidencia bimodal. [6]. Así, en la actualidad se considera que en su patogenia probablemente convergen factores infecciosos, déficits inmunológicos y susceptibilidad genética. [7]

## 1.1. EPIDEMIOLOGÍA DESCRIPTIVA

El LH supone el 11% de los linfomas en los países occidentales, 15% si nos referimos a adultos jóvenes (15-24 años). Su incidencia en base a los registros europeos y norteamericanos es de 2.3 - 3.1 casos/100.000 habitantes/año en sexo masculino y 1.6 - 2.3 casos/100.000 habitantes/año en sexo femenino. Habitualmente presenta una curva de incidencia bimodal con dos picos de edad: un pico en adultos jóvenes y un segundo pico a partir de los 50 años. Es un tumor que presenta una variación racial, con las mayores tasas en raza blanca seguida de hispanos y afroamericanos siendo en asiáticos donde se detecta menor incidencia. [8]

En los últimos años, gracias a los avances en estadiaje y tratamiento se han conseguido importantes mejoras en la supervivencia de estos pacientes, con supervivencias globales a cinco años del 60-70%. Podemos diferenciar dos grupos de edad, pacientes de menos de 50 años que presentarían actualmente supervivencias de alrededor del 85-90%, y pacientes mayores de 50 años que presentarían supervivencias del 50-60%. Es conocido que la edad avanzada es un factor predictivo independiente de mal pronóstico, incluso tras ajustar por subtipo histológico, estadio al diagnóstico, síntomas B o tratamiento realizado. [9].

Como ya hemos visto es un tumor que presenta una curva de incidencia bimodal (en ocasiones trimodal), y que además es diferente entre países desarrollados y subdesarrollados. Correa y O'Connor, en 1971, definieron la existencia de tres patrones epidemiológicos:

- El patrón I, propio de países subdesarrollados y de grupos de bajo nivel socioeconómico, con dos picos de incidencia, el primero en niños y predominantemente de sexo masculino, y el segundo a partir de los 50 años y con predominio del subtipo histológico celularidad mixta (CM).
- El patrón III, propio de países desarrollados y grupos de nivel socioeconómico alto, se caracteriza por baja incidencia en niños, un pronunciado pico de incidencia en adultos jóvenes, con predominio del subtipo histológico esclerosis nodular (EN), y posterior nuevo aumento de la incidencia a partir de los 50 años.
- El patrón II, propio de países en vías de desarrollo o economías en transición, sería un patrón intermedio, con dos picos de edad, infantil y adultos jóvenes, e igual frecuencia de casos de subtipos histológicos EN o CM. [10]

## 1.2. HISTOPATOLOGÍA

El LH es una neoplasia del sistema linfopoyético única desde el punto de vista clínico-patológico. Se caracteriza por una disrupción de la arquitectura normal de los ganglios linfáticos, con una presencia minoritaria de las células características de esta entidad (1-2% del total): unas células grandes y mono nucleadas (células de Hodgkin) y otras multinucleadas (células de Reed Sternberg), en medio de un infiltrado inflamatorio no neoplásico compuesto por linfocitos maduros, células plasmáticas y eosinófilos. A las células citadas se les llama de forma conjunta células de Hodgkin y Reed Sternberg (HRS). [11]

Se diferencian 4 subtipos histológicos dentro del LH: Esclerosis Nodular (EN), que supone aproximadamente el 65% de los casos, Celularidad Mixta (CM), con un 35% de los casos, y Predominio Linfocítico (PL) y Depleción linfocítica (DL) que en conjunto suponen únicamente un 5% del total. Cuando la histología es indeterminada entre los subtipos EN y CM se denomina subtipo interfolicular (IF). Esta clasificación fue confirmada en la última clasificación WHO. [12]

El NLPHL, pese a su baja frecuencia, un 5% del total de los LH, se considera una entidad diferente del LH, dado que presentan diferencias en aspectos morfológicos, inmunofenotípicos y del microambiente que las rodea. Las células tumorales, que en el LH como hemos visto son las células HRS, en la variante NLPHL son llamadas actualmente *LP cells (lymphocyte predominant)*, anteriormente llamadas *L&H cells (lymphocytic and histiocytic cells)*. A nivel de inmunofenotipo las células neoplásicas de NLPHL presentan un fenotipo BCL6+/CD138-, típico de células de centro germinal, y en cambio LH es una entidad heterogénea, pues algunas células también son BCL6+/CD138- pero otras presentan inmunofenotipo BCL6-/CD138+, propio de célula B de centro pos germinal e incluso existen casos excepcionales de LH originarios de células T. Por último, el NLPHL no se asocia al VEB. [13]

### **1.3 BIOLOGÍA MOLECULAR DEL LH**

Las células tumorales generalmente retienen los rasgos fenotípicos más característicos de la célula normal de la que se originan. Las células HRS derivan de células B maduras, pero debido a un proceso de reprogramación pierden los marcadores de célula B y además expresa marcadores aberrantes de diferentes células hematopoyéticas. Este fenómeno hace que las células HRS presenten un inmunofenotipo único, diferente de cualquier otra célula del sistema hematopoyético y de cualquier otra célula tumoral. [14]

Además estas células presentarán una activación anómala de diferentes vías de señalización y de factores de transcripción. La activación de estas vías y factores es secundaria a lesiones genéticas y epigenéticas y a la interacción de las propias células HRS con microambiente en el que se encuentran, y tienen un papel muy importante tanto en la patogénesis del LH como en la progresión de la enfermedad. [15]

#### **1.3.1. Origen de la célula HR. Pérdida de fenotipo de células B**

En la actualidad existen pruebas suficientes que demuestran que las células HRS derivan de células B de centro germinal. Las células B del centro germinal son células B maduras que han sido activadas por antígenos, mediante la unión de los mismos al receptor de la célula B (BCR) y que están implicadas en la respuesta inmune dependiente de células T. Esta activación provocará la migración de las células B al interior de los folículos y su vigorosa proliferación. [14]

Esta proliferación normal de las células B del centro germinal se caracteriza por un proceso de hipermutación somática, en el que se generan múltiples mutaciones, deleciones y duplicaciones, especialmente en los genes de la región variable de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas (Ig V genes). Muchas de ellas, como por ejemplo la pérdida

de BCR funcional, en condiciones normales provocarán la apoptosis de estas células mutadas. [16]

El escaso número de células tumorales en el LH y las características excepcionales de las mismas motivó que durante largo tiempo no se conociese su origen. No obstante, en la actualidad se considera probado que estas células provienen de células B del centro germinal. [14]

El dato más importante y definitivo fue la demostración de que las células HRS presentaban en la mayoría de casos múltiples mutaciones somáticas y reordenamientos clonales a nivel de las cadenas pesadas y ligeras de las Ig, 25% de ellas en la región V. [17]. Se considera que las células HRS derivan de células B de centro germinal preapoptóticas, células dañadas que adquieren mutaciones somáticas desfavorables pero que consiguen escapar a la apoptosis gracias a un proceso de reprogramación de su expresión génica. En éste proceso éstas células pierden la expresión de la mayoría de los genes típicos de célula B (pérdida de CD20, CD19, CD79, Ig de superficie, y factores de transcripción OCT2, BOB1, PU1), y adquieren expresión de múltiples genes típicos de otras células del sistema inmune, que también contribuirán a la baja expresión de genes de célula B. Esto hace que las células HRS presenten un inmunofenotipo tan inusual, con marcadores de diferentes líneas hematopoyéticas, como marcadores de células T (CD3, NOTCH1, GATA3), células citotóxicas (granzima B, perforinas), células B (Pax5, CD20), células dendríticas (fascina, CCL17), células NK (ID2), células mieloides (CSFR1) y granulocitos (CD15). Las células HRS siempre expresan el marcador de activación CD30. [50]. La supervivencia de las células HRS a la apoptosis es tal vez el punto clave en la oncogénesis del LH. [18]

Algunos factores de transcripción claves que regulan la expresión de muchos genes específicos de las células B no se expresan, o lo hacen a niveles muy reducidos. Esto incluye como se ha comentado anteriormente a *Oct-2*, *Pu.1*, *Bob1* y el early B cell factor (*EBF*). Los factores de transcripción *E12* y *E47*, codificados por el gen TCF3 (*E2A*), pese a que se expresan en las células HRS, están inhibidos por la potente expresión de sus inhibidores ID2 y ABF1. [19]. *Pax 5*, factor de transcripción específico de células B, pese a que se expresa en las células HRS, está funcionalmente afectado, por lo que existe una disminución de la expresión de los genes a los que regula. Posiblemente la ausencia o disfunción de otros factores de transcripción de células B podría contribuir a la disfunción del propio Pax 5.

### **1.3.2. Activación de la vía de transcripción NF-κB**

El NF-κB es un complejo proteico constituido por una familia de factores de transcripción que juega un papel central en numerosos procesos celulares, generalmente relacionados con procesos de proliferación celular, supervivencia celular, apoptosis y procesos inflamatorios. Está constituida por 5 miembros, Rel, RelA (p65), RelB, p50 y p52. En ausencia de estímulos, NF-κB se mantiene en estado inactivo en el citoplasma unido a sus proteínas inhibitoras IκB alfa, beta y epsilon.

La vía NF-κB es activada por diferentes receptores celulares, como TNF, provocando la activación de IκB quinasa (IKK), que degradarán a las IκB, provocando la liberación del complejo NF-κB, que podrá traslocarse al núcleo y activar múltiples dianas génicas. Las células HRS

muestran una activación constitutiva de la vía de transcripción NF- $\kappa$ B, tanto de su vía clásica como de su vía alternativa, y éste es probablemente otro de los mecanismos clave en la supervivencia de las células HRS y en la patogénesis del LH. [20] La activación de esta vía se produce por diferentes mecanismos. Puede por una parte producirse gracias a la sobreexpresión de receptores de TNF en las células HRS, como CD40, CD30, CD95, RANK.

También puede ser debida a lesiones genéticas que afectan a la propia vía de señalización NF- $\kappa$ B. Actualmente se conocen múltiples lesiones genéticas en esta vía, como ganancias o amplificaciones del gen *REL* que codifica para uno de los factores NF- $\kappa$ B, inactivación del gen *NF $\kappa$ B1A* que codifica para I $\kappa$ B alfa (principal inhibidor de la vía clásica de NF- $\kappa$ B), inactivación de NF $\kappa$ BIE (que codifica para el factor inhibidor I $\kappa$ BE) o inactivación del gen supresor tumoral *TNFAIP3* que en condiciones normales codifica para A20 provocando la inhibición de la vía NF- $\kappa$ B e induciendo la apoptosis mediada por TNF. [21]. Los trabajos que han identificado estas mutaciones refieren frecuencias de entre el 20 y el 70% en los casos de LH estudiados. No obstante, no existe información referente a que ocurran más de una de estas lesiones. Cabe la posibilidad de que sea necesaria la coexistencia de dos o más de estas lesiones para que se produzca la fuerte actividad que presenta esta vía en el LH. [19]

Otra vía de señalización que presenta alteraciones importantes es la vía de señalización *Jak-Stat*, postulándose que también contribuye de forma fundamental a la proliferación y a la resistencia a la apoptosis de las células HRS. Se han observado un aumento importante de las citoquinas que pueden inducir la activación de la vía, así como altos niveles de STAT3, STAT5 y STAT6 fosforiladas en las células HRS. También se han observado lesiones genéticas que afectan a esta vía, como serían mutaciones inactivadoras de SOCS1, el principal inhibidor de esta vía, o ganancias o amplificaciones de JAK2. Recientemente se ha descrito que JAK2 se encuentra en la región cromosómica 9p24, donde se encuentran 3 genes más (PD1, PD-L1 y PDL2) que podrían también contribuir al escape de las células HRS de la apoptosis. Así, una única lesión genética, la ganancia de 9p24, podría implicar a al menos 4 genes patogénicamente relevantes. [14]

### **1.3.3. Interacción entre células HRS y microambiente**

El microambiente que rodea a las células HRS es único entre los linfomas, tanto por su complejidad celular (linfocitos T CD4 y CD8, células B, células plasmáticas, eosinófilos, fibroblastos, macrófagos, mastocitos, neutrófilos) como por su representatividad, dado que supone el 98% de la celularidad del LH. Este microambiente es vital para la iniciación y progresión de las células tumorales. Las células HRS atraen a estas células mediante secreción de citocinas y quimiocinas. Esto lo demuestra el hecho de la dificultad para conseguir el crecimiento de las células HRS en cultivos o en ratones de experimentación inmunodeficientes, o de detectarlas en sangre periférica. [22]

A su vez, promovería la supervivencia de las células HRS y las ayudaría a escapar de la citotoxicidad por células T o células NK. Numerosas asociaciones se han demostrado ya, siendo especialmente importante la interacción con las células T. Las células T son la principal población celular infiltrante en este tumor y las que están en contacto más próximo con las células HRS. Estas células T se unirán mediante sus ligandos CD40L y CD28 a los ligandos CD40 y CD86 de las

células HRS y su unión provocará la estimulación de la vía NF- $\kappa$ B y la inhibición de células T citotóxicas y de células NK mediante células Treg y por las propias células HRS. [19]

#### **1.3.4. VEB y relación etiopatogénica con el LH**

En la actualidad, pese a los conocimientos existentes, el papel patogénico del VEB en el LH sigue siendo cuestionado por algunos investigadores. En primer lugar por el hecho de que el 60% de los LH se desarrollan sin la presencia del VEB. Otros motivos son el restringido patrón de expresión de los genes del VEB (por ejemplo el gen inductor de proliferación EBNA2 no se expresa), la ausencia de las moléculas de señalización de LMP2A, y la similar activación de la vía NF- $\kappa$ B en los casos de LH VEB positivos y LH VEB negativos.

Existen numerosas observaciones que apoyan el papel etiopatogénico del VEB en el LH. En primer lugar, el hecho de que en los casos en que se detecta VEB en las células HRS se ha demostrado que la infección es clonal, lo que prueba que la infección ocurrió previamente a la transformación maligna, y que apoya la hipótesis de su acción causal en el LH. [23]. En segundo lugar, la relación inversa entre la expresión de múltiples receptores de vías tirosin-quinazas y del VEB en las células HRS, que podría indicar que el VEB puede realizar sus funciones. En tercer lugar la presencia de mutaciones en los genes de Ig que ocurre de forma casi exclusiva en los casos VEB positivos, indicando que el VEB es necesario para rescatar de la apoptosis a las células B de centro germinal que son portadoras de esta mutación.[24] Lo mismo ocurre con los casos de LH con mutaciones a nivel de Ig V (mutaciones que previenen de la expresión de BCR), que también son mayoritariamente VEB positivos.[59] Por último, el hecho de que mutaciones de genes inhibidores de NF- $\kappa$ B, en particular TNFAIP3, se produzcan más frecuentemente en casos de LH VEB negativos sugeriría que estas mutaciones substituirían el papel que realiza LMP-1. [18]. Esas son algunas de las evidencias que existen a favor del papel del VEB en el LH.

¿Cuáles serían los mecanismos mediante los cuales el VEB puede contribuir a la aparición y progresión del tumor?

El VEB expresa en el LH el patrón de latencia II. Este patrón comprende un perfil de proteínas cuyas funciones aun no parcialmente conocidas, pero que serán las que son responsables del potencial oncogénico del virus. Como vimos anteriormente, EBNA1 se encargaría del mantenimiento del genoma viral y de su replicación, LMP1 actuará como oncogén, activando la vía NF- $\kappa$ B y otras vías de señalización, LMP2A contribuirá a la persistencia de los linfocitos B anómalos y, al igual que los EBER, también sería responsable de las alteraciones del ciclo celular y de la apoptosis.

Existen otros argumentos a favor de la relación entre el VEB y el LH, como es la alta frecuencia de LH VEB positivos en pacientes afectados de infección por VIH/SIDA o en pacientes sometidos a trasplante medular o trasplante de órgano sólido. [25] Es claramente evidente como el estado inmunitario es determinante en la relación entre el virus y el tumor. Trabajos recientes observan una fuerte asociación entre LH VEB positivo y HLA tipo I, lo que sugeriría que algunos haplotipos HLA podrían condicionar una débil respuesta específica citotóxica por linfocitos T (CTL) ante la

infección por el VEB, lo que provocaría una respuesta subóptima con niveles elevados de VEB y un riesgo elevado de transformación y de aparición posterior de LH VEB positivo.

Por último debemos recordar el concepto oncogénico propio de la virología tumoral conocido como “hit and run”. Es un hecho bien documentado que el genoma viral, ya sea insertado en el ADN celular o co-replicándose en forma de episoma puede desaparecer de las células neoplásicas. La adquisición transitoria de genoma viral sería suficiente para inducir cambios en las células en las que se inserta (activación de oncogenes, silenciamiento de genes supresores tumorales etc.), pudiendo desaparecer posteriormente y no ser necesario para el mantenimiento y progresión del proceso neoplásico. [26] Gracias a las nuevas técnicas de secuenciación, se han podido identificar fragmentos de genoma viral en tejidos predisplásicos, en fases precoces del desarrollo neoplásico, o incluso se puede descubrir la “firma epigenética”, los cambios epigenéticos generados por el virus en el epigenoma de las células huésped, incluso con una ausencia total de material genético del virus en las células neoplásicas. Este mecanismo se ha observado en los virus de Hepatitis B y C, adenovirus, poliomavirus, papilomavirus, KSHV, HTLV-1 y también en el virus VEB. [27]

Existirían por lo tanto mecanismos genéticos y epigenéticos que activaría el virus, pudiendo desaparecer posteriormente y no ser por lo tanto detectable en las células tumorales. Por lo que se han observado casos de pacientes afectados de LH VEB positivo, que presentan una recidiva tumoral tras la remisión, con similares características clínicas, histológicas e inmunohistoquímicas que al debut, pero en los que tras realizarse los estudios diagnósticos del VEB se demostró que el VEB era negativo.

### **1.3.5. Presente y futuro del LH**

La patogénesis molecular del LH es compleja; en los últimos años se han realizado numerosos avances en cuanto a su comprensión. El LH es una neoplasia clonal de linfocitos B, con células que pierden la expresión de marcadores B debido a un proceso de reprogramación transcripcional. El VEB desempeña un papel muy importante en la patogénesis de un considerable número de casos, contribuyendo a la supervivencia, proliferación y reprogramación de las células HRS. Múltiples factores de transcripción y vías de señalización se encuentran disreguladas en las células HRS, siendo la más importante NF- $\kappa$ B. La infección por el VEB conduce a la activación de NF- $\kappa$ B en los casos de LH VEB positivos, detectándose mutaciones de genes reguladores e inhibidores de NF- $\kappa$ B en los casos LH VEB negativos. La interacción entre las células HRS y el microambiente puede ser muy importante para la supervivencia, proliferación y evasión de la respuesta inmune de las células HRS.

## **1.4. DISREGULACIÓN DEL CICLO CELULAR Y LA APOPTOSIS EN EL LH**

### **1.4.1. VEB y relación con ciclo celular y apoptosis en el LH**

Las proteínas LMP1 y LMP2A del VEB son las principales responsables de las alteraciones que el VEB provoca sobre el ciclo celular y la apoptosis. Como ya hemos explicado, LMP-1 actuará como un receptor activo CD40, activando a NF- $\kappa$ B mediante la vía TRAF. También mediará en la activación de otras vías como AP1 (vía JNK/c-Jun), ATF2 (vía p38/MAPK) y sobre la vía Jak-STAT. Además, puede inducir la producción de citoquinas IL-6 e IL-10. A su vez,

LMP2A aumentará la expresión de genes asociados a inducción de ciclo celular e inhibición de apoptosis (Ki67, ciclina A, Bcl-xl, survivina) y provocará además la disminución de la expresión de factores específicos de célula B. [20]

Algunos trabajos sugieren la posibilidad de que EBER provoque la supresión de la transcripción de p21 y también la disminución de sus reguladores positivos como p53, EGR1 y STAT1. Además se ha observado que esta supresión de p21 se asociaría con resistencia a agentes quimioterapéuticos cuyo mecanismo de acción es precisamente la inducción de la apoptosis estimulando la producción de p21. Esto podría indicar que EBER tiene un efecto antiapoptótico al inhibir a p21 probablemente mediante p53, STAT1 y EGR1. [28]. Existen gran número de trabajos que han analizado extensamente como influye la presencia del VEB en la expresión de proteínas de ciclo celular y apoptosis, y en bastantes ocasiones los resultados son conflictivos o contradictorios. No obstante, tras la revisión de la literatura existente podríamos concluir que no parece existir correlación entre el status del VEB y el índice apoptótico mediante el método TUNEL, pero en cambio parece ser que los casos de LH VEB positivos podrían presentar un perfil inmunohistoquímico específico, con alta expresión de STAT 1 y STAT3 y baja expresión de p53, Hdm2, p27, ciclina E, CDK6 y proteínas Bcl-xl. [29]

## **2. VIRUS DEL EPSTEIN BARR**

### **2.1. INFECCIÓN Y PATRONES DE LATENCIA**

El virus de Epstein Barr (VEB) es un herpes virus humano de la subfamilia *gammaherpesviridae*. Es un virus de doble cadena de ADN que comprende aproximadamente 170 kilobases y que codifican más de 85 genes [30]. La infección por VEB suele ser asintomática y ocurrir en la infancia; cuando ocurre de forma más tardía, en la adolescencia, puede dar lugar a un trastorno linfoproliferativo benigno y transitorio que será el responsable del cuadro clínico conocido como mononucleosis infecciosa. Es un virus linfotrópico que se transmite por la saliva y que infecta al 90% de la población mundial. [31]

El ciclo vital del VEB es bifásico, al igual que otros herpes virus, pudiendo establecer infecciones latentes (persistentes) y replicativas (productivas, líticas). Durante la fase replicativa existirá una extensa transcripción del genoma vírico, con una amplia expresión de proteínas víricas. En cambio su expresión será muy restringida durante la fase de latencia. [32]. Tras la primo infección inicial en los órganos linfoides orofaríngeos, el virus se establecerá en forma de infección latente y de forma indefinida en los linfocitos B de memoria, en forma de episoma (ADN circular), integrándose su ADN en el núcleo de la célula infectada. Posteriormente realizará episodios de reactivación, con replications líticas episódicas en las células B y en las células epiteliales, mecanismo esencial para su diseminación célula a célula y huésped a huésped. [33]

Se han establecido diferentes patrones de expresión del material genético del VEB. En la fase de infección latente manifiesta el patrón III de latencia, o programa de crecimiento. Este programa engloba la expresión de seis antígenos nucleares del VEB (EBNA-1, EBNA-2, EBNA-

LP, EBNA-3A, EBNA-3B Y EBNA-3C), tres proteínas de membrana latentes (LMP-1, LMP-2A y LMP-2B), dos pequeños RNAs no codificantes (EBER-1 y EBER-2), y los transcritos de la región BamH1A. [34]

Este patrón se asocia con la transformación de las células B (inmortalización) mediante Pax 5, que actúa como activador específico de la transcripción de células B. Así, las células B naïve infectadas entran en el centro germinal, donde proliferan y se expanden clonalmente, aumentando por tanto el pool de célula infectadas por VEB. Posteriormente adoptarán el patrón de latencia II (programa por defecto), que se caracteriza por expresar únicamente EBNA1, LMP-1, LMP-2A, LMP-2B, EBER-1 y EBER-2. Por último el virus entra en fase totalmente latente, permaneciendo en los linfocitos B de memoria, con disminución muy importante de su expresión proteica, siendo únicamente LMP-2A la proteína expresada. [35]

El VEB se ha relacionado con el desarrollo de neoplasias malignas de células B y de células epiteliales. Estas incluyen al linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, Linfoma de Hodgkin, así como cánceres en pacientes inmunocomprometidos, como en la enfermedad linfoproliferativa post trasplante, linfoma asociado a SIDA, carcinoma gástrico. [36] Estos tumores presentarán diferentes patrones de latencia, que de alguna forma aun no bien establecida, podrían explicar la relación entre el VEB y dichos tumores. Así por ejemplo, en el caso del linfoma inmunoblástico, el VEB presenta un patrón de latencia III, en cambio presentará patrón de latencia II en el carcinoma nasofaríngeo, en los linfomas de célula T y en el linfoma de Hodgkin y patrón de latencia I cuando se asocia al linfoma de Burkitt, asemejándose al patrón que presentan los linfocitos B de memoria. [37]

Los genes del VEB y las funciones que en la actualidad se les reconocen, son los siguientes: [34]

- **EBNA-1** es el responsable del mantenimiento del genoma, se une al episoma y provoca la replicación del DNA viral. También desempeña un papel a nivel de la regulación de la transcripción de las otras proteínas latentes nucleares. Además puede provocar por un lado la disminución de la protein-tirosin fosfatasa-Kappa, que es un gen supresor tumoral, así como el aumento de CCL20 que provocará un efecto de atracción al microambiente de células T reguladoras (Treg). [33]
- **EBNA 2 y 3** son reguladores transcripcionales. EBNA-2 puede activar a algunos genes virales, como LMP1 Y LMP2. EBNA-3 también pueden jugar un papel a nivel de la transformación de las células B, y concretamente EBNA-3C permite escapar a los puntos de control del ciclo celular. [38]
- **LMP-1** es el mayor efector de cambio celular, la principal proteína oncogénica del VEB. Puede imitar o actuar como un receptor CD40 activo, vía de señalización que mediante la vía TRAF activará a NF-κB. La activación de esta vía de señalización provocará la inhibición de la apoptosis, mediante la sobreexpresión de bcl-2 y de otros genes. También puede mediar en la activación de otras vías de señalización como AP1 (mediante JNK/c-Jun), ATF2 (mediante

p38/MAPK), y en la activación de la vía Jak-STAT. Mediante la activación de estas vías de señalización provocará un cambio en la expresión génica del VEB. [34]

- **LMP-2A** es una proteína que tiene la capacidad de puede sustituir la función de BCR, por lo que las células precursoras B infectadas por el VEB que expresan LMP2A podrían sobrevivir sin BCR. Además puede activar la vía Notch, provocando la alteración de los niveles de factores de transcripción E2A y EBF, y favorecer la expresión de genes asociados con la inducción del ciclo celular y la inhibición de la apoptosis. (Ki67, ciclina A, PCNA, Bcl-xl, survivina). Por último, puede desempeñar también un papel importante en la disminución de la expresión de marcadores de célula B [39].
- **LMP-2B:** su función es insuficientemente conocida
- **EBER 1 y 2** pueden desempeñar algún papel patogénico en el linfoma de Burkitt. Trabajos recientes sugieren que podría actuar suprimiendo la transcripción de p21cip/ waf y aumentando la resistencia a la apoptosis mediante la acción inhibitoria sobre p53, EGR1. Este mecanismo podría ser un evento de gran importancia en el desarrollo de estos linfomas. [40]

Así, LMP1 y LMP2A, mediante CD40 y BCR respectivamente, contribuyen a la selección y supervivencia de las células B del centro germinal infectadas por el VEB, además de la ya explicada contribución a la pérdida de expresión de fenotipo B en las células HRS VEB positivas. [42].

## 2.2. DETECCIÓN DE MARCADORES DEL VEB EN LOS TEJIDOS

### 2.2.1. Detección de antígenos víricos (técnicas inmunohistoquímicas)

La demostración *in situ* de antígenos codificados por el VEB en las células linfoides proporciona una suficiente evidencia de la infección vírica. Las técnicas iniciales de inmunofluorescencia fueron dirigidas a la detección de EBNA-1, dado que este antígeno se expresaba en todas las formas de infección del VEB. Posteriormente se pasó a la determinación de EBNA-2 y de LMP-1 también por técnicas inmunohistoquímicas (IH) mediante anticuerpos monoclonales, como PE2 para EBNA-2 y S12 y CS.1-4 para LMP-1. Son técnicas de realización prácticamente universal, bien estandarizadas y de alta seguridad. [43]

LMP-1 da una alta señal localizada en el citoplasma y en la membrana celular. Es una técnica rápida y que puede dar falsos negativos si la preparación de la muestra no es correcta y el tejido no está bien fijado. También se debe tener en cuenta el riesgo de falsos positivos que puede darse al marcar a los eosinófilos y las células plasmáticas, aunque raramente se expresan en linfocitos del microambiente tumoral. [32]

### 2.2.2. Detección de ácidos nucleicos

- Hibridación basada en filtros: se puede detectar DNA y RNA del VEB en tejidos purificados extraídos por técnicas de Dot-blot y Southern blot y por Northern blotting respectivamente. Estas determinaciones deben realizarse preferentemente en tejido fresco o congelado. La técnica de Southern blot de las regiones terminales del genoma nos puede

suministrar información referente a la clonalidad del virus y la fase de latencia en la que se encuentra (fase latente o fase replicativa). [44]

- Técnicas de reacción de polimerasa en cadena (PCR): mediante la utilización de diferentes primers, o secuencias promotoras, detectaremos ADN del VEB. Esta técnica puede realizarse tanto en tejido fresco como en tejido parafinado. Tiene una alta o muy alta sensibilidad que permitirá, en función de las condiciones de amplificación, detectar señal del VEB en linfocitos infectados no neoplásicos, por lo que una determinación positiva de PCR para VEB debe ser interpretada con precaución por el riesgo de que sea un falso positivo. Por lo tanto siempre es recomendable que ésta técnica se realice conjuntamente con las técnicas in situ (detección de antígenos hibridación), pues permiten identificar la localización celular de la señal positiva de la técnica de PCR. [45]

También pueden realizarse técnicas de RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) para detectar transcritos RNA del VEB, que será de utilidad para analizar el patrón de expresión genético del VEB. Ambas técnicas pueden realizarse en células aisladas extraídas del tejido tumoral por técnicas de micro manipulación. Una tercera opción sería la amplificación secuenciada de ácidos nucleicos (NASBA). [37]

- Hibridación in situ (ISH): la identificación del origen celular de ácidos nucleicos virales requiere del uso de técnicas de ISH. Los transcritos de EBER son tan abundantes en la infección latente que aportan una gran sensibilidad a la técnica, incluso en muestra en parafina. Esta técnica combina las ventajas de ISH (buena morfología y conservación de la integridad tisular) con una sensibilidad comparable a las técnicas de PCR, proporcionando por lo tanto una diana excelente para la detección y la localización de las células infectadas por el VEB. No obstante no está exenta de riesgo de falsos positivos (infección de algunos linfocitos B, reacción cruzada con mucina, levaduras o materiales vegetales), o de falsos negativos debidos a degradación del RNA [46].

### **2.2.3. Guías para el diagnóstico de la infección por el VEB en el LH**

En la actualidad no existen unas guías de consenso para el diagnóstico de la infección por el VEB. Existe una gran variabilidad en las técnicas utilizadas por los diferentes grupos investigadores, en la preparación de las muestras, en los anticuerpos utilizados, existe un sesgo atribuible a la interpretación que los patólogos hacen de una muestra, etc. No obstante, entre los años 1990 y 2000 estas técnicas mejoraron y se estandarizaron, y progresivamente la detección de EBER mediante HIS y de LMP-1 mediante IH se fue estableciendo como las dos técnicas de elección.

El grupo de Glaser y Gulley intentó analizar la fiabilidad y seguridad del diagnóstico mediante EBER y LMP-1. Inicialmente realizaron un trabajo en el que evaluaban el grado de acuerdo que existía entre diferentes investigadores al revisar muestras, y observaron que el consenso de interpretación se consideró fácil en un 70% de los casos, intermedio en el 24% de los casos y difícil en un 7% (resultados muy similares para EBER y LMP-1). En este mismo trabajo elaboraron

unas guías con recomendaciones para estandarizar la preparación e interpretación de estas técnicas. [47]

Posteriormente realizaron un nuevo trabajo que evaluaba la fiabilidad de los diagnósticos analizando el grado de concordancia en la detección del VEB cuando un mismo investigador la realizaba en momentos diferentes, concordancia entre diferentes investigadores, y el grado de acuerdo entre ambas técnicas. Se consideró que el acuerdo fue entre bueno y muy bueno, con índices Kappa globales de entre 0.60 y 0.78, aunque en función del subtipo histológico, de si el tumor era VEB positivo o VEB negativo, de la preparación realizada etc. estos índices podían variar considerablemente (alcanzando a valores Kappa de 0,47). Así, concluyen de nuevo que pese a que el grado de acuerdo entre ambas técnicas fue bueno, la comparación entre los resultados obtenidos por los diferentes estudios existentes debe realizarse con precaución. [48]

En cuanto a la utilización de las técnicas de detección de ADN mediante PCR, dado que no son capaces de localizar al VEB, se considera que tienen un riesgo considerable de detectar dicho ADN en linfocitos “inocentes” y no en las células tumorales, es decir, de presentar falsos positivos, por lo que su uso ha ido disminuyendo progresivamente. No obstante, algunos grupos, incluso trabajos recientes, insisten en su utilidad y fiabilidad si son realizadas de forma correcta. [45]. En este caso la dificultad en la interpretación de los resultados se debe a la existencia de diferentes secuencias promotoras del DNA del VEB a estudiar. Cada grupo puede utilizar una o varias de estas sondas, lo que dificultara en gran manera la comparación de los resultados de los diferentes trabajos.

#### **2.2.4. Detección de ADN del VEB en suero**

Diversos grupos han investigado la detección de ADN del VEB en suero de pacientes afectados de LH. La identificación de idénticos reordenamientos de inmunoglobulinas en las biopsias y en las muestras de suero demuestra que puede detectarse ADN de las células HRS en sangre periférica mediante técnicas de PCR convencional y cuantitativa. Además, en estudios realizados en niños y adultos afectados de LH, se ha observado correlación entre carga vírica en suero y/o plasma y respuesta terapéutica, tanto si entran en remisión, con significativa reducción de la carga hasta niveles indetectables, como en casos de mala respuesta o recaída, en los que se observa un rápido incremento de los niveles de ADN en sangre. [49]

### **3. EPIDEMIOLOGIA**

#### **3.1. FACTORES DE RIESGO DE LH**

##### **3.1.1. Genéticos y familiares**

Existen diferentes datos y trabajos que apoyan la existencia de una base o predisposición hereditaria en el LH. Estudios epidemiológicos reportan una agregación de aproximadamente un 4-5% de pacientes en familias. Así, los hermanos de un paciente tienen un riesgo 7 veces mayor que la población general. La predisposición familiar es particularmente importante en gemelos monocigotos, puesto que éstos tienen un riesgo 99 veces mayor de desarrollar LH que en gemelos

dicigotos. También existe una variación étnica. La población asiática presenta menor incidencia que población caucásica, independientemente de su lugar de residencia. [50]

Durante los últimos 35 años diferentes antígenos se han asociado con LH, tanto familiar como esporádico. Existen trabajos recientes que apuntan a la asociación entre LH VEB positivo y HLA tipo I. Estos trabajos nacen a partir de la conocida relación existente entre LH y VEB en pacientes inmunodeprimidos. Se cree que algunos alelos HLA podrían asociarse con una baja afinidad por péptidos inmunogénicos derivados del VEB. De esta forma, existirían algunos haplotipos HLA que podrían predisponer a la aparición de LH VEB positivos. [51]

Los estudios iniciales de asociación entre LH y HLA se practicaron sin tener en cuenta el status VEB. Se describieron asociaciones con HLA-A1, HLA-B5, HLA-B8 y HLA-B18, aunque el grado de reproductibilidad de estos estudios fue bajo. [85]. Estudios posteriores detectaron una alta asociación entre alelos HLA-A y VEB. Así, HLA-A1 se ha asociado con un riesgo aumentado de LH VEB positivo, y HLA-A2 se ha asociado con bajo riesgo de LH VEB positivo. [52]

### **3.1.2. Factores infecciosos**

En las primeras descripciones del LH ya se sugirió una probable etiología infecciosa debido a su presentación clínica, características epidemiológicas etc. Además la descripción de algunos “clúster” de pacientes (en institutos, barrios), apoyarían esta hipótesis del agente infeccioso desencadenante, sin poderse descartar la posibilidad de algún agente medio ambiental que hasta ahora nunca se ha podido establecer. [53]

Se han estudiado otros agentes infecciosos como potenciales candidatos o cofactores en el desarrollo del LH. Entre ellos estarían citomegalovirus, HHV 6, 7 y 8, poliomavirus JC y BK, SV40, papovavirus linfotrópico, adenovirus, paramyxovirus y virus 1 humano T linfotrópico.

### **3.1.3. Edad, nivel socioeconómico y ambiente infantil**

La incidencia del LH es diferente en función de la zona geográfica que estudiamos. En los países subdesarrollados el pico de incidencia ocurre en la edad infantil y en cambio en países desarrollados es en adultos jóvenes. [7]. Además, diversos estudios poblacionales demostraron que el tamaño de la familia, aunque es un indicador de clase social, persistía como factor de riesgo de desarrollar LH tras corregir otras variables como educación, clase social, tipo de vivienda, historia previa de mononucleosis infecciosa, etcétera.

### **3.1.4. Inmunodeficiencias**

Es un hecho conocido que los estados de inmunosupresión y de sobre estimulación inmunológica aumentan el riesgo de desarrollar LH. [54] En los pacientes sometidos a trasplante alogénico de médula ósea el riesgo de LH aumenta en 5-6 veces respecto a la población general, siendo este riesgo aun mayor, entre 18 y 22 veces el esperable en la población general, en los pacientes afectados de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. [55]. Otros pacientes con riesgo aumentado de LH son los afectados de inmunodeficiencias primarias, como síndrome de Wiskott-Aldrich, inmunodeficiencia común variable y ataxia-telangiectasia.

## **3.2. RELACIÓN ENTRE VEB Y LH**

La demostración de la asociación entre el VEB y LH se ha demostrado por numerosos estudios sero-epidemiológicos en los que se detectaron altos niveles de anticuerpos contra el VEB y contra antígenos de la cápside viral en pacientes afectos de LH respecto a los controles. [56]. A nivel celular se han detectado componentes del VEB como EBER, EBNA y LMP en el interior de las células HRS. Además se ha demostrado la clonalidad del VEB detectado en estos tumores, lo que implica que las células HRS fueron infectadas previamente a la malignización. [19]

### **3.2.1. Mononucleosis infecciosa y LH**

Los primeros estudios que apuntaron la relación entre el VEB y el LH fueron realizados a partir de observaciones realizadas sobre la Mononucleosis Infecciosa. Estudios epidemiológicos ya demostraron hace 25 años que el antecedente de MI triplicaba el riesgo de LH, y que los pacientes afectos de LH, antes de desarrollar la enfermedad, tenían títulos de anticuerpos contra el VEB mayores que los controles. [57] Otro trabajo del mismo grupo demostró que pacientes con evidencia serológica de infección por el VEB tenían un riesgo 2.5 - 4 veces más elevado de desarrollar LH que las personas sin infección. [58]. La afectación del grupo de edad de adultos jóvenes dio lugar a la interpretación de que esta asociación revelaba una aparición tardía de la infección por VEB en pacientes de un nivel socioeconómico alto. [50]

Además, estudios recientes han aportado resultados contradictorios, en cuanto a la relación entre MI y LH, probablemente por sesgos y diferencias metodológicos. Esto volvió a generar una cierta discusión en cuanto al papel etiopatogénico del VEB. [59]. Un trabajo reciente parece aportar una evidencia definitiva. Es un estudio poblacional realizado en Dinamarca y Suecia que recoge un total de 586 pacientes y 3187 controles, en el que se revisa la presencia del VEB y se documenta la historia de MI, recogiendo además información exhaustiva sobre posibles factores de confusión relacionados con factores de riesgo socioeconómicos de desarrollo de LH (características de la familia, nivel educacional, tipo de casa). Este trabajo demostró que MI se asociaba, con significancia estadística y sin posibilidad de que se debiese a factores de confusión, con un riesgo elevado de LH EBV positivo y no con LH EBV negativo, y además se demostró que la enfermedad se desarrollaba con una media de 2.9 años (1.8-4.9 años) tras la infección. Se considera que este estudio es definitivo en cuanto a la demostración de la relación entre MI y desarrollo de LH. La teoría "hit and run" puede explicar, al menos parcialmente, algunas de las paradojas expuestas previamente.

### **3.2.2. VEB y subtipos histológicos**

El subtipo histológico es el mayor predictor de que un LH se asocie a VEB, pues se detecta en el 75% de los casos subtipo CM y solo en un 25% de los casos EN. Además un hecho característico es que el VEB prácticamente no se asocia con el subtipo PL. [50]. Como hemos visto algunos autores apoyan la hipótesis de que será el propio VEB el que inducirá que el LH morfológicamente se exprese en su subtipo histológico CM. [60]. El trabajo multicéntrico de Glaser et al, muestra como hay un gran predominio de infección por VEB en el subtipo CM, prácticamente independiente de la edad de los pacientes.

### **3.2.3. VEB y zona geográfica**

La asociación del VEB con el LH es mucho mayor en las zonas geográficas propias de los países menos desarrollados, como Asia, África y Centro/Sudamérica, con positividad del VEB entre un 43 y 95%, que en EEUU o Europa, donde los estudios detectan presencia del VEB en 22-53% de los pacientes. [7] Siempre se debe tener en cuenta que las técnicas diagnósticas realizadas pueden representar un sesgo.

### **3.2.4. VEB y edad, sexo y raza**

En países desarrollados el LH se presenta con la conocida curva bimodal, con picos de incidencia en adultos jóvenes y personas mayores de 60 años. En cambio la mayor incidencia de LH VEB positivos es en niños y personas mayores de 70 años. En población pediátrica, la incidencia de asociación de VEB al LH está entre 54-100% en estudios realizados en Asia, África, Centroamérica y Sudamérica, y entre 28-59% en estudios europeos y norteamericanos. De nuevo se debe tener en cuenta la consideración anterior. [61]

El LH VEB positivo, al igual que el ocurre en el LH en general, es más frecuente en pacientes de sexo masculino que de sexo femenino (prácticamente presenta el doble de incidencia, 47,7% vs 29.2%). Esta diferencia es especialmente importante en adultos jóvenes, lo cual ha motivado que algunos autores investiguen sobre los posibles mecanismos protectores en mujeres adultas jóvenes, (mecanismos inmunosupresores mediados por el embarazo, etc.). [50]

En cuanto a la raza, mientras que el LH es más frecuente en general en pacientes de raza blanca, el LH VEB positivo es más frecuente en pacientes de origen hispano, asiático o indio (60-65%), algo menos frecuente en pacientes de origen caucásico (35%), y es menos frecuente en pacientes de raza negra (16%). Un grupo étnico con ciertas particularidades es el de origen afroamericano, como son el predominio de subtipo histológico EN, y que en ellos no se aprecia el predominio en sexo masculino que se aprecia en la población general. [50].

### **3.2.5. VEB y pronóstico**

Los estudios sobre la influencia del VEB en el pronóstico y el riesgo de recidiva son controvertidos. Esto puede ser reflejo de problemas derivados de las técnicas diagnósticas, problemas metodológicos a la hora de comparar los resultados que aportan los estudios realizados, etc.

Así, concretamente tres estudios poblacionales recogen una marcada disminución de la supervivencia en pacientes mayores de 60 años VEB positivos respecto de los pacientes VEB negativos. Uno de ellos también aporta los siguientes datos: los pacientes afectos de LH VEB positivos son de mayor edad, suelen presentarse con enfermedad avanzada y síntomas B y muestran una tendencia a una menor supervivencia comparando con los pacientes LH VEB negativos. No obstante, en uno de ellos el tamaño de muestra era pequeño, otro fue realizado únicamente en población mayor de 60 años, y el otro en mujeres. Así cada uno de ellos tiene que ser interpretado con ciertas precauciones.

## **4. ESTUDIOS PREVIOS**

### **4.1. ESTUDIOS REALIZADOS EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA**

#### **4.1.1. Países desarrollados**

Existen muy escasos trabajos realizados únicamente en población pediátrica. Weinreb et al. En Reino Unido estudian 74 casos de pacientes pediátricos afectados de LH. El VEB está presente en el 50% de los casos (determinado mediante LMP1), y se asocia con estadio IV de presentación y subtipo histológico CM. [62]

Además de Brousset et al en Francia, y el de Kanavaros et al en Grecia, revisando pequeñas series de 13 y 22 pacientes respectivamente. Kanavaros observa presencia del VEB en el 54% de los casos y asociación con CM, y Brousset por su parte comparan un pequeño grupo de pacientes afectados de LH y otro grupo de pacientes afectados de linfoma anaplásico. En el grupo de LH observan la presencia del VEB en el 54% de los casos, y en cambio no está presente en ninguno de los pacientes afectados de linfoma anaplásico. [63]

Así, Armstrong et al comparan un grupo de 55 pacientes, 22 originarios de Reino Unido, 25 de Brasil y 9 de Arabia Saudí. Únicamente observan diferencias de presencia del VEB con estudios previos realizados en adultos jóvenes, pero probablemente por el pequeño tamaño de muestra no aprecian diferencias significativas entre los 3 grupos ni en presencia del VEB, ni en función de la edad ni del sexo de los pacientes. [64]

Ambinder et al. Además de Razzouk et al. Realizaron estudios similares, comparando niños afectados de LH de Honduras y niños de USA, y población de Brasil y de USA respectivamente. [65] Podemos analizar con más detalle 2 trabajos realizados en población pediátrica y adulta en Argentina y Brasil, que podrían corresponder a zonas con patrones epidemiológicos II, o según la zona concreta estudiada, patrones I o III.

De Matteo et al. Realizaron un estudio retrospectivo analizando 92 casos pediátricos de LH (0-16 años) y 81 adultos. Un punto de partida interesante y común a muchos de estos países es la precocidad de la primo infección por VEB, pues refieren que en Argentina el 90% de los niños menores de 6 años ya ha sufrido la infección por VEB. En su estudio detectan presencia del VEB asociada a LH en el grupo pediátrico del 55% y en el adulto del 31%. Dentro del grupo pediátrico el VEB está mucho más presente en el grupo de 2 a 10 años (75% de los casos) que en el de 11-16 años (30% de los casos). Dentro del grupo de adultos se detecta el VEB únicamente en un 14% de los casos en el grupo de 17 a 35 años, y en cambio tanto en el grupo de 36 a 50 años como en el de mayores de 50 años el VEB fue positivo en el 50%. Por subtipos histológicos, resaltar que en el grupo pediátrico el subtipo histológico más frecuente fue CM (52%), y dentro de ellos, el VEB fue positivo en el 77 % de los casos. Concluyen sugiriendo que sus datos apoyan la teoría de que el VEB está directamente envuelto en la patogénesis del LH en los niños menores de 10 años. [66]

El segundo estudio, realizado en Brasil por Elgui de Oliveira et al, analiza un total de 96 pacientes afectados por LH, 65 pediátricos y 31 adultos, e intentan estudiar las diferencias de incidencia del VEB escogiendo pacientes originarios de 2 zonas geográficas diferentes, una de perfil socioeconómico alto y la otra más deprimida. Observan una incidencia global de infección por VEB en el 64% de los pacientes, que es más importante en los pacientes pediátricos de origen subdesarrollado (80%) que en los de zona desarrollada (63%). El escaso número de pacientes adultos y el amplio rango de edad que abarcan (desde los 20 a los 80 años) hace imposible obtener más resultados. [67]

#### **4.1.2. Países en vías de desarrollo**

Barros et al. Publicaron recientemente un estudio realizado en población exclusivamente pediátrica en Brasil. Sugieren que en los últimos años puede haberse producido un cambio de patrón epidemiológico en su área, dado que analizan 100 pacientes afectados de LH en Rio de Janeiro, de entre 3 y 18 años, y la mayoría de casos ocurren en pacientes por encima de los 10 años (73%), identificándose el VEB en un 44% de los casos, sin diferencias entre menores o mayores de 10 años. El subtipo histológico más frecuente es EN (69%), también de forma uniforme en toda la muestra, y el VEB se asoció de forma independiente con el subtipo CM [77]. Posteriormente el mismo grupo ha realizado determinación de subpoblaciones linfocitarias en el microambiente tumoral detectándose que podría existir un infiltrado linfocitario diferente en los casos VEB positivos y en los casos VEB negativos que podría relacionarse con pronóstico, subtipo histológico etc. Este hallazgo les permite sugerir la hipótesis de que el desarrollo del subtipo CM puede resultar de la exposición temprana a VEB en contexto de un sistema inmunitario defectuoso. [68]. No obstante, Araujo et al. Realizaron otro estudio demográfico en Brasil, en el que incluyen 90 casos pediátricos de LH, detectando alta frecuencia de VEB en todos los subtipos, especialmente en CM y DL. [69]

Dinand et al. Estudió la prevalencia de VEB en el LH en niños de India del Norte. Recogen 145 pacientes afectados de LH diagnosticados entre 1991 y 2003. Se detectó la presencia del VEB en 93% de los casos, asociándose a infancia y nivel socioeconómico bajo. No se detectó relación con respuesta al tratamiento ni supervivencia. [70]

Estudio demográfico realizado por Engel et al. En Sudáfrica en 47 pacientes pediátricos afectados de LH (3- 14 años) mostró una presencia del VEB en el 68% de los pacientes, siendo el subtipo histológico dominante el de EN (89% de los casos). En su estudio se observó una tendencia a un mejor curso evolutivo (mejor supervivencia, sintomatología menos agresiva al diagnóstico) en los casos VEB positivos que en los VEB negativos. [71] Por último, Zhou et al. Describió sus resultados tras revisar 104 pacientes pediátricos y 52 adultos afectados de LH en China. La incidencia global de detección de VEB en las muestras tumorales fue del 72%, siendo del 89% en los pacientes pediátricos y del 38% en los adultos. Dentro de los pacientes pediátricos, se detectó en el 95% de los casos de entre 3 y 10 años, y solo en el 54% de los casos entre 11 y 14 años. En adultos el VEB se asoció con más frecuencia con el subtipo CM, y en niños se asoció con todos los subtipos histológicos. [72].

Rendón, M., et al., Estudiaron la incidencia de linfoma en la población mexicana, determinando que la incidencia de linfoma es del 11.8%, la cual corresponde a Enfermedad de Hodgkin el 5% en la población [50].

Palma, Icela y cols, estudiaron la detección del virus de Epstein Barr y el genotipo basado en la proteína EBNA2 en pacientes Mexicanos con Linfoma Hodgkin en niños y adultos, encontrando un total de 66 pacientes con linfoma Hodgkin, donde 42 pacientes eran pacientes pediátricos (63%), de los cuales 32 pacientes resultaron con EBNA2 positivo para Epstein Barr lo que representa un 76.1% de los pacientes pediátricos con Linfoma Hodgkin. [73]

## **JUSTIFICACION**

Es necesario realizar estudios descriptivos retrospectivos para conocer la incidencia acumulada de la Enfermedad de Hodgkin en niños con infección por virus de Epstein Barr en nuestra institución, con la finalidad de identificar cuáles son los pacientes pediátricos que estuvieron expuestos a virus de Epstein Barr corroborado por diversas pruebas diagnósticas realizadas como parte de protocolo de estudio en los pacientes que desarrollaron Enfermedad de Hodgkin, y de esta manera conocer el impacto que tiene el contagio de manera temprana así como la exposición en la etapa de lactante en la población afectada por enfermedad de Hodgkin, para así poder identificar esta entidad como factor de riesgo y realizar de manera temprana o cuando existe una sospecha clínica de Enfermedad de Hodgkin los estudios correspondientes y necesarios para detección de esta infección de manera temprana utilizando los recursos adecuados e idóneos en nuestra población derechohabiente.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Como se ha mencionado con anterioridad los linfomas son la tercera causa de cáncer a nivel infantil, cuyos factores de riesgo se conocen a todos los estados de inmunosupresión congénitos o adquiridos y las infecciones virales tales como la mononucleosis infecciosa. Los factores ya mencionados se han documentado de forma confiable en estudios de centros oncológicos a nivel mundial. Con este trabajo de investigación se busca conocer de forma específica la incidencia, es decir el número de casos nuevos de niños que tengan diagnóstico de Enfermedad de Hodgkin y de manera concomitante infección de virus de Epstein Barr en el servicio de oncología pediátrica del Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" del CMN La Raza.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACION**

¿Cuál es la incidencia de la Enfermedad de Hodgkin en niños con infección de virus de Epstein Barr en el servicio de oncología de Centro médico La Raza de enero del 2014 a junio del 2016?

## **HIPOTESIS GENERAL**

Por cada 10 niños con infección por virus de Epstein Barr, 5 de ellos desarrollan enfermedad de Hodgkin, por lo que se estima una incidencia de Enfermedad de Hodgkin del 0.5% en los niños con infección corroborada por virus del Epstein Barr.

### ***HIPOTESIS ALTERNA.***

La incidencia de Enfermedad de Hodgkin en niños con infección por virus de Epstein Barr es mayor del 0.5% en el servicio de Oncología Pediátrica del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza del CMN La Raza.

### ***HIPOTESIS NULA.***

La incidencia de Enfermedad e Hodgkin en niños con infección por virus de Epstein Barr es igual a 0.5% en el servicio de Oncología Pediátrica del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza del CMN La Raza.

### **OBJETIVO GENERAL**

Se determinó la Incidencia de la Enfermedad de Hodgkin en niños que tuvieron infección de virus de Epstein Barr en el servicio de oncología pediátrica del Centro Medico La Raza durante el periodo de Enero 2014 a Junio 2016.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Se determinó el número de los niños que fueron diagnosticados con infección de virus de Epstein Barr corroborada por PCR o por inmunohistoquímica durante el periodo de Enero del 2014 a Junio del 2016.

Se determinó el número de niños que desarrollaron Enfermedad de Hodgkin confirmada por diagnóstico histopatológico y tuvieron infección por virus de Epstein Barr previamente durante el periodo de Enero del 2014 a Junio del 2016

### **DISEÑO DE ESTUDIO:**

Es un estudio transversal descriptivo retrospectivo.

### **PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS:**

**Lugar donde se desarrollará el estudio:** Servicio de Oncología Pediátrica, del Hospital General Gaudencio González Garza del Centro Médico Nacional La Raza, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de Junio a Noviembre del 2016.

**Población de estudio:** Todos los pacientes pediátricos con diagnóstico de Enfermedad de Hodgkin e infección de virus de Epstein Barr que recibieron tratamiento oncológico en esta unidad durante el periodo de Enero del 2014 a Junio del 2016.

**Criterios de selección:**

**a) Criterios de inclusión:** Pacientes pediátricos con diagnóstico de Enfermedad de Hodgkin mas infección de virus de Epstein Barr en el periodo comprendido de Enero del 2014 al a Junio del 2016.

**b) Criterios de exclusión:** Pacientes que hayan sido diagnosticados con Enfermedad de Hodgkin en otro hospital y los pacientes que no hayan tenido infección por virus de Epstein Barr.

**c) Criterios de eliminación:** Que no se obtengan datos completos del expediente.

**TAMAÑO DE LA MUESTRA:**

Se analizarán los expedientes y reportes histopatológicos de todos los pacientes que tengan biopsia de ganglio en el servicio de Oncología Pediátrica del Hospital General Gaudencio González Garza del Centro Médico Nacional La Raza con diagnóstico de Enfermedad de Hodgkin en el período comprendido de Enero del 2014 a Junio del 2016 con reporte histopatológico de Enfermedad de Hodgkin y que además hayan tenido infección de virus de Epstein Barr corroborada por el hospital de infectología mediante PCR para Epstein Barro bien por el servicio de patología clínica a través de la inmunohistoquímica.

## **DEFINICIÓN DE VARIABLES:**

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDADES DE MEDICIÓN
<b>DETECCION DE VIRUS DE EPSTEIN BARR</b>	Técnica de PCR o inmunohistoquímica además de panel viral que se utiliza para detectar la Infección causada por virus de la familia de los herpes virus, es la mayor causa de mononucleosis aguda infecciosa caracterizado por fiebre, dolor faríngeo, fatiga y adenomegalias.	<p>La detección sérica de IgM para virus de Epstein Barr conocida como mono test tomada de sangre periférica del paciente, no se toma en cuenta IgG elevadas.</p> <p>La detección del virus de Epstein Barr por reacción en cadena de la polimerasa PCR</p> <p>La detección del virus de Epstein Barr por tinción de inmunohistoquímica a través de las tinciones de las proteínas latentes de membrana del virus LMP1 y LMP2.</p>	Cualitativa Independiente	Nominal	<p>Panel viral IgM para virus de Epstein Barr a)positiva b)negativa</p> <p>PCR a)positiva b)negativa</p> <p>Inmunohistoquímica por detección de LPM1 o LPM2 a)positiva b)negativa</p>
<b>ENFERMEDAD DE HODGKIN</b>	Proliferación clonal de linfocitos de estirpe B, que causa infiltración por contigüidad así como a órganos como el hígado, pulmón, médula ósea y huesos provocando disfunción de los mismos y la muerte.	Enfermedad maligna de los ganglios linfáticos que originan metástasis y la muerte. Corroborada por la biopsia de ganglio.	Cualitativa Dependiente	Nominal	<p>1)Presente: a)esclerosis nodular b)celularidad mixta c)depleción linfocítica d)rica en linfocitos e)predominio linfocítico nodular</p> <p>2)Ausente</p>

<b>SEXO</b>	Se refiere a los conceptos sociales de las funciones, comportamientos, actividades y atributos que cada sociedad considera apropiados para los hombres y las mujeres. <sup>29</sup>	Femenino y Masculino, referido en historia clínica	Independiente Cualitativa	Nominal Dicotómica	1. Masculino 2. Femenino
<b>EDAD</b>	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo hasta su inclusión en el estudio. <sup>29</sup>	Edad en la que se realizó la biopsia, registrada en la historia clínica.	Independiente Cuantitativa discreta	Numérica.	0-28 días (Recién nacido) 29 días - 12 meses (lactante menor o infante)  1-2 años (lactante mayor un año a un año 11 meses) 2-4 años (preescolar)  4-9 años (escolar)  9-16 años (adolescente)
<b>INCIDENCIA DE ENFERMEDAD DE HODGKIN EN PACIENTES CON INFECCION POR VIRUS DE EPSTEIN BARR</b>	Es la cantidad de casos nuevos u ocurridos de una enfermedad, un síntoma, muerte o lesión que se presenta durante un periodo de tiempo específico.	Es la probabilidad de que una persona de una cierta población resulte afectada por dicha enfermedad.	Dependiente	Numérica	
<b>TRATAMIENTO POSTERIOR AL DIAGNOSTICO.</b>	Es el conjunto de medios de cualquier clase (higiénicos, farmacológicos, quirúrgicos o físicos) cuya finalidad es la curación o el alivio (paliación) de un padecimiento. <sup>29</sup>	Aquel referido en historia clínica	Independiente Cualitativo	Nominal	QUIMOTERAPIA RADIOTERAPIA  TRASPLANTE DE CELULAS TRONCALES HEMATOPOYETICAS

## **DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO**

A todos los pacientes pediátricos con diagnóstico de infección por virus de Epstein Barr corroborada en el hospital de infectología del CMN La Raza durante el periodo 2014 y 2016 por técnica de PCR o bien por inmunohistoquímica y que posteriormente desarrollaron una enfermedad de Hodgkin y recibieron tratamiento en el servicio de oncología pediátrica del CMN la Raza en el periodo comprendido entre 2014 al 2016 se les realizó revisión de los expedientes clínicos, carnets de quimioterapia así como registros electrónicos médicos incluyendo edad, sexo, diagnóstico histopatológico, inmunohistoquímica y tratamiento que recibieron, en el servicio de oncología pediátrica, después se registraron estos datos en la hoja de recolección para posteriormente vaciarlos a una base de datos en Excel y calcular la incidencia de la Enfermedad de Hodgkin en niños con infección corroborada de virus de Epstein Barr.

## **ANALISIS ESTADISTICO**

*Análisis estadístico.* El análisis estadístico se realizó determinando la incidencia de niños con Enfermedad de Hodgkin en niños con infección de virus de Epstein Barr corroborada por PCR o inmunohistoquímica durante el 2014 al 2016.

Esto se realizó determinando la incidencia acumulada: De todos los niños con infección de virus de Epstein Barr corroborada por PCR o inmunohistoquímica durante el periodo de Enero del 2014 a Junio del 2016 y se obtendrá cuáles de estos niños desarrollaron Enfermedad de Hodgkin.

**IA (incidencia acumulada)=** Número de niños con Enfermedad de Hodgkin corroborada por inmunohistoquímica / número de niños con infección corroborada de virus de Epstein Barr por PCR o inmunohistoquímica.

## **ASPECTOS ETICOS**

Este tipo de estudio clínico transversal descriptivo retrospectivo implica una investigación con riesgo mínimo de acuerdo al reglamento de investigación en salud ya que solo se va determinar la incidencia de Enfermedad de Hodgkin en niños infectados por virus de Epstein Barr.

### **Consentimiento Informado:**

Dado a que se trató de una revisión de registros clínicos **NO FUE NECESARIO EL CONSENTIMIENTO INFORMADO.**

## **FACTIBILIDAD**

El estudio es factible ya que se cuenta con los pacientes, médicos competentes y calificados para el diagnóstico de la enfermedad, se cuenta con el laboratorio, equipo y personal técnico para identificación y determinación del virus del Epstein Barr, además del servicio de Patología donde además de realizar diagnóstico histopatológico de linfoma se realizan estudios de inmunohistoquímica para detección del virus del Epstein Barr.

### **RECURSOS HUMANOS:**

Pacientes pediátricos con cáncer (linfoma de Hodgkin) e infección de virus de Epstein Barr, que recibieron tratamiento citotóxico en CMN la Raza en el periodo comprendido de Enero del 2014 a Junio del 2016.

### **RECURSOS MATERIALES:**

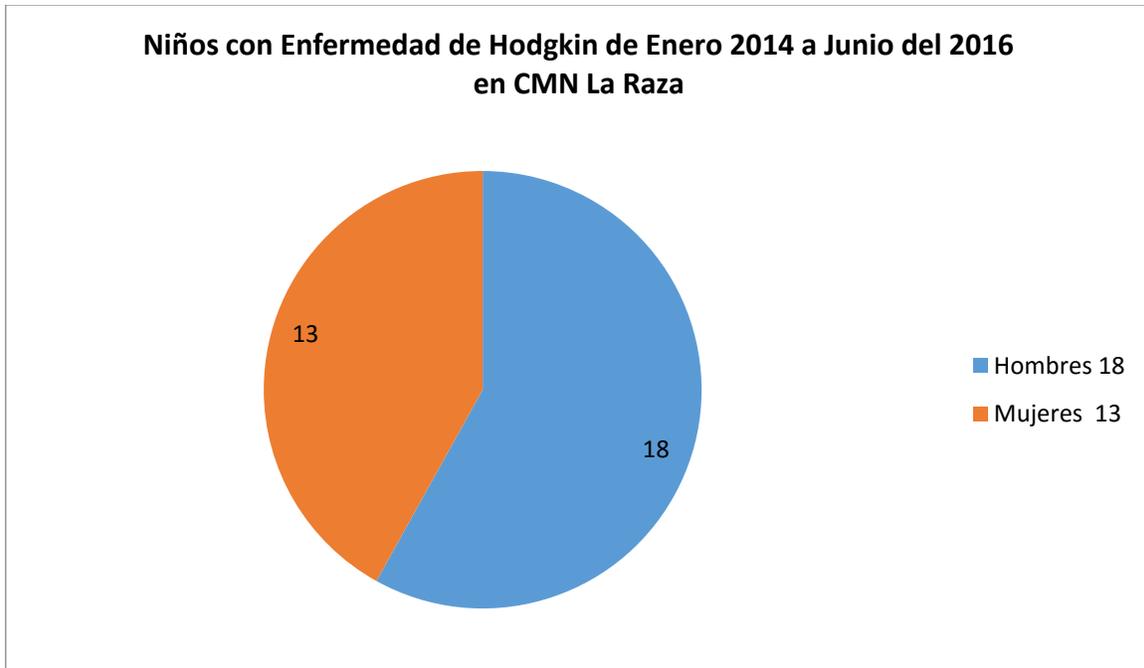
Hoja de recolección de datos, expedientes clínicos y electrónicos, carnet de quimioterapia, Base de datos en Excel, sistema SPSS para análisis estadístico, estudios de laboratorio (panel viral para Epstein Barr, PCR, inmunohistoquímica) estudios de histopatología.

### **RECURSOS FINANCIEROS:**

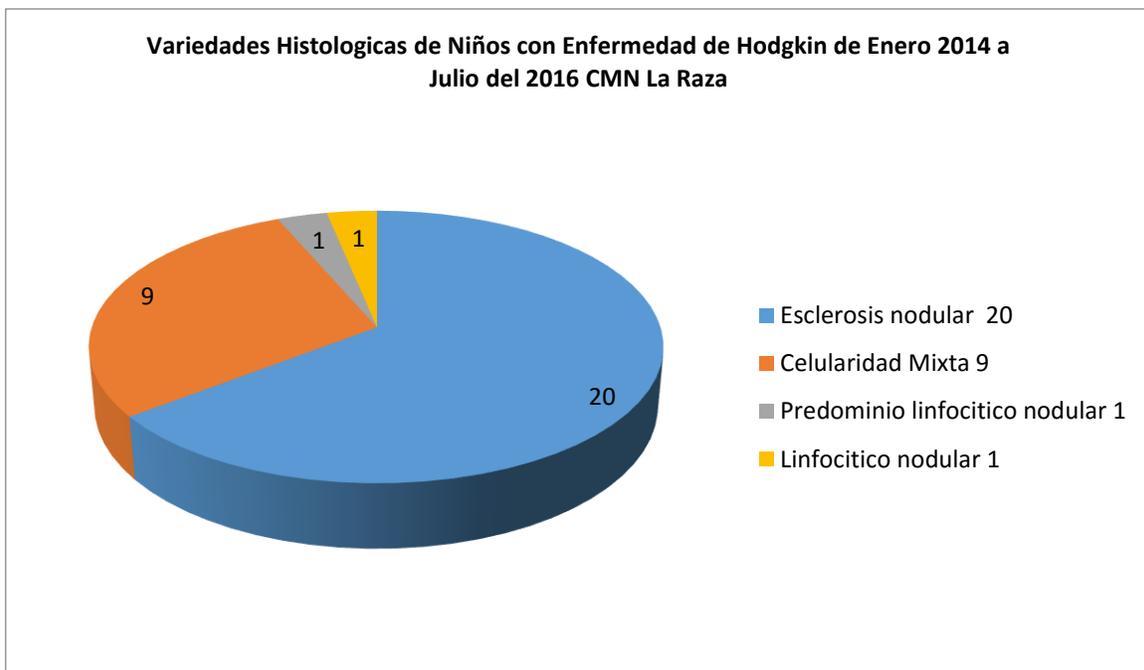
Utilización de recursos para realizar estudios de laboratorio para detección de IgG e IgM, inmunohistoquímica y PCR para virus de Epstein Barr, estudio de histopatología para determinar Enfermedad de Hodgkin.

## RESULTADOS

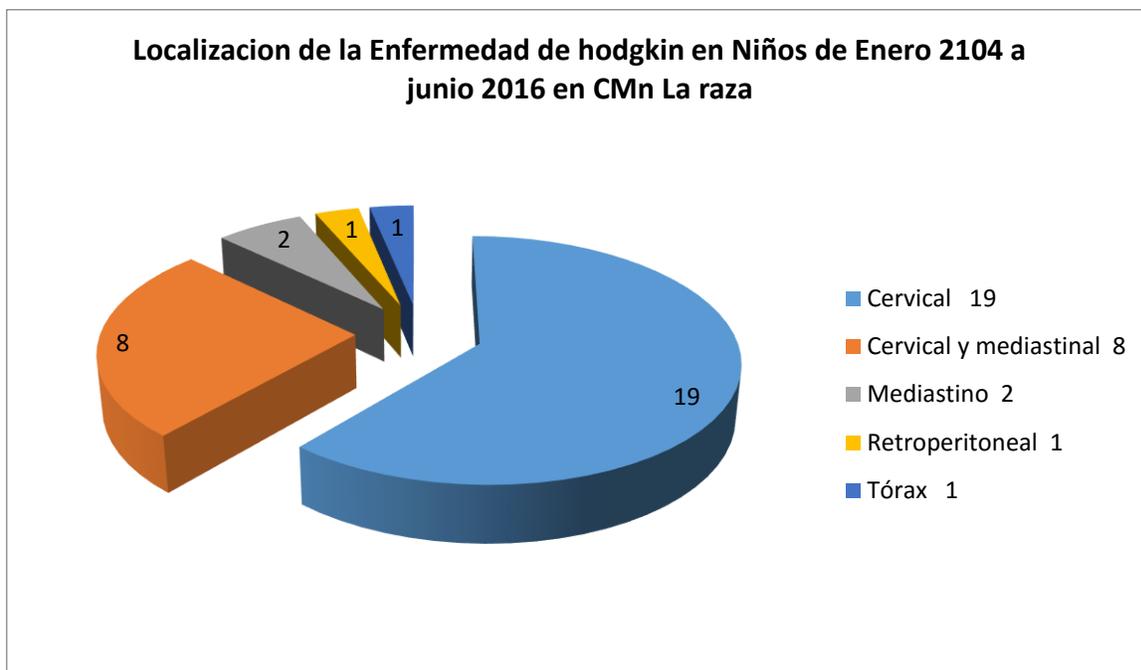
Fueron 31 pacientes 18 hombres y 13 mujeres, a los que se les corroboró por biopsia de ganglio enfermedad de Hodgkin.



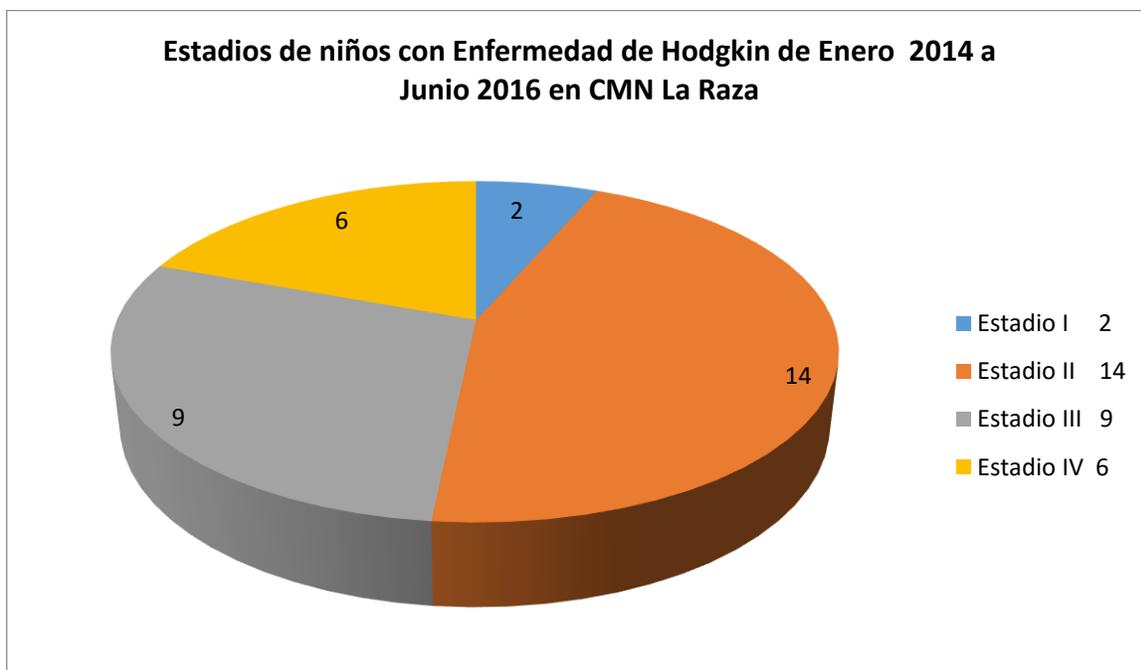
Las variedades histológicas encontradas fueron; Esclerosis nodular 20 pacientes, celularidad mixta 9, predominio linfocítico 1, depleción linfocitaria ningún paciente y predominio linfocítico nodular 1.



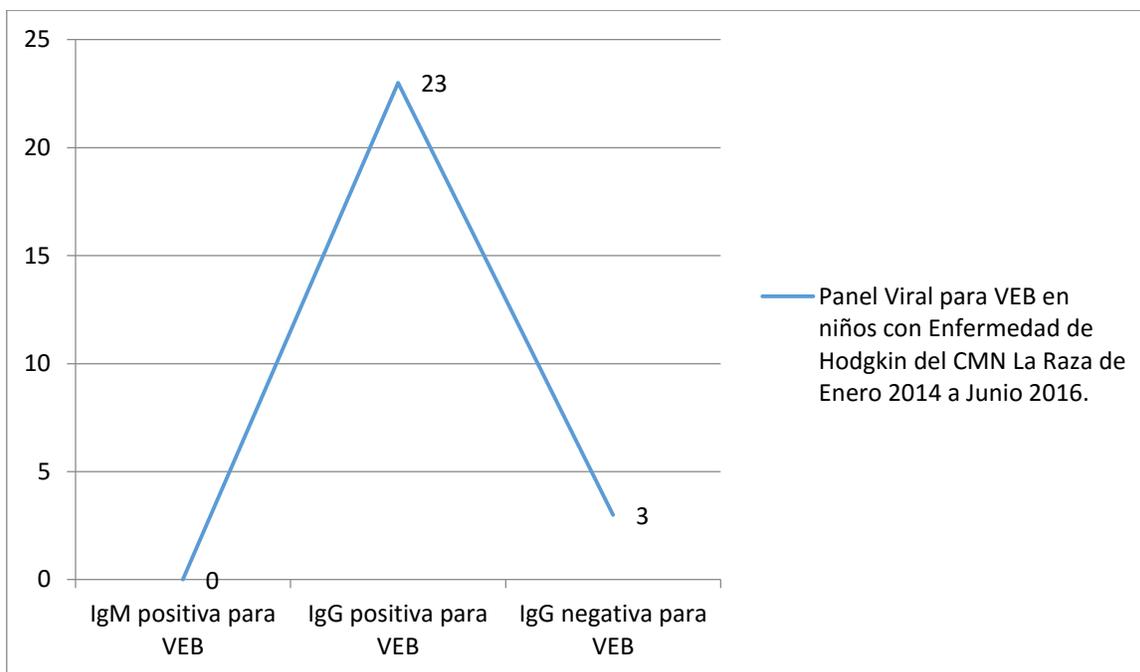
De los sitios de afección encontrados: región cervical 19 pacientes, la región cervical y mediastinal 8 pacientes, retroperitoneal 1 paciente, mediastino 2 pacientes y tórax 1 paciente.



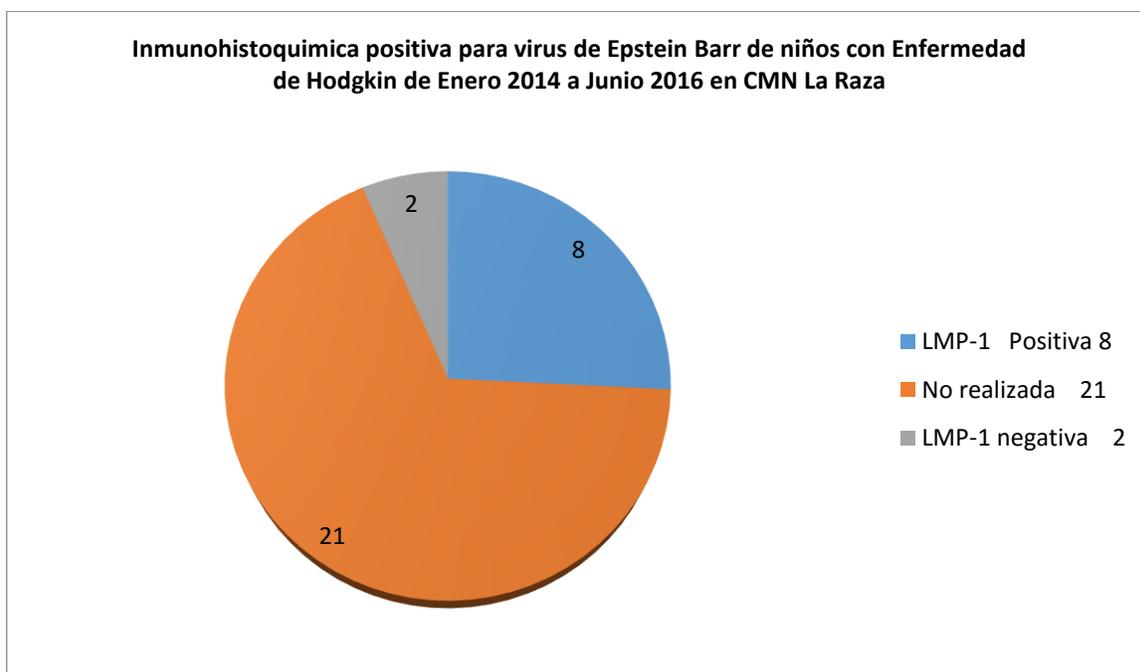
De los estadios en los que se encontraron los pacientes con enfermedad de Hodgkin fueron: Estadio I: 2 pacientes, Estadio II: 14 pacientes, Estadio III: 9 y Estadio IV: 6 pacientes.



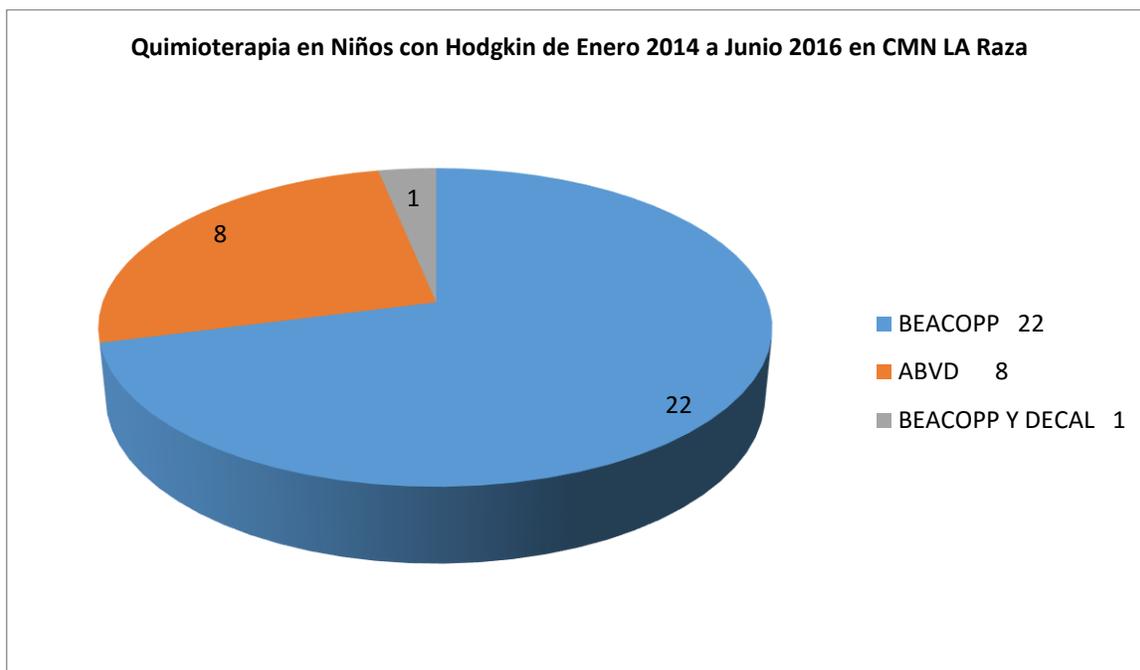
Cuando se realizó el panel viral para virus de Epstein Barr se no se encontró la IgM positiva en ningún paciente, la IgG se encontró Positiva en 23 pacientes, IgG Negativo en 3 pacientes a 5 pacientes no se les realizo panel viral se reportó sin reactivo.



Se encontró en 8 pacientes la proteína latente de membrana LMP-1 del virus de Epstein Barr positiva. La PCR para virus de Epstein Barr no fue realizada en ninguno de los pacientes.



Los 31 pacientes con diagnóstico Enfermedad de Hodgkin corroborado por biopsia de ganglio linfático, recibieron tratamiento con quimioterapia con los siguientes protocolos: ABVD 8 pacientes, con BEACOPP 22 pacientes y 1 recibió BEACOPP y DECAL, a 2 de ellos les realizaron trasplante de progenitores hematopoyéticos. Recibieron radioterapia 29 pacientes, de los cuales 15 recibieron de 25 a 30 Gys y 14 recibieron de 15 a 25 Gys. Solo 2 pacientes no recibieron radioterapia.



**La Incidencia Acumulada de la Enfermedad de Hodgkin en niños con Infección de Virus de Epstein Barr de Enero del 2014 a junio del 2016 fue: 31/ 8: 3.8%**

Y fue determinada de la siguiente manera:

Número de Niños con Enfermedad de Hodgkin corroborada con Biopsia de Ganglio

---

Número de Niños con infección por virus de Epstein Barr corroborada por inmunohistoquímica.

## DISCUSION

La linfomagénesis es considerada un proceso complejo por múltiples pasos. Se reconocen 4 mecanismos fundamentales:

- 1) Acumulación de alteraciones genéticas en la célula tumoral.
- 2) Estimulación y selección de las células tumorales por un antígeno.
- 3) Inmunodeficiencia del huésped
- 4) Infección por virus oncogénicos.

Se han asociado tres tipos de virus al desarrollo de linfomas, dos pertenecientes a la familia Herpes viridae, el Virus de Epstein Barr (VEB) o herpesvirus humano tipo 4 y el herpesvirus humano tipo 8 y un retrovirus, así como el virus linfotrópico humano de células T tipo 1, (HTLV-1).

El virus de Epstein Barr (VEB) fue inicialmente identificado en 1964 por Epstein, Achong y Barr con microscopía electrónica de células de linfoma de Burkitt en cultivos celulares. En 1968 se determinó que era el agente etiológico de la mononucleosis infecciosa heterófila positiva. En 1970 se detectó el ADN del VEB en tejidos de pacientes con VIH positivos con carcinoma nasofaríngeo. Desde entonces se ha encontrado ADN de VEB en diversos tejidos neoplásicos. La característica común del VEB es su linfotropismo, la habilidad de establecer una infección latente dentro de las células del huésped y la capacidad de inducir proliferación de las células con infección latente. En nuestro trabajo de investigación de 31 pacientes con diagnóstico de enfermedad de Hodgkin 23 resultaron con IgG positiva para VEB lo que traduce que en algún momento de su vida tuvieron contacto aunque no había infección reciente porque su IgM estaba negativa. Sin embargo se logró corroborar en 8 de ellos la infección en la pieza de patología por inmunohistoquímica determinando el LMP-1. Se conocen 2 subtipos de VEB que infecta al ser humano: VEB tipo 1 y VEB tipo 2. Dichos subtipos difieren en la organización de los genes que codifican para los antígenos nucleares del VEB (EBNAs).

El VEB tipo 2 transforma a las células B menos eficientemente que el VEB tipo 1, los linfocitos B infectados in vitro, no crecen bien en cultivos con bajas concentraciones del virus porque el VEB tipo-2 presenta mayor dificultad para infectar líneas celulares. Estas diferencias están determinadas por las regiones codificadoras de los EBNAs. Y en nuestra investigación fue el Virus de Epstein Barr tipo 1 el cual fue encontrado en las piezas de patología positiva lo que concuerda con la literatura. La Proteína Latente de membrana 1, es una proteína integral de membrana con 6 segmentos hidrofóbicos y un tallo citoplasmático (extremo carbocí-terminal) que contiene la función efectora y presenta características similares al CD40, un receptor de activación de las células B. Está involucrada en la transformación celular debido que actúa como receptor de CD40 constitutivamente activado y mimetiza la señal de crecimiento células que normalmente

resulta de la unión con el CD40 ligando. LMP-1 mimetiza la función del CD40 por asociación con los factores relacionados al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAFs). Su tallo citoplasmático interactúa con los TRAFs y con los TRADDs (dominios de muerte asociadas al receptor del factor de necrosis tumoral) permitiendo la activación del NF- $\kappa$ B (factor nuclear  $\kappa$ B) y kinasa amino-terminal del c-jun(JNK), una cascada de kinasas activadas por citoquinas inflamatorias. La interacción con TRAF 1 y 3 permite la activación de NF- $\kappa$ B dado como resultado cambios morfológicos en la célula infectada y aumento de la expresión de marcadores de células B incluyendo CD23, CD39, CD40 y CD44. Moléculas de histocompatibilidad clase II y moléculas de adhesión celular como LFA-1 ICAM 1. También induce el aumento de las señales a través de la vía JAK-STAT por medio de la unión de Kinasa JAK3 y vía de las MAP kinasas, la cual tiene como mediador al TRAF2. La LMP-1 tiene distintos efectos sobre la síntesis de las citoquinas que podrían afectar la angiogénesis y la respuesta inflamatoria a nivel de las células tumorales in vivo, contribuyendo al crecimiento tumoral y la evasión de la respuesta inmune. LMP-1 se considera el gen transformante más importante codificado por el virus de Epstein Barr por diversas razones: 1) Aumenta la expresión de las proteínas antiapoptóticas BCL2 y A20 en las células B infectadas protegiéndolas de la apoptosis mediada por el p53. 2) Aumenta la expresión de IL-10 lo cual estimula la proliferación de las células B e inhibe la respuesta inmune local. 3) In vitro la expresión de IL-10 la cual estimula la proliferación de las células B e inhibe la respuesta inmune local. 4) In vitro la expresión de LMP1 se asocia con la transformación de líneas celulares de fibroblastos murinos. 5) LMP-1 es un oncogén que estimula la génesis de tumores in vitro. Los ratones transgénicos que expresan LMP-1 bajo el control de los elementos reguladores del promotor de los genes de las cadenas pesadas de inmunoglobulinas, desarrollan linfomas de estirpe B.<sup>74</sup> Por tal motivo a todos los pacientes con Enfermedad de Hodgkin les continuaremos determinando por inmunohistoquímica la LMP-1.

## **CONCLUSIONES**

La Incidencia Acumulada de la Enfermedad de Hodgkin en niños con Infección de Virus de Epstein Barr de Enero del 2014 a junio del 2016 en el servicio de Oncología Pediátrica del CMN La Raza fue del 3.8%.

## HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

<b>1. FOLIO</b>	
<b>2. FECHA DE CAPTURA DE DATOS.</b>	
<b>3. NOMBRE.</b>	
<b>4. AFILIACION.</b>	
<b>5. EDAD AL DIAGNOSTICO.</b>	
<b>6. SEXO</b>	MASCULINO ( )                      FEMENINO ( )
<b>7. RESULTADO DE LA BIOPSIA GANGLIO:</b>	
<b>8. SITIO ANATOMICO AFECTADO Y ESTADIO DE ANN ARBOR</b>	
<b>9. DETECCION DE VIRUS DE EPSTEIN BARR X INMUNOHISTOQUIMICA</b>	POSITIVA                      NEGATIVA                      NO SE REALIZO
<b>10. DETECCION DE VIRUS DE EPSTEIN BARR X PCR</b>	POSTIVA                      NEGATIVA                      NO SE REALIZO
<b>11. IGM SERICA POSITIVA PARA VIRUS DE EPSTEIN BARR</b>	POSITIVA                      NEGATIVA                      NO SE REALIZO
<b>12. ESTADIO AL DIAGNOSTICO.</b>	•      I ( )                      II ( )                      III ( )                      IV ( ).
<b>13. TRATAMIENTO OTORGADO.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• QUIMIOTERAPIA ( )</li> <li>• RADIOTERAPIA ( )</li> <li>• TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYETICOS( )</li> </ul>

## **BIBLIOGRAFIA**

1. *Gallagher, A., Armstrong, A., MacKenzie, J., Shield, L., Khan, G., Lake, A., et al., Detection of Epstein-Barr virus (EBV) genomes in the serum of patients with EBV-associated Hodgkin's disease. Int J Cancer, 1999. 84(4): p. 442-8.*
2. *Campo, E., Swerdlow, S., Harris, N., Pileri, S., Stein, H., Jaffe, E., The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond evolving concepts and practical applications Blood. 117(19):p.5019-32.*
3. *Correa, P., and O'Connor, G., Epidemiologic patterns of Hodgkin's disease. Int J Cancer, 1971. 8(2): p. 192-201.*
4. *MacMahon, B., Epidemiology of Hodgkin's disease. Cancer Res, 1966. 26(6): p.1189-201.*
5. *Armstrong, A., Alexander, F., Cartwright, R., Angus, B., Krajewski, A., Wright, D., et al., Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: further evidence for the three disease hypothesis. Leukemia, 1998. 12(8): p. 1272-6.*
6. *Flavell, K., Billingham, L., Biddulph, JP., Gray, L., Flavell, J., Constandinou, C., et al., The effect of Epstein-Barr virus status on outcome in age and sex-defined subgroups of patients with advanced Hodgkin's disease. Ann Oncol, 2003. 14(2): p. 282-90.*
7. *Cartwright, R., and Watkins, G., Epidemiology of Hodgkin's disease: a review. Hematol Oncol, 2004. 22(1): p. 11-26.*
8. *Montalban, C., García, J., Abaira, V., González-Camacho, L., Morente, M., Bello, J., et al., Influence of biologic markers on the outcome of Hodgkin's lymphoma: a study by the Spanish Hodgkin's Lymphoma Study Group. J Clin Oncol, 2004. 22(9): p. 1664-73.*
9. *Stark, G.L., Wood, K., Jack, F., Angus, B., Proctor, S., Taylor, P., et al., Hodgkin's disease in the elderly: a population-based study. Br J Haematol, 2002. 119(2): p. 432-40.*
10. *Flavell, K., and Murray, P., Hodgkin's disease and the Epstein-Barr virus. Mol Pathol, 2000. 53(5): p. 262-9.*
11. *Harris, N., Jaffe, E., Diebold, J., Flandrin, G., Muller-Hermelink, HK., Vardiman, J., et al., The World Health Organization classification of hematological malignancies report of the Clinical*

*Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. Mod Pathol, 2000. 13(2): p. 193-207.*

12. *Harris, N., Jaffe, ES., Diebold, J., Flandrin, G., Muller-Hermelink, HK., Vardiman, J., Lymphoma classification from controversy to consensus The R.E.A.L. and WHO Classification of lymphoid neoplasm. Ann Oncol, 2000. 11 Suppl1: p. 3-10.*
13. *Marafioti, T., Hummel, M., Anagnostopoulos, I., Foss, H., Falini, B., Delsol, G., et al., Origin of nodular lymphocyte predominant Hodgkin's disease from a clonal expansion of highly mutated germinal-center B cells. N Engl J Med, 1997. 337(7): p. 453-8.*
14. *Kuppers, R., New insights in the biology of Hodgkin lymphoma. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2012. 2012: p. 328-34.*
15. *Kuppers, R., Engert, A., and Hansmann, M., Hodgkin lymphoma. J Clin Invest, 2012.122(10): p. 3439-47.*
16. *Rajewsky, K., Clonal selection and learning in the antibody system. Nature, 1996.381(6585): p. 751-8.*
17. *Küppers, R., Rajewsky, K., Zhao, M., Simons, G., Laumann, R., Fischer, R., et al., Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cell at various stages of development. Proc.*
18. *Küppers, R., The biology of Hodgkin's lymphoma. Nat Rev Cancer, 2009. 9(1): p. 15-27.*
19. *Mathas, S., Janz, M., Hummel, F., Hummel, M., Wollert-Wulf, B., Lusatis, S., et al., Intrinsic inhibition of transcription factor E2A by HLH proteins ABF-1 and Id2 mediates reprogramming of neoplastic B cells in Hodgkin lymphoma. Nat Immunol, 2006. 7(2): p. 207-15.*
20. *Kato, M., Masashi, M., Sanada, M., Kato, I., Sato, Y., Takita, J., Takeuchi, K., et al., Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. Nature, 2009.459(7247): p. 712-6.89.*
21. *Biggar, R., Jaffe, E., Goedert, J., Chaturvedi, A., Pfeiffer, R., Engels, E., et al., Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. Blood, 2006. 108(12): p. 3786-91.*
22. *Kuppers, R., Molecular biology of Hodgkin lymphoma. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2009: p. 491-6.*
23. *Gulley, M., Eagan, P., Quintanilla-Martinez, L., Picado, A., Smir, B., Childs, C., et al., Epstein-Barr virus DNA is abundant and monoclonal in the Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease:*

- association with mixed cellularity subtype and Hispanic American ethnicity. *Blood*, 1994. 83(6): p. 1595-602.
24. Mancao, C., Markus, Altmann., Berit, Jungnickel, and Wolfgang Hammerschmidt., Rescue of "crippled" germinal center B cells from apoptosis by Epstein-Barr virus. *Blood*, 2005. 106(13): p. 4339-44.
  25. Galloway, D.A. and J.K. McDougall, The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a 'hit-and-run' mechanism. *Nature*, 1983. 302(5903): p. 21-4.
  26. Niller, H.H., H. Wolf, and J. Minarovits, Viral hit and run oncogenesis: genetic and epigenetic scenarios. *Cancer Lett*, 2011. 305(2): p. 200-17.
  27. Delecluse, H.J., Marafioti T, Hummel M, Dallenbach F, Anagnostopoulos I, Stein H., Disappearance of the Epstein-Barr virus in a relapse of Hodgkin's disease. *J Pathol*, 1997. 182(4): p. 475-9.
  28. Liu, T.Y., Wu, S., Huang, M., Lo, F., Tsai, M., Tsai, C., et al., EBV-positive Hodgkin lymphoma is associated with suppression of p21cip1/waf1 and a worse prognosis. *Mol Cancer*. 9: p. 32.
  29. Tzankov, A., Zimpfer A, Lugli A, Krugmann J, Went P, Schraml P., et al., High-throughput tissue microarray analysis of G1-cyclin alterations in classical Hodgkin's lymphoma indicates overexpression of cyclin E1. *J Pathol*, 2003. 199(2): p. 201-7.
  30. Thompson, M.P. and R. Kurzrock, Epstein-Barr virus and cancer. *Clin Cancer Res*, 2004. 10(3): p. 803-21.
  31. Rickinson, A., Epstein-Barr virus. *Virus Res*, 2002. 82(1-2): p. 109-13.
  32. Williams, H. and D.H. Crawford, Epstein-Barr virus: the impact of scientific advances on clinical practice. *Blood*, 2006. 107(3): p. 862-9.
  33. Kuppers, R., B cells under influence: transformation of B cells by Epstein-Barr virus. *Nat Rev Immunol*, 2003. 3(10): p. 801-12.
  34. Thorley-Lawson, D.A., Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2001. 1(1): p. 75-82.
  35. Qu, L. and D.T. Rowe, Epstein-Barr virus latent gene expression in uncultured peripheral blood lymphocytes. *J Virol*, 1992. 66(6): p. 3715-24.
  36. Weiss, L.M., Movahed LA, Warnke RA, Sklar J., et al., Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *N Engl J Med*, 1989. 320(8): p. 502-6.
  37. Herbst, H., F Dallenbach, M Hummel, G Niedobitek, S Pileri, N Müller-Lantzsch., et al., Epstein-Barr virus latent membrane protein expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. 88(11): p.4766-70.

38. Young, L.S. and A.B. Rickinson, *Epstein-Barr virus: 40 years on. Nat Rev Cancer, 2004.4(10): p. 757-68.*
39. Caldwell, R.G., Wilson JB, Anderson SJ, Longnecker R., *Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. Immunity, 1998. 9(3): p. 405-11.*
40. Liu, T.Y., Wu, S., Huang, M., Lo, F., Tsai, M., Tsai, C., et al., *EBV-positive Hodgkin lymphoma is associated with suppression of p21cip1/waf1 and a worse prognosis. Mol Cancer. 9: p. 32.*
41. Amoroso, R., Fitzsimmons L, Thomas WA, Kelly GL, Rowe M, Bell AI., *Quantitative studies of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs provide novel insights into their regulation. J Virol, 2011. 85(2): p. 996-1010.*
42. Vockerodt, M., Morgan SL, Kuo M, Wei W, Chukwuma MB, Arrand JR., et al., *The Epstein-Barr virus oncoprotein, latent membrane protein-1, reprograms germinal centre B cells towards a Hodgkin's Reed-Sternberg-like phenotype. J Pathol, 2008. 216(1): p. 83-92.*
43. Pallesen, G., Hamilton-Dutoit SJ, Rowe M, Young LS., *Expression of Epstein-Barr virus latent gene products in tumour cells of Hodgkin's disease. Lancet, 1991. 337(8737): p. 320-2.*
44. Pallesen, G., S.J. Hamilton-Dutoit, and X. Zhou., *The association of Epstein-Barr virus (EBV) with T cell lymphoproliferations and Hodgkin's disease: two new developments in the EBV field. Adv Cancer Res, 1993. 62: p. 179-239.*
45. Qi, Z.L., Han XQ, Hu J, Wang GH, Gao JW, Wang X., et al., *Comparison of three methods for the detection of Epstein-Barr virus in Hodgkin's lymphoma in paraffin-embedded tissues. Mol Med Rep, 2013. 7(1): p.89-92.*
46. Kuppers, R., A. Engert, and M.L. Hansmann, *Hodgkin lymphoma. J Clin Invest, 2012.122(10): p. 3439-47.*
47. Gulley, M.L., Glaser SL, Craig FE, Borowitz M, Mann RB, Shema SJ., et al., *Guidelines for interpreting EBER in situ hybridization and LMP1 immunohistochemical tests for detecting Epstein-Barr virus in Hodgkin lymphoma. Am J Clin Pathol, 2002. 117(2): p. 259-67.*
48. Glaser, S.L., Gulley ML, Borowitz MJ, Craig FE, Mann RB, Stewart SL., et al., *Inter-and intra-observer reliability of Epstein-Barr virus detection in Hodgkin lymphoma using histochemical procedures. Leuk Lymphoma, 2004. 45(3): p. 489-97.*
49. Gallagher, A., Armstrong AA, MacKenzie J, Shield L, Khan G, Lake A., et al., *Detection of Epstein-Barr virus (EBV) genomes in the serum of patients with EBV-associated Hodgkin's disease. Int J Cancer, 1999. 84(4): p. 442-8.*
50. Rendon, M., Valencia-Ramón, EA., Fajardo-Gutiérrez, A., Rivera-Flores, E., *Childhood lymphoma incidence patterns by ICC-3 subtype in Mexico City metropolitan area population. Rev. Medica del Instituto Mexicano del Seguro Social, 2015. 26(6).*

51. Galloway, D.A. and J.K. McDougall, *The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a 'hit-and-run' mechanism.* *Nature*, 1983. 302(5903): p. 21-4.
52. Stiller, C.A., *What causes Hodgkin's disease in children?* *Eur J Cancer*, 1998. 34(4): p.523-8.
53. Baris, D. and S.H. Zahm, *Epidemiology of lymphomas.* *Curr Opin Oncol*, 2000. 12(5):p. 383-94.
54. Mueller, N., *Epidemiologic studies assessing the role of the Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease.* *Yale J Biol Med*, 1987. 60(4): p. 321-32.
55. Mueller, N., Evans A, Harris NL, Comstock GW, Jellum E, Magnus K., et al., *Hodgkin's disease and Epstein-Barr virus. Altered antibody pattern before diagnosis.* *N Engl J Med*, 1989. 320(11): p. 689-95.
56. Alexander, F.E., Jarrett, R., Lawrence, D., Armstrong, A., Freeland, J., Gokhale, D., et al., *Risk factors for Hodgkin's disease by Epstein-Barr virus (EBV) status: prior infection by EBV and other agents.* *Br J Cancer*, 2000. 82(5): p.1117-21.
57. Hjalgrim, H., Askling J, Sørensen P, Madsen M, Rosdahl N, Storm HH., et al., *Risk of Hodgkin's disease and other cancers after infectious mononucleosis.* *J Natl Cancer Inst*, 2000. 92(18): p. 1522-8.
58. Clarke, C.A., Glaser SL, Dorfman RF, Mann R, DiGiuseppe JA, Prehn, A., et al., *Epstein-Barr virus and survival after Hodgkin disease in a population-based series of women.* *Cancer*, 2001. 91(8): p. 1579-87
59. Alexander, F.E., Jarrett, R., Lawrence, D., Armstrong, A., Freeland, J., Gokhale, D., et al., *Risk factors for Hodgkin's disease by Epstein-Barr virus (EBV) status: prior infection by EBV and other agents.* *Br J Cancer*, 2000. 82(5): p.1117-21.
60. Engel, M., Essop MF, Close P, Hartley P, Pallesen G, Sinclair-Smith C., et al., *Improved prognosis of Epstein-Barr virus associated childhood Hodgkin's lymphoma: study of 47 South African cases.* *J Clin Pathol*, 2000. 53(3): p.182-6.
61. Campo, E., Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES., *The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond evolving concepts and practical applications.* *Blood*. 117(19):p.5019-32.
62. Ambinder, R.F., Browning PJ, Lorenzana I, Leventhal BG, Cosenza H, Mann RB, et al., *Epstein-Barr virus and childhood Hodgkin's disease in Honduras and the United States.* *Blood*, 1993. 81(2): p. 462-7.
63. Razzouk, B.I., Gan YJ, Mendonça C, Jenkins JJ, Liu Q, Hudson M., et al., *Epstein-Barr virus in pediatric Hodgkin disease: age and histiotype are more predictive than geographic region.* *Med Pediatr Oncol*, 1997. 28(4): p. 248-54.
64. De Matteo, E., Barón AV, Chabay P, Porta J, Dragosky M, Preciado MV., et al., *Comparison of Epstein-Barr virus presence in Hodgkin lymphoma in pediatric versus adult Argentine patients.* *Arch Pathol Lab Med*, 2003.127(10): p. 1325-9.

65. *de Oliveira, D., Bacchi, M., Abreu, E., Niero-Melo, L., Bacchi, C., et al., Hodgkin disease in adult and juvenile groups from two different geographic regions in Brazil: characterization of clinic pathologic aspects and relationship with Epstein-Barr virus infection. Am J Clin Pathol, 2002.118 (1): p. 25-30.*
66. *Barros, M.H., Vera-Lozada G, Soares FA, Niedobitek G, Hassan R., Tumor microenvironment composition in pediatric classical Hodgkin lymphoma is modulated by age and Epstein-Barr virus infection. Int J Cancer, 2012. 131(5): p. 1142-52.*
67. *Araujo, I., Bittencourt ,AL., Barbosa, HS., Netto, EM., Mendonça, N., Foss, HD., et al., The high frequency of EBV infection in pediatric Hodgkin lymphoma is related to the classical type in Bahia, Brazil. Virchows Arch, 2006. 449(3): p.315-9.*
68. *Engel, M., Essop, MF., Close, P., Hartley, P., Pallesen, G., Sinclair-Smith, C., et al., Improved prognosis of Epstein-Barr virus associated childhood Hodgkin's lymphoma: study of 47 South African cases. J Clin Pathol, 2000. 53(3): p.182-6.*
69. *Zhou, X.G., Sandvej, K., Li, PJ., Ji, XL., Yan, QH., Zhang, XP., et al., Epstein-Barr virus (EBV) in Chinese pediatric Hodgkin disease: Hodgkin disease in young children is an EBV related lymphoma. Cancer, 2001.92(6): p. 1621-31.*
70. *Glaser, S.L., Lin, RJ., Stewart, SL., Ambinder, RF., Jarrett, RF., Brousset, P., et al., Epstein-Barr virus-associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data. Int J Cancer, 1997. 70(4): p.375-82.*
71. *Goldgar, D., Easton, DF., Cannon-Albright, LA., Skolnick, MH., Systematic population-based assessment of cancer risk in first degree relatives of cancer probands. J Natl Cancer Inst, 1994. 86(21): p. 1600-8.*
72. *Diepstra, A., Niens, M,, te Meerman, GJ., Poppema, S., van den Berg, A., et al., Genetic susceptibility to Hodgkin's lymphoma associated with the human leukocyte antigen region. Eur J Haematol Suppl, 2005(66): p. 34-41.*
73. *Palma, I., Sanchez, A., Jimenez-Hernandez, E., Alvarez-Rodriguez, F., Nava-Frias, M., Valencia-Mayeral, P., et al., Detection of Epstein Barr virus and genotyping base don EBNA2 protein in Mexican patients with Hodgkin Lymphoma: A comparative study in children an adults. Clin Lymphoma, mieloma and leukemia, Vol.13, No.3 2013: p-266-72*