



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**ASOCIACIÓN DE LA CARGA VIRAL PARA EPSTEIN-BARR EN SUERO Y LA
DETECCIÓN DEL RNA VITAL EN BIOPSIAS DE GANGLIO LINFÁTICO CON
DIAGNÓSTICO DE LINFOMA DE HODGKIN EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA.**

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE

ESPECIALISTA EN:

PATOLOGÍA PEDIÁTRICA.

PRESENTA:

DR. LUIS ROBERTO OLIVAS ROMÁN

TUTOR:

DRA. CECILIA RIDAURA SANZ



CIUDAD DE MÉXICO

2020



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.

**ASOCIACIÓN DE LA CARGA VIRAL PARA EPSTEIN-BARR EN SUERO Y LA
DETECCIÓN DEL RNA VITAL EN BIOPSIAS DE GANGLIO LINFÁTICO CON
DIAGNÓSTICO DE LINFOMA DE HODGKIN EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA.**



**DR. JOSE NICOLAS REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



**DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



**DRA. CECILIA RIDAURA SANZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE LA ESPECIALIDAD EN PATOLOGÍA
PEDIÁTRICA.**



**DRA. CECILIA RIDAURA SANZ
TUTORA DE TESIS**

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a mis padres, hermanos y esposa por el apoyo brindado durante mi formación como médico y sobre todo en esta etapa de mi desarrollo profesional. También agradezco a todos mis maestros, los Drs Cecilia Ridaura, López Corella, Mauricio Rojas, Celso Corcuera, Pedro Pasquel y Rodolfo Rodríguez; pero con especial énfasis a mi tutora la Dra. Ridaura por el tiempo dedicado para este trabajo y su labor académica en el curso que se imparte en esta institución.

ÍNDICE.

	Página
Resumen estructurado	5
Marco teórico	7
Planteamiento del problema	13
Justificación	13
Objetivos	14
Material y métodos	14
Análisis estadístico	15
Resultados	17
Discusión	18
Conclusiones	20
Bibliografía	20
Anexo	23
Tablas y figuras	25

RESUMEN ESTRUCTURADO.

Introducción: El linfoma de Hodgkin es una neoplasia de extirpe linfoide de linaje B. Su diagnóstico histopatológico está basado en la presencia de células de Reed-Sternberg y sus variantes rodeadas por infiltrado inflamatorio mixto en variable cantidad. Los síntomas B y la presencia de una masa cervical en la mayoría de los casos es la presentación clínica habitual. Su incidencia anual ajustada a la edad es de 2.8 casos por cada 100,000 habitantes, y uno de sus picos de edad de presentación es de 15-35 años, por lo que su presentación en la edad pediátrica es bien conocida. Su relación con el virus de Epstein-Barr (VEB) se ha demostrado en numerosos estudios, pero el papel en la patogénesis del linfoma de Hodgkin sigue sin estar claro. La proporción de Linfomas de Hodgkin positivos para VEB varía según la región geográfica, la edad, el tipo histológico y el estado socioeconómico. Hay pocos estudios que describan la relación que existe entre la detección del virus en el suero y/o en el tejido neoplásico con las características clínico-patológicas en la población pediátrica.

Objetivo: Describir la asociación entre la carga viral serológica para VEB y la tinción en ganglio linfático de LMP-1/ EBER con las características clínicas e histopatológicas en pacientes pediátricos con diagnóstico de Linfoma de Hodgkin atendidos en el INP en el periodo Enero 2015-Diciembre 2018.

Material y métodos: Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal y retrolectivo. Se recolectaron los casos con diagnóstico histopatológico de linfoma de Hodgkin que contaban con los marcadores de LMP-1/ EBER en ganglio linfático, así como la carga viral serológica para VEB; excluyendo los pacientes tratados fuera de esta Institución, así como los casos con recidivas. Se relacionó la presencia del virus en suero o en el tejido con las características clínicas e histológicas.

Resultados: Se encontraron 26 casos de linfoma de Hodgkin que contaban con los marcadores de LMP-1 y EBER disponibles, con una relación hombre-mujer de 1.16:1. El rango de edad fue de 11 meses a 17 años, con media de 9.8 años. El subtipo histológico más frecuente fue esclerosis nodular que corresponde a 19 de los casos (73%). El diagnóstico se realizó en el 84% de los casos en un ganglio linfático tomado de la región cervical. La presencia de síntomas B estuvo presente en 20 casos (76%), y la etapa clínica al momento del diagnóstico más frecuente fue la etapa III con 15 casos (60%), seguida de 6 casos en etapa IV (24%).

La relación entre la carga viral serológica y la presencia viral en el ganglio linfático mostro solamente concordancia en el 44% de los casos. Hubo concordancia en 4 casos (2 casos con ambas variables negativas y 2 casos con ambas variables

positivas). La positividad en ganglio linfático de los marcadores LMP-1/ EBER con serología negativa fue más frecuente que la presencia viral en suero con marcadores negativos (3 casos). Los 2 casos con negatividad de LMP-1/ EBER en ganglio linfático mostraron cargas virales en suero de 368 y 941 copias por ml.

El patrón de tinción positivo e intenso fue el más frecuente para los marcadores LMP-1 (88%) y EBER (93%).

Por lo que respecta a la relación entre la presencia de infección por virus de Epstein-Barr en el ganglio linfático o en el suero con las variables clínicas e histológicas no fue posible calcular si hubo diferencias estadísticamente significativas dado el pequeño tamaño de la muestra, pero observamos que los casos negativos en el ganglio linfático son pacientes de menor edad y que presentaron las variedades histológicas de linfoma de Hodgkin raras en la población pediátrica. Solo 9 casos contaron con carga viral previa al inicio del tratamiento con quimioterapia.

Conclusiones: Los casos de linfoma de Hodgkin VEB positivos son más frecuentes en nuestra población que sus similares negativos. La cantidad de carga viral serológica para VEB en pacientes con linfoma de Hodgkin es menor a la reportada en los artículos existentes. El subtipo esclerosis nodular es el que se relaciona con mayor frecuencia que el resto de los subtipos con la presencia de VEB en tejido de ganglio linfático. No encontramos asociación significativa entre la carga viral serológica para VEB y la tinción de LMP-1/ EBER en ganglio linfático. El patrón de tinción de LMP-1/ EBER que predominó en nuestros casos fue difuso e intenso en células de Reed-Sternberg y sus variantes. Dado el tamaño pequeño de la muestra no fue posible determinar si hay diferencias entre los casos positivos o negativos con relación a las variables clínicas e histológicas.

MARCO TEÓRICO.

El linfoma de Hodgkin es una neoplasia linfoide primaria de linaje B. Su frecuencia es bimodal encontrado picos en adultos jóvenes (15-35 años) y adultos mayores. La incidencia anual ajustada a la edad es de 2.8 casos por cada 100,000.¹ El diagnóstico histopatológico se basa en la distorsión total o parcial de la arquitectura ganglionar con la presencia de un infiltrado mixto de células de aspecto histiocítico, eosinófilos y células grandes de núcleo bilobulado con nucléolo prominente central conocidas como células de Reed-Sternberg (RS). Estas células son de forma variable, en promedio miden 20-40 µm, tienen núcleos lobulados o multilobulados, la membrana nuclear es gruesa con uno o varios nucléolos prominentes, y citoplasma eosinófilo abundante. El tipo mononuclear de este tipo de células tiene un núcleo unilobulado, habitualmente con un nucléolo prominente central. En el 98% de los casos estas células se derivan de células B maduras del centro germinal en estadio de diferenciación y contienen rearrreglos del gen clonal IG. Su perfil inmunohistoquímico clásico es CD-30 positivo en casi todos los casos, CD-15 positivo en 75-85% y CD-45 negativo. Los marcadores de linaje B como CD-20 solo son positivos en el 30% de los casos, sin embargo PAX-5 llega a ser positivo hasta en el 95% de los casos lo que apoya el inmunofenotipo B en este tipo de células.^{1, 2}

Su presentación clínica habitual es la presencia de ganglios linfáticos aumentados de tamaño, habitualmente a nivel cervical (75% de los casos); sin embargo también pueden observarse de forma decreciente a nivel de mediastino, axila o región para aórtica. Al momento del diagnóstico el 60% de los pacientes muestran enfermedad localizada (estadio I y II). Puede observarse además en el 60% de los casos compromiso de ganglios linfáticos mediastinales sobre todo cuando se trata de la variante esclerosis nodular. Solo se observa compromiso de médula ósea en el 5% de los casos, sin embargo ya que la misma no cuenta con vasos linfáticos debe de considerarse como enfermedad diseminada (estadio IV). La linfadenopatía periférica localizada a uno o más ganglios linfáticos puede acompañarse de síntomas B hasta en el 40% de los casos, los cuales consisten en fiebre, sudoración de predominio nocturno y pérdida de peso significativa.¹

El linfoma de Hodgkin se clasifica en clásico que comprende el 90% de los casos; sus variantes son esclerosis nodular, celularidad mixta, rico en linfocitos y depleción linfocitaria. Así como en el tipo no clásico que representa el 10% de los casos, también denominado predominio linfocítico nodular.²

Los subtipos de linfoma de Hodgkin difieren en las características citológicas de las células neoplásicas y las características del microambiente. Además de diferir

en sus características clínicas, factores de riesgo y la asociación con la infección producida por el virus de Epstein-Barr.

Linfoma de Hodgkin esclerosis nodular.

Se caracteriza por la presencia de bandas gruesas de tejido conjuntivo denso que rodea al menos un nódulo y por células de Reed-Sternberg y otras con morfología de células lacunares caracterizadas por núcleos unilobulados o multilobulados usualmente con nucléolo pequeño y un citoplasma claro, es la subvariedad frecuente en pacientes pediátricos con una frecuencia levemente mayor en niñas que en niños; se considera mayor riesgo en áreas con estatus socioeconómico alto. los sitios más comunes de afectación son mediastino (80%), cervical y supraclavicular. la presentación clínica puede ser por efecto de masa, por ejemplo como un síndrome de vena cava superior o adenopatía palpable; o sin relación con el tumor como son los síntomas b (40%). Se observa enfermedad diseminada en el 54%, compromiso esplénico y/o pulmonar en el 8-10%, infiltración a médula ósea en el 3% y de parénquima hepático en el 2%.

Linfoma de Hodgkin celularidad mixta.

Representado el 20-25% de los casos, se observa en cualquier grupo de edad, sin embargo, es más frecuente que el linfoma de Hodgkin tipo esclerosis nodular en pacientes mayores, con edad media de 38 años, con mayor frecuencia en hombres (70%). cuando tiene presentación en la edad pediátrica generalmente se relaciona con VEB. además, es frecuente en pacientes con VIH y en países desarrollados. su relación con VEB puede llegar a ser hasta del 75%. suelen presentarse como adenomegalias únicas o múltiples a nivel periférico, el compromiso del mediastino es raro. la infiltración del bazo se observa en el 30% y a médula ósea en el 10%. los síntomas b son frecuentes. a nivel histológico muestra un patrón difuso o interfolicular. su componente células habitualmente es una mezcla de linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos, neutrófilos e histiocitos; o como una población dominante de alguna de estas células. puede mostrar fibrosis intersticial fina, habitualmente no se observan las bandas gruesas ni la fibrosis capsular que se identifica en la variante esclerosis nodular. muestra células de Reed-Sternberg con perfil de inmunohistoquímica clásico. se considera de peor pronóstico que el subtipo no clásico, pero mejor que el de la variante depleción linfocitaria.

Linfoma de Hodgkin depleción linfocitaria.

Es un tipo extremadamente raro de linfoma de Hodgkin representa menos del 2% de los casos, puede presentarse a cualquier edad, en niños y más frecuentemente

en pacientes de 30-71 años, que son hombres hasta en el 75%. Su presentación clínica es estadio avanzado al momento del diagnóstico con síntomas b. los ganglios linfáticos retroperitoneales, órganos abdominales y médula ósea son las localizaciones más frecuentes de esta variante de linfoma de Hodgkin. El ganglio linfático está invadido de manera difusa por numerosas células de tamaño pequeño o mediano, que representan células de Reed-Sternberg clásicas y variantes. Además, se observa un fondo dentro de una matriz fibrosa o fibrilar, colagenasa o reticular (incremento de fibroblastos) con abundantes histiocitos y escasos linfocitos. Las células de Reed-Sternberg muestran un perfil de inmunohistoquímica clásico, y el fondo muestra un infiltrado predominante de linfocitos t. se relaciona aproximadamente en el 75% de los casos con VEB de la misma forma que la variante celularidad mixta. Se considera la variante de peor pronóstico de los linfomas de Hodgkin clásicos, con tratamientos actuales se observa remisión completa en el 82% de los casos.

Linfoma de Hodgkin rico en linfocitos.

Es un tipo raro de linfoma de Hodgkin que representa el 5% de los casos, fue recientemente descrito. Se define como el linfoma de Hodgkin caracterizado por células de Reed-Sternberg dispersas y un fondo nodular o menos frecuente, difuso que consiste en linfocitos pequeños, con ausencia de eosinófilos y neutrófilos. Se presenta en pacientes de mayor edad que el resto de variantes de linfoma de Hodgkin clásico, con una relación hombre a mujer de 2:1. los ganglios linfáticos son la localización habitual siendo rara la localización mediastinal o la enfermedad diseminada. Habitualmente se presenta en estadios i y ii y los síntomas b son poco comunes. Histológicamente se describen dos patrones: el patrón nodular que se considera el común, y el patrón difuso que es más raro. el infiltrado está constituido por linfocitos predominantemente células b pequeñas (comúnmente igD+ o igM+), a diferencia de los otros subtipos que muestran predominio de células t pequeñas cd4+. el perfil de inmunohistoquímica de las células Reed-Sternberg es el clásico; además pueden encontrarse rosetas con células t foliculares colaboradoras (pd1,/cd279+, cd57+/-) rodeando células tumorales en el 50% de los casos. Es una de las variantes de linfoma de Hodgkin con mayores tasas de recaídas.

Linfoma de Hodgkin predominio linfocítico nodular.

Es el tipo de linfoma de Hodgkin no clásico, que suele presentarse en hombres con un pico de incidencia en la cuarta década de la vida. La mayoría de los pacientes presenta una adenopatía asintomática, y son pocos los pacientes que al momento del diagnóstico están en un estadio avanzado. La arquitectura del ganglio linfático esta distorsionada por linfocitos pequeño b comprimidos por un

estroma rico en retículo, vasos sanguíneos e histiocitos. Dispersas dentro del nódulo hay células L&H (linfocíticas e histiocíticas) y variantes de células de Reed-Sternberg, muchas de ellas rodeadas por células t. Las células L&H son multinucleadas (como rosetas de maíz) con membrana nuclear delgada, cromatina dispersa, nucléolo conspicuo y cantidades variables de citoplasma.

El perfil de inmunohistoquímica de las células L&H es fenotipo de células b (cd20+ y cd45+) con negatividad de marcadores de linfoma de Hodgkin clásico como lo son cd15 y cd30.

La clasificación clínica de LH más utilizada es la clasificación de Ann Arbor (tabla 1), la cual generalmente envuelve la combinación de los hallazgos clínicos, radiológicos, quirúrgicos e histopatológicos. Los hallazgos histopatológicos son los encontrados en la biopsia que determina el diagnóstico, tipo histológico y la extensión de la enfermedad; así como la biopsia de médula ósea que se considera un criterio mayor para la estadificación.^{1,2}

Linfoma de Hodgkin y virus Epstein-Barr

El virus de Epstein-Barr (VEB) es un virus oncogénico en el género Lymphocryptovirus que es miembro de la subfamilia Gammaherpesvirinae dentro de la gran familia Herpesviridae. Como otros herpesvirus, el VEB es un virus con envoltura y contiene un núcleo ADN rodeado por una nucleocápside icosaédrica con 162 capsómeros, una proteína tegumentaria entre la nucleocápside y la envoltura y una envoltura externa con espículas glicoprotéicas. El VEB posee un genoma de ADN doble cadena de 184 kpb, que codifica más de 85 genes.^{3,4}

El herpesvirus humano 4, también conocido como virus de Epstein-Barr (VEB), es extremadamente eficaz para establecer una infección persistente de por vida en las células B humanas. La mayoría de las infecciones primarias se presentan asintómicamente en la primera infancia y en la edad adulta, la mayoría (95% en todo el mundo) de la población adulta está infectada con VEB.^{5,6} El VEB se asoció por primera vez con una forma inusual y agresiva de linfoma infantil en 1964, y ahora se sabe que contribuye a más de 200,000 nuevos diagnósticos de cáncer cada año. Estas características inusuales se deben, en parte, a las diferentes formas en que el VEB ha evolucionado para exhibirse. La existencia de VEB fue sospechada por primera vez por Denis Parsons Burkitt, un cirujano que trabajaba en la Uganda de posguerra. En 1958, publicó un estudio clínico detallado de un linfoma extraño que afectaba las mandíbulas y el abdomen de niños de África subsahariana.⁶ Se sorprendió tanto por la prevalencia como por el mal pronóstico de la enfermedad: los tumores representaban la mayoría de los cánceres infantiles comparado con cualquier otra enfermedad maligna combinada y, además, a

menudo eran rápidamente mortales. Linfoma de Burkitt, como se supo posteriormente, también tenía una distribución geográfica inusual que se superponía casi perfectamente con la de enfermedades infecciosas transmitidas por artrópodos como la fiebre amarilla y la fiebre del valle del Rift. Un encuentro casual con el entonces virólogo animal, Anthony Epstein, llevó a la búsqueda de una causa viral del linfoma de Burkitt y, en 1964, se publicaron las primeras microfotografías que mostraban las inconfundibles estructuras icosaédricas de un herpesvirus previamente publicado.⁶ Se demostró de manera convincente que el virus de Epstein-Barr (llamado así por Epstein y su estudiante de doctorado, Yvonne Barr) es un agente etiológico en linfoma de Burkitt y otros cánceres incluido el LH.^{7, 8, 9, 10, 11, 12}

Tradicionalmente, se han descrito tres patrones de expresión de genes latentes mostrados por VEB: latencia I, II y III. (Tabla 2)

Estas proteínas latentes incluyen el antígeno nuclear codificado por VEB 1 (EBNA1), EBNA2, EBNA3 (3A, 3B y 3C), proteína de membrana latente1 (LMP-1) y LMP-2 (A y B). Además, el VEB codifica dos moléculas de ARN denominadas pequeños ARN codificadas por el virus de Epstein-Barr (Ebers), que se utilizan como dianas para la detección de virus en muestras clínicas mediante hibridación in situ (ISH).

Se ha demostrado una asociación entre el virus de Epstein-Barr (VEB) y los linfomas de Hodgkin en numerosos estudios, pero el papel en la patogénesis del linfoma de Hodgkin sigue sin estar claro. La proporción de Linfomas de Hodgkin positivos para VEB (La detección de ácidos nucleicos de VEB (EBER) o proteína (LMP1) en células tumorales)varía según la región geográfica, la edad, el tipo histológico y el estado socioeconómico.¹Esta asociación se refiere hasta en el 100% en áreas tropicales, aunque existen diferencias entre las diferentes variedades, ya que menos del 5% de los casos de linfoma de Hodgkin no clásico son positivos para VEB.¹³

Los genomas latentes de VEB se encuentran en las células malignas de Reed-Sternberg/Hodgkin en aproximadamente el 30-50% de los pacientes con linfoma de Hodgkin en los países occidentales. La búsqueda histológica de la infección latente del VEB está determinada por la presencia de dos tipos de proteínas que constituyen el genoma del virus, la proteína de membrana latente 1 (LPM-1) que muestra tinción de membrana celular o de citoplasma en estudio de inmunohistoquímica, y la presencia de RNA del VEB (EBER) que muestra una tinción nuclear en estudio de hibridación in situ (ISH). La positividad de estos dos marcadores debe de considerarse cuando las células de Reed-Sternberg muestran tinción a los mismos, considerándose los dos patrones de positividad

como focal y difuso, sin métodos cuantitativos para determinarlos. La tinción de LMP-1 y EBER en el infiltrado inflamatorio que constituye parte importante del LH no es considerado positividad de los mismos, por lo que debe de analizarse minuciosamente el HyE en búsqueda de células de Reed-Sternberg y confirmar que la positividad de estos dos anticuerpos es en estas células.¹⁴

Varios estudios han informado la presencia de ADN a nivel serológico de VEB en pacientes con linfoma de Hodgkin positivo para VEB. La cuantificación del ADN del VEB a nivel serológico se realiza con técnica de PCR en tiempo real, considerándose positivo con más de una copia por ml de suero examinado. Se ha descrito como criterio para considerar una infección activa por VEB sintomática que existan más de $10^{2.5}$ de copias por μg . Valores menores a esta cifra pueden orientarnos hacia una infección latente por VEB.¹⁵

El valor del ADN del VEB permite analizar las neoplasias malignas asociadas a infección por VEB. Se ha propuesto que una elevación en el ADN del VEB puede ser utilizado como marcador para el desarrollo de la enfermedad linfoproliferativa postrasplante.¹⁶ Además, se ha demostrado que el ADN del VEB circulante libre es un marcador tumoral muy útil tanto en el carcinoma nasofaríngeo como en el linfoma de células T/NK de tipo nasal.¹⁷ Martin Spacek et al realizaron un estudio en pacientes adultos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin, su muestra fue de 165 pacientes a los que realizaron estudio de carga viral serológica y de esa población a 150 casos además le realizaron LMP-1 y EBER en tejido de ganglio linfático. Encontraron 24 pacientes con carga viral serológica alta con media de 6000 copias/mL de plasma. 29 pacientes se clasificaron como linfoma de Hodgkin asociado a VEB por positividad de LMP-1 y EBER en tejido nodal. 22 pacientes (76%) con linfoma de Hodgkin asociado a VEB mostraron positividad de la carga serológica por lo que existe una relación importante entre las dos variables.¹⁸

Un estudio reciente realizado en pacientes pediátricos de la India ha demostrado que el ADN del VEB puede detectarse y cuantificarse en el plasma de prácticamente todos los pacientes con linfoma de Hodgkin antes del tratamiento, pero posteriormente disminuye y se vuelve indetectable en pacientes que responden a la quimioterapia.¹⁹ Estos datos sugieren que la evaluación del ADN del VEB en plasma puede ser de valiosa aportación para la estimación del pronóstico y el seguimiento de los pacientes con LH.^{20, 21}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La asociación de VEB y LH está ampliamente demostrada en numerosas investigaciones. La información sobre esta relación señala una gran variabilidad de acuerdo a la población estudiada y no hay informes concluyentes en la edad pediátrica. Existen pocos estudios que se refieran al significado de la detección tisular de VEB en LH en niños y la relación con la determinación de la carga viral en suero en términos de la expresión clinicopatológica. Consideramos necesario estudiar dicha relación que podría generar datos importantes para estudios posteriores del impacto que tiene con el curso natural de la enfermedad y la respuesta a tratamiento en pacientes pediátricos.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la asociación entre la carga viral serológica para VEB y la tinción en ganglio linfático de LMP-1/ EBER con las características clínicas e histopatológicas de pacientes pediátricos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin en el instituto nacional de pediatría en el periodo Enero 2015-Diciembre 2018?

JUSTIFICACIÓN.

El linfoma de Hodgkin es una de las neoplasias de tipo hematolinfoide más frecuentes en pacientes de nuestra institución por lo que el estudio del papel de la infección por virus de Epstein Barr es indispensable para determinar el significado de la carga viral serológica en relación con la presencia a nivel de tejido tumoral tanto en el diagnóstico como en el seguimiento posterior de estos pacientes. Los resultados obtenidos pueden contribuir al conocimiento de la etiopatogenia del linfoma y su potencial utilidad como marcador de respuesta a tratamiento y pronóstico.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Describir la asociación entre la carga viral serológica para VEB y la tinción en ganglio linfático de LMP-1/ EBER en pacientes pediátricos atendidos en el INP con diagnóstico histopatológico de Linfoma de Hodgkin en el periodo Enero 2015-Diciembre 2018.

Objetivos específicos.

- Describir las características demográficas, subtipo histológico, etapa clínica, localización de ganglio linfático y síntomas B de los pacientes pediátricos con linfoma de Hodgkin que cuentan con tinción de LMP-1/ EBER en ganglio linfático del INP en el periodo de Enero 2015-Diciembre 2018.
- Describir la frecuencia de pacientes con linfoma de Hodgkin VEB positivo y sus características clinicopatológicas en pacientes pediátricos del INP en el periodo de Enero 2015-Diciembre 2018.
- Describir la magnitud y frecuencia de carga viral serológica para VEB en pacientes pediátricos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin en el INP en el periodo de Enero 2015-Diciembre 2018.
- Describir la magnitud y el patrón de tinción de LMP-1/ EBER en ganglio linfático en pacientes pediátricos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin del INP en el periodo de Enero 2015-Diciembre 2018.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Clasificación de la investigación

Estudio descriptivo, observacional, transversal y retrolectivo

Criterios de muestreo y elección del tamaño de la muestra.

Del archivo de patología quirúrgica del Departamento de Patología del INP, se obtuvieron los casos con diagnóstico histopatológico de linfoma de Hodgkin y tinciones para la identificación de virus de Epstein-Barr (LMP-1 y EBER). Se

selecciono de esta población solamente aquellos que contaron con determinación sérica de carga viral por lo que la muestra elegible fue la correspondiente al periodo de Enero 2015-Diciembre 2018.

Criterios de inclusión.

- Casos de pacientes de 0 a 18 años con diagnóstico de Linfoma de Hodgkin que cuenten con los anticuerpos LMP-1/ EBER en ganglio linfático, carga viral serológica para VEB y expediente clínico completo en el INP en el período Enero 2015-Diciembre 2018.

Criterios de exclusión.

- Casos de consulta extra INP.
- Casos diagnosticados como recidivas o recurrencias.
- Casos de pacientes con tratamiento previo a la toma del ganglio linfático

Descripción general del estudio.

Se analizó la base de datos del sistema del departamento de patología de pacientes con diagnóstico de linfoma de Hodgkin; así como los resultados de la carga viral para VEB serológica otorgados por el departamento de Virología de los pacientes con diagnóstico de linfoma de Hodgkin del periodo 01 de Enero 2015 al 31 de Diciembre 2018. Se realizó la revisión de las preparaciones histológicas para confirmar el diagnóstico de Linfoma de Hodgkin y el subtipo histológico. De las preparaciones de LPM-1 y EBER, se evaluó la magnitud y localización de la tinción definida como negativa (ninguna célula de Reed-Sternberg y sus variantes fue positiva), intensa difusa (más del 5% las células de Reed-Sternberg y sus variantes fueron positivas con intensidad +++), e intensa focal (menos del 5% de las células de Reed-Sternberg y sus variantes fueron positivas con intensidad +++). Se revisaron los expedientes clínicos de los casos seleccionados recolectando la etapa clínica, síntomas B y datos demográficos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se realizó un análisis univariado por medio de pruebas de tendencia central para conocer las características de la muestra estudiada, y así establecer el tipo de

distribución de cada variable; tratándose de una variable numérica continua, se realizó el cálculo de la media y desviación estándar (edad) mientras que para las variables categóricas se obtuvo proporciones (Sexo, subtipo histológico, tinción para LMP-1/ EBER, carga viral serológica para VEB y etapa clínica).

ASPECTOS ÉTICOS:

Este estudio cuenta con la aprobación del Comité de Enseñanza y se llevó a cabo con la estricta observación de los principios científicos reconocidos y respeto manejando de forma anónima y confidencial los datos obtenidos asegurando la confidencialidad de la información del estudio, así como la identidad de los pacientes.

RESULTADOS.

Se encontraron 26 casos de linfoma de Hodgkin que contaban con los marcadores de LMP-1 y EBER disponibles. Y 15 de ellos además tuvieron determinación sérica de carga viral.

Características generales de la población: en relación con el sexo hubo 14 hombres y 12 mujeres, con una relación de 1.16:1. El rango de edad va de 11 meses a 17 años, con media de 9.8 años. El subtipo histológico más frecuente fue esclerosis nodular que corresponde a 19 de los casos (73%), seguido de celularidad mixta con 4 casos (15%), 2 casos de la variante rico en linfocitos (7%) y un caso de la variante no clásica predominio linfocítico nodular (5%). No se encontró ningún caso del subtipo depleción linfocitaria.

El diagnóstico se realizó en el 84% (22 casos) en un ganglio linfático tomado de la región cervical, en dos ocasiones en ganglio linfático supraclavicular (8%), en una ocasión en ganglio linfático inguinal (4%) y otro caso en ganglio linfático mesentérico (4%). La presencia de síntomas B estuvo presente en 20 casos (76%), y la etapa clínica al momento del diagnóstico más frecuente fue la etapa III con 15 casos (60%), seguida de 6 casos en etapa IV (24%) y solo 4 pacientes en etapa II (16%); uno de los pacientes no contaba con etapa clínica en el expediente ya que no se estadificó por tomografía por emisión de positrones (PET). Además, dos pacientes mostraban patología asociada, una niña de 16 años con síndrome antifosfolípido primario y un niño de 10 años con ataxia telangiectasia. Ninguno de los casos estuvo relacionado con el virus de la inmunodeficiencia adquirida humana (VIH).

En 16 casos (61%) se encontró positividad en el ganglio linfático tanto para LMP-1 como para EBER, de los cuales 14 casos (87%) presentaron síntomas B, y el subtipo histológico más frecuente fue esclerosis nodular con 13 casos (81%); y 10 casos (39%) fueron negativos. No hubo diferencias entre ambos métodos. En la **Tabla 3** se describen las características clínicas e histológicas de ambos grupos.

De los 26 casos, se encontró el reporte de la carga viral serológica para VEB en 15 casos con valores que fueron de negativo 0 a positivo con valor máximo hasta 4198 copias por ml; sin embargo, solo 9 tenían carga viral previo al inicio del tratamiento con quimioterapia, con cargas virales de negativo 0 a positivo con valor máximo de 3045 copias por ml. De estos casos, 5 son hombres y 4 mujeres, con una relación 1.25:1. El rango de edad fue de 4 a 16 años, con media de 9.4 años. En relación con el subtipo histológico, 5 de los casos correspondieron a el subtipo esclerosis nodular, 2 a celularidad mixta, 1 a rico en linfocitos y 1 caso de predominio linfocítico nodular/ LH no clásico. Los síntomas B estuvieron presentes

en 6 de los 9 casos, y la etapa clínica en 6 de los casos fue etapa III, 2 casos en etapa IV y un caso en etapa II. Por lo que las etapas clínicas avanzadas (III/IV) fueron las más frecuentes con 8 de 9 casos.

La carga viral serológica para VEB fue positiva en 4 casos del total de 9 casos encontrados. La asociación con LMP-1/ EBER fue de la siguiente manera: 2 casos fueron positivos para ambas variables; 3 casos fueron positivos para LMP-1/ EBER y negativos para la carga viral serológica para VEB; 2 casos fueron negativos para ambas variables; y 2 casos fueron negativos para LMP-1/ EBER pero positivos para carga viral serológica (368 y 941 copias por ml respectivamente). Por lo que hubo relación entre las dos variables en solo el 44% de los casos. En la **Tabla 4** se describen las características clínicas e histológicas de ambos grupos.

Cabe mencionar que un caso tuvo carga viral serológica para VEB al momento del diagnóstico negativa, y contaba con carga serológica en un periodo de recaída la cual fue positiva en dicho momento (4198 copias por ml).

El patrón de tinción de LMP-1 fue positivo e intenso a nivel de membrana de las células de Reed-Sternberg y sus variantes en 14 de los casos (88%), solo se encontró positividad intensa a nivel de membrana y focal en 2 casos. Y el patrón de tinción de EBER fue positivo intenso a nivel nuclear de las células de Reed-Sternberg y sus variantes en 15 casos (93%), solo un caso fue positivo intenso focal a nivel nuclear. **(Figura 1)**

DISCUSIÓN.

La frecuencia de linfoma de Hodgkin VEB positivo en el INP fue del 61%, por encima de lo reportado en la clasificación de tumores de tejidos linfoides y hematopoyéticos del 2017 que menciona, que representan el 40% de los casos de linfoma de Hodgkin. Esto puede ser debido a que se describe que la frecuencia de la infección de VEB está relacionada con la edad, el sexo, localización geográfica, infección por VIH, entre otras características. La relación que encontramos 1.16:1 con respecto al sexo masculino fue similar a lo mencionado por la OMS 2017 que menciona hay una ligera predilección por el sexo masculino. La edad media de presentación de nuestro trabajo fue de 9.8 años, con edad mínima de 11 meses y máxima de 17 años; a diferencia de lo publicado por Dinand et al en el 2015 quienes mencionan que en su población de estudio (30 pacientes) la edad media fue de 8.7 años, mínima de 3.5 años y máxima de 18 años. B. D. Myriam et al en el 2016 publicaron un trabajo donde incluyeron pacientes pediátricos y adultos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin, donde mencionan que su población pediátrica

representaba el 21.4% (28 casos) con un rango de edad de 4-16 años. Por lo que nuestro trabajo fue relativamente similar con respecto a las poblaciones de estudio.

El 88% de los pacientes en el INP con linfoma de Hodgkin se presentan en estadios avanzados de la enfermedad (etapa III y IV) por encima de lo reportado por la OMS 2017(40%), lo que puede estar relacionado con el atraso en el diagnóstico que se genera ya que el INP se considera un centro de referencia de nuestro país. El subtipo esclerosis nodular se encontró es la más frecuente en nuestra población representando el 73%, similar a lo observado por B. D. Myriam et al 2016 que represento en su población el 69%, sin embargo como se había mencionado este estudio fue realizado con población pediátrica y adultos de Túnez, África. En contraste con nuestro trabajo, Dinand et al 2015 menciona en su trabajo que el subtipo más frecuente de su población fue celularidad mixta, que represento el 63% de los casos, y el subtipo esclerosis nodular solo estuvo en el 20% de los casos; dicho trabajo fue realizado en pacientes pediátricos de la India.

La frecuencia de los casos de Linfoma de Hodgkin VEB positivo fue del 61% en nuestro trabajo, a diferencia del 53% encontrado por Dinand et al 2015; y de los casos reportados por B. D. Myriam et al 2016 donde estos casos representaron el 47.3% de su población. Sin embargo, en el estudio de Dinand et al 2015 solo realizaron la tinción de LMP-1 y en el trabajo de B. D. Myriam et al 2016 solo realizaron la tinción de EBER y su población es pediátrica y adultos.

La tinción que se describe en los casos de linfoma de Hodgkin VEB positivo fue similar en nuestro trabajo. La tinción fue positiva intenso en membrana celular para LMP-1 e intensamente positiva a nivel nuclear en el caso de EBER en las células de Reed-Sternberg y sus variantes, con un patrón difuso en 13 de los 16 casos de linfoma de Hodgkin VEB positivo; sin embargo, encontramos tres casos en el que el patrón fue focal en alguno de los dos anticuerpos. Debido a que encontramos diferencias notables en la frecuencia de Linfoma de Hodgkin VEB positivo y que 3 de nuestros casos mostraron tinción focal en alguno de los dos anticuerpos (LMP-1/ EBER) recomendamos que se realicen ambos anticuerpos al valorar a estos pacientes.

La carga viral serológica para VEB fue positiva en el 44.4% de nuestros pacientes con linfoma de Hodgkin VEB positivo a diferencia del 66.6% de casos positivos que encontraron en su trabajo Dinand et al 2015; sin embargo su población fue ligeramente mayor (30 pacientes) y su trabajo es una cohorte en la que toma solo a los pacientes que ya cuentan con la carga viral serológica para VEB para valorar la sobrevida en relación con dicho parámetro. En el trabajo de B. D. Myriam et al

2016 no toman en cuenta la carga viral serológica para VEB como una de sus variables.

La asociación de la carga viral serológica para VEB y la tinción de LMP-1/ EBER fue diferente a la reportada por otros trabajo, ya que se encontró que los pacientes con tinción de LMP-1/ EBER mostraron un rango de carga viral que va desde 0-3045 copias por ml; valores menores a los reportados por Dinand et al 2015, quien encontró un rango de 0-50,000 copias por ml. Sin embargo, su estudio incluía más pacientes con carga viral (30 casos) a diferencia de nuestra población de 9 casos con carga viral serológica para VEB previa a tratamiento. Los casos negativos a LMP-1/ EBER mostraron un rango de 0-941 copias por ml, a diferencia de los reportados por Dinand et al 2015 con rango de 0-7,000 copias por ml.

No obtuvimos resultados concordantes en 5 de los 9 casos, ya que 3 casos fueron positivos para LMP-1/ EBER y negativos para la carga viral serológica para VEB; y 2 casos fueron negativos para LMP-1/ EBER pero positivos para carga viral serológica.

CONCLUSIONES:

Los casos de linfoma de Hodgkin VEB positivos son más frecuentes en nuestra población que sus similares negativos. La cantidad de carga viral serológica para VEB en pacientes con linfoma de Hodgkin es menor a la reportada en los artículos existentes. El subtipo esclerosis nodular es el que se relaciona con mayor frecuencia que el resto de los subtipos con la presencia de VEB en tejido de ganglio linfático. No encontramos asociación significativa entre la carga viral serológica para VEB y la tinción de LMP-1/ EBER en ganglio linfático. El patrón de tinción de LMP-1/ EBER que predominó en nuestros casos fue difuso e intenso en células de Reed-Sternberg y sus variantes. Dado el tamaño pequeño de la muestra no fue posible determinar si hay diferencias entre los casos positivos o negativos con relación a las variables clínicas e histológicas.

BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues; International agency for research on cancer Lyon 2017; Stein H, Pileri S, Weiss L, Popemma S; Cap 15, p 423-442.
- 2.- Pediatric pathology; J. Thomas Stocker, Louis P. Dehner, Aliya N. Husain; Wolters Kluwer j Lippincott Williams & Wilkins 2011; 3ra edición; Cap 22, p 990-992.

- 3.-Fitzsimmons L, Kelly GL. EBV and Apoptosis: The Viral Master Regulator of Cell Fate?. *Viruses*. 2017 Nov 13;9(11).
- 4.-Baumforth KR, Young LS, Flavell KJ. The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. *Mol Pathol*. 1999 Dec;52(6):307-22.
- 5.-Navari M, Etebari M, Ibrahimi M. Pathobiologic Roles of Epstein-Barr Virus Encoded MicroRNAs in Human Lymphomas. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr 12;19(4).
- 6.-Epstein, M.; Achong, B.; Barr, Y. Virus particles in cultured lymphoblasts from burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964, 283, 702–703.
- 7.-Fan H, Kim SC, Chima CO. Epstein-Barr viral load as a marker of lymphoma in AIDS patients. *J Med Virol*. 2005 Jan;75(1):59-69.
- 8.-Lee J, Park M, Lee MH. Development of EBV-encoded small RNA targeted PCR to classify EBV positive diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) of the elderly. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Jul 1;8(7):7859-68.
- 9.-Cohen M, De Matteo E, Narbaitz M. Epstein-Barr virus presence in pediatric diffuse large B-cell lymphoma reveals a particular association and latency patterns: analysis of viral role in tumor microenvironment. *Int J Cancer*. 2013 Apr 1;132(7):1572-80.
- 10.- Okamoto A, Yanada M, Inaguma Y. The prognostic significance of EBV DNA load and EBER status in diagnostic specimens from diffuse large B-cell lymphoma patients. *Hematol Oncol*. 2017 Mar;35(1):87-93.
- 11.-Lara J, Cohen M, De Matteo E. Epstein-Barr virus (EBV) association and latency profile in pediatric Burkitt's lymphoma: experience of a single institution in Argentina. *J Med Virol*. 2014 May;86(5):845-50.
- 12.-Piccaluga PP, Navari M, De Falco G. Virus-encoded microRNA contributes to the molecular profile of EBV-positive Burkitt lymphomas. *Oncotarget*. 2016 Jan 5;7(1):224-40.
- 13.-Huppmann AR, Nicolae A, Slack GW. EBV may be expressed in the LP cells of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) in both children and adults. *Am J Surg Pathol*. 2014 Mar;38(3):316-24.
- 14.- Margaret L. Gulley, MD, Sally L. Glaser; 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: 259-267.

- 15.- Hiroshi Kimura, Makoto Morita, Yumi Yabuta; Quantitative Analysis of Epstein-Barr Virus Load by Using a Real-Time PCR Assay; J Clin Microbiol. 1999 Jan;37(1):132-6.
- 16.- Bingler MA, Feingold B, Miller SA. Chronic high Epstein-Barr viral load state and risk for late-onset posttransplant lymphoproliferative disease/lymphoma in children. Am J Transplant. 2008 Feb;8(2):442-5.
- 17.- Komabayashi Y, Kishibe K, Nagato T. Circulating Epstein-Barr virus-encoded micro-RNAs as potential biomarkers for nasal natural killer/T-cell lymphoma. Hematol Oncol. 2017 Dec;35(4):655-663.
- 18.- Spacek M1, Hubacek P, Markova J. Plasma EBV-DNA monitoring in Epstein-Barr virus-positive Hodgkin lymphoma patients. APMIS. 2011 Jan; 119(1):10-6.
- 19.- Veronique Dinand, Anupam Sachdeva, Sanghamitra Datta; Plasma Epstein-Barr Virus (EBV) DNA as a Biomarker for EBV-associated Hodgkin lymphoma; Indian Pediatr. 2015 Aug;52(8):681-5.
- 20.- Park JH, Yoon DH, Kim S. Pretreatment whole blood Epstein-Barr virus-DNA is a significant prognostic marker in patients with Hodgkin lymphoma. Ann Hematol. 2016 Apr;95(5):801-8.
- 21.- Myriam BD, Sonia Z, Hanene S. Prognostic significance of Epstein-Barr virus (EBV) infection in Hodgkin lymphoma patients. J Infect Chemother. 2017 Mar;23(3):121-130.

ANEXO.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES.

Variable	Definición	Categoría	Escala	Unidad de medición
Edad	Genero biológico del paciente	Cualitativa nominal dicotómica	Masculino/femenino	De acuerdo a lo descrito en el expediente
Sexo	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Cuantitativa discreta	Meses, de acuerdo al calendario anual	De acuerdo a lo descrito en el expediente
Subtipo de LH	Variante de linfoma de Hodgkin de acuerdo a la morfología histológica.	Cualitativa nominal politómica	De acuerdo a la clasificación de tumores hematolinfoides de la OMS 2016	Esclerosis nodular Celularidad mixta Depleción linfocitaria Rico en linfocitos Predominio linfocítico nodular
Patrón de positividad de LMP-1	Proteína latente de membrana tipo 1 en células de Reed-Sternberg y sus variantes	Cualitativa policotómica	Positivo a nivel de membrana de células de Reed-Sternberg y sus variantes en la totalidad del ganglio linfático	Positivo difuso Positivo focal Negativo
Patrón de positividad de EBER	RNA codificado de virus de Epstein-Barr en células de Reed-Sternberg y sus variantes	Cualitativa policotómica	Positivo a nivel de núcleo de células de Reed-Sternberg y sus variantes en la totalidad del ganglio linfático.	Positivo difuso Positivo focal Negativo
Carga viral serología	Cantidad de ADN del	Cuantitativa	Cantidad de copias de ADN de virus de	Copias por ml de suero.

	virus de Epstein-Barr a nivel de suero sanguíneo		Epstein-Barr en suero	
Etapa clínica	Estado de la enfermedad al momento del diagnóstico	Cualitativa nominal politómica	De acuerdo a la clasificación Ann Arbor	I II III IV

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.- Clasificación de Ann Arbor para estadificación de linfoma de Hodgkin

ESTADIO I	Compromiso de una sola región de ganglios linfáticos (I) o estructura linfoide (por ejemplo, bazo, timo, anillo de waldeyer).
ESTADIO II	Compromiso de 2 o más regiones de ganglios linfáticos en el mismo lado del diafragma (II) (el mediastino se considera un sitio único).
ESTADIO III	Afectación de las regiones de los ganglios linfáticos en ambos lados del diafragma (III), que puede ir acompañada de una extensión extralinfática en asociación con la afectación de los ganglios linfáticos (IIIE) o la afectación esplénica (IIIS).
ESTADIO IV	Participación de sitio (S) extranodal (ES)

Tabla 2.-Tipos de latencias en infección por virus de Epstein-Barr y linfomas con las que se relacionan.

Latencia	Productos expresados	Ejemplos
Tipo 1	EBNA1, EBERs, BART miRNAs	Linfoma de Burkitt y linfoma plasmablastico, desorden linfoproliferativo asociado a metrotexate.
Tipo 2	EBNA1, LMP1, LMP2s, EBERs, BART miRNAs	Linfoma de Hodgkin, linfoma plasmablastico, linfoma de células T NK, leucemia linfocítica crónica, linfoma difuso de células grandes B, desorden linfoproliferativo asociado a metrotexate, desorden linfoproliferativo post trasplante.
Tipo 3	EBNA1, EBNA2, EBNA3s, LMP1, LMP2s, EBERs, BART miRNAs (negativo a bajo), BHRF1	Desorden linfoproliferativo post trasplante, linfoma difuso de células grandes B, linfoma asociado a piotórax, linfoma difuso de células grandes B asociado a VIH.

Tabla 3. Características clinicopatológicas generales de la población estudiada con relación a la presencia histológica de VEB.

		VEB positivo (N=16)	VEB negativo (N=10)	Total (N=26)
Sexo (hombre- mujer)		8:8	6:4	14:12
Edad media		8.6 (3-16)	11.6 (0.9-17)	9.8 (0.9-17)
Etapa clínica*				
	I	0	0	0
	II	2	2	4
	III	10	5	15
	IV	3	3	6
Síntomas B				
	Positivo	14	6	20
	Negativo	2	4	6
Localización del ganglio linfático				
	Cervical	14	8	22
	Supraclavicular	0	2	2
	Mesenterio	1	0	1
	Inguinal	1	0	1
Subtipo histológico				
Clásico	Esclerosis nodular	13	6	19
	Celularidad mixta	3	1	4
	Rico en linfocitos	0	2	2
	Depleción linfocitaria	0	0	0
No clásico	Predominio linfocítico nodular	0	1	1
Carga serológica para VEB**				
	Positivo	2	2	4
	Negativo	3	2	5

*Un paciente no fue clasificado por estudio de PET-CT.

**Solo 9 casos contaron con carga viral serológica para VEB previa a tratamiento.

Tabla 4.- Características clinicopatológicas generales de la población estudiada con relación a la presencia de carga viral serológica para VEB.

		Carga viral positiva (N=4)	Carga viral negativa (N=5)	Total (N=9)
Sexo (hombre- mujer)		3:1	2:3	5:4
Edad media		11.2 (4-16)	10.8 (8-13)	9.4 (4-16)
Etapa clínica*				
	I	0	0	0
	II	0	1	1
	III	2	4	6
	IV	1	0	1
Síntomas B				
	Positivo	2	4	6
	Negativo	2	1	3
Localización del ganglio linfático				
	Cervical	4	5	9
	Otras	0	0	0
Subtipo histológico				
Clásico	Esclerosis nodular	3	2	5
	Celularidad mixta	0	2	2
	Rico en linfocitos	1	0	1
	Depleción linfocitaria	0	0	0
No clásico	Predominio linfocítico nodular	0	1	1
Tinción de LMP-1/EBER				
	Positivo	2	3	5
	Negativo	2	2	4

*Un paciente no fue clasificado por estudio de PET-CT.

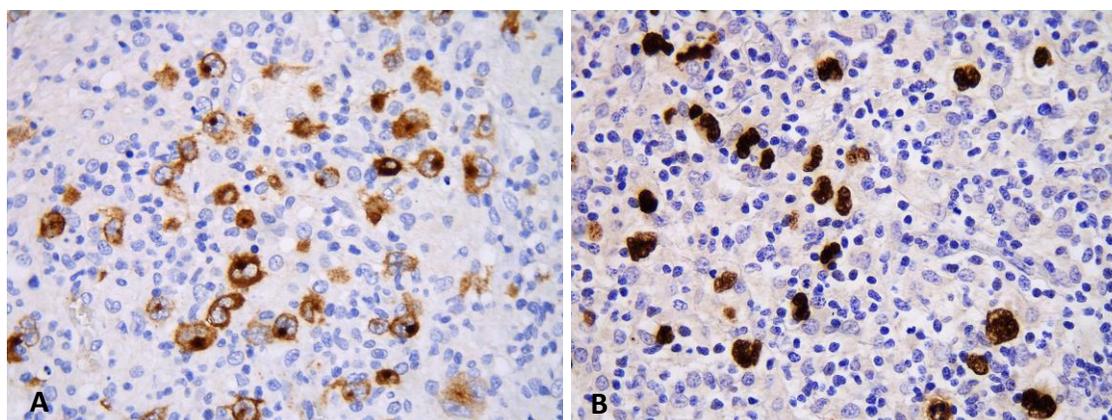


Figura 1.-Patrón de positividad de LMP-1 a nivel de membrana celular intenso y difuso (A) y EBER a nivel nuclear intenso y difuso (B). Imágenes tomadas con permiso del departamento de patología del INP en aumento 40x.