



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA
DR ERNESTO RAMOS BOURS

T E S I S

**COEXISTENCIA DEL VIRUS DE EPSTEIN BARR EN PACIENTES CON LINFOMA
EN ESTUDIOS DE GANGLIO LINFÁTICO UTILIZANDO EL MARCADOR DE
INMUNOHISTOQUÍMICA LMP1**

QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:
Alberto Ibarra Moedano

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. MINOR R. CORDERO BAUTISTA
Hospital General del Estado de Sonora
CODIRECTOR DE TESIS: BIOL. NOHELIA GUADALUPE PACHECO HOYOS
Universidad de Sonora
Hospital General del Estado de Sonora
COMITÉ TUTORAL: DR. JORGE PLATT GARCÍA
Hospital General del Estado de Sonora
DR. ESTEBAN PERAL SANCHEZ
Instituto Mexicano del Seguro Social

Hermosillo Sonora; julio 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.

FIRMAS DE AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ DIRECTIVO DE TESIS

Los presentes han revisado el trabajo del médico residente de tercer año Alberto Ibarra Moedano y lo encuentran adecuado para continuar con su proceso de titulación para obtener su grado de médico especialista en Anatomía Patológica.



Dr. Minor R. Cordero Bautista
Tutor Principal
Hospital General del Estado de Sonora



Biol. Nohelia Guadalupe Pacheco Hoyos
Codirector de Tesis
Universidad de Sonora
Hospital General del Estado de Sonora



Dr. Jorge Platt García
Miembro del comité tutorial
Hospital General del Estado de Sonora



Dr. Esteban Peral Sánchez
Miembro del comité tutorial
Instituto Mexicano del Seguro Social



Hospital General del Estado
"Dr. Ernesto Ramos Bours"
División de Enseñanza e Investigación
No. de Oficio: SSS/HGE/EM/652/16
Hermosillo, Sonora a 26 de julio de 2016

2016: "Año del Diálogo y la Reconstrucción"

OFICIO DE LIBERACIÓN DE TESIS

La división de enseñanza e Investigación del Hospital General del Estado de Sonora hace constar que realizó la revisión del trabajo de tesis del médico residente: *Ibarra Moedano Alberto*; cuyo título es:

COEXISTENCIA DEL VIRUS DE EPSTEIN BARR EN PACIENTES CON LINFOMA EN ESTUDIOS DE GANGLIO LINFÁTICO UTILIZANDO EL MARCADOR DE INMUNOHISTOQUÍMICA LMP1

Se considera que la tesis reúne los requisitos solicitados por la Universidad Nacional Autónoma de México y se acepta para ser presentada en el examen de grado.

**ATENTAMENTE
SUFRAGIO EFECTIVO, NO REELECCIÓN.
EL SUBJEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E
INVESTIGACIÓN**


DR. ELEAZAR VALLE ARMENTA

C.p. Archivo
NGPH



AGRADECIMIENTOS

Quiero empezar agradeciendo a la máxima casa de estudios de nuestro país, la Universidad Nacional Autónoma de México que debido a sus programas de posgrado, hoy se me permite concluir mi especialidad.

A la Secretaría de Salud, que mediante sus diversos servicios en los distintos hospitales, se cuenta con el material humano para seguir con el bienestar de nuestros pacientes.

Al Hospital General del Estado de Sonora, quien me recibió durante toda mi estancia como médico residente y que agrupa a personas valiosas e importantes para mí.

Al Dr. Cordero, quien durante estos tres años ha sido mi maestro y compañero, aconsejándome para mi mejor futuro y dándome las herramientas para todo aquello que viene por delante.

A la maestra Nohelia, quien además de ayudarme en mi proyecto final, ha sido un gran apoyo en las circunstancias que he pasado durante mis últimos dos años de residencia.

Al Dr. Platt, quien día a día nos motiva a seguir en el camino de la actualización, con esas invitaciones interminables pero que al aceptarlas, las recompensas son enormes.

Al Dr. Peral, quien durante mi primer año de residencia me aconsejo y enseñó las bases más importantes para llevar a cabo mi profesión.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Quiero agradecer a Dios, por poner las cosas en el lugar donde debe de estar en el momento en que tienen que estar.

Agradecer a mi mamá y a mi papá, que son mi ejemplo de vida, que me enseñaron desde pequeño los valores que constituyen mi personalidad, que me han apoyado en todas las decisiones que he tomado, sobre todo desde que comencé esta travesía, mostrándome como siempre su apoyo absoluto en este trayecto, pero sobre todo su amor incondicional a pesar de la distancia que nos separaba.

A mi esposa, quien ha sido mi amiga, mi novia, mi confidente, que ha estado conmigo en los instantes más importantes de mi vida, en los buenos y malos momentos que definen nuestras vidas, nuestro matrimonio y que fortalecen nuestro mutuo respeto, confianza, cariño y amor.

A mi hijo, quien llego hace no mucho tiempo, pero que se ha robado mi atención, mi tiempo, mi cariño, mi amor; quien me mostró que la vida es tan impresionante con cosas que muchas veces pueden ser insignificantes.

A mis abuelito Nacho[†] y a mi tata Sóstenes[†], quienes me enseñaron durante casi 30 años el valor de la vida, lo esencial de la familia y lo importante que es seguir luchando a cada instante hasta el último suspiro.

A mis abuelitas Raquel y Ofelia, quienes me han consentido como buen nieto y que me han cuidado como un hijo más de su vida.

A mi hermana, quien fue la primera persona que me enseñó la importancia de no estar solo en este mundo y lo fundamental que es tener un cómplice en las travesuras, pero sobre todo en los triunfos.

Al Dr. Roberto de León Caballero, quien me ha compartido sus conocimientos, ha contribuido en mi enseñanza, formación y que continúa con esa flama de discernimiento vivaz que me ha permitido adentrarme a este universo extraño como lo es la patología.

A la Dra. Ruiz y a la Dra. Zamudio, quienes día a día siguen contribuyendo a mi formación académica y profesional.

A mis compañeros residentes, Irazú, por enseñarme a ser estricto en mi trabajo y a ser lo más perfecto posible para llevar a cabo mi profesión; a Roberto Olivas, quien me mostró que la dedicación y la iniciativa son partes fundamentales para nuestro laborar diario.

A mis compañeras Cruz, Sari, Marylolis y Cinthya, por aguantar mi personalidad tan obsesiva para sacar el trabajo adelante.

DEDICATORIA

Este trabajo de lo dedico a mis padres, Maria de Jesus (Palina) y Alberto, a mi hermosa esposa Paulina y a mi adorado y amado hijo, José Alberto, porque son lo más fundamental e importante de mi mundo y de mi vida: Mi Familia.

Creo firmemente en la frase “por algo pasan las cosas” agregándole personalmente que “por algo dejan de pasar”. Si bien es cierto que Stephen Hawking “ha notado que aun la gente que dice que todo está predestinado y que no podemos hacer nada para cambiar nuestro destino, mira antes de cruzar la calle”, también es cierto lo que Albert Einstein nos dice: “somos arquitectos de nuestro propio destino”, “una locura es hacer la misma cosa una y otra vez esperando obtener resultados diferentes. Si buscas resultados distintos, no hagas siempre lo mismo”.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	10
MARCO TEÓRICO	
Linfoma de Hodgkin	
Antecedentes Históricos	11
Definición y clasificación	12
Epidemiología	16
Características clínicas	16
Diagnóstico	17
Linfoma No Hodgkin	
Definición y clasificación	20
Epidemiología	22
Características clínicas	24
Diagnóstico	26
Virus de Epstein Barr	
Antecedentes	29
Características virológicas	29
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
JUSTIFICACIÓN	35
OBJETIVOS	36
HIPÓTESIS	37
MATERIALES Y MÉTODO	38
RESULTADOS	44
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	57
LITERATURA CITADA	59
ANEXOS	63

RESUMEN

La incidencia de neoplasias en México ha ido en aumento, sobre todo en los últimos años. Existen diversos factores que han contribuido al desarrollo de estas enfermedades como los son los ambientales, sociales, genéticos e infecciosos, estos últimos teniendo una asociación bastante fuerte en los linfomas, tanto de Hodgkin como los no Hodgkin; dentro de estos agentes infectantes están bacterias, hongos y virus, por lo que el objetivo de este trabajo es estudiar la relación del virus de Epstein Barr en pacientes con linfoma utilizando un anticuerpo de inmunohistoquímica en ganglio linfático para corroborar la coexistencia dicho patógeno.

Se tomaron 168 muestras del archivo del laboratorio de patología del Hospital General del Estado de Sonora en un periodo de 8 años, comprendido desde agosto de 2008 hasta julio de 2016, observando en una mayor cantidad de casos el diagnóstico mediante ganglio linfático (67.9%) en comparación de los casos diagnosticados con tejido extranodal (32.1%). De esos diagnosticos nodales, el 69.3% (79 casos) correspondía al diagnóstico de linfoma No Hodgkin mientras que el 30.7% (35 casos) correspondían al diagnóstico de linfoma de Hodgkin.

La asociación que tuvieron estos casos con la presencia del virus de Epstein Barr fue de 28.6% en los linfomas de Hodgkin y del 3.8% en los linfomas No Hodgkin. Esta relación se compara con distintos países del mundo y se hacen comparaciones más específicas con algunos países de América latina.

ABSTRACT

The incidence of neoplasms in Mexico has been increasing, especially in recent years. Several factors have contributed to the development of these diseases as are the environmental, social, genetic and infectious disease, this one having a very strong association in lymphomas, both Hodgkin's lymphoma and non-Hodgkin's lymphoma; within these infective agents are bacteria, fungi and viruses. The aim of this work is to study the relationship of Epstein Barr virus in patients with lymphoma using an antibody immunohistochemistry in lymph node to corroborate that coexistence of this pathogen.

168 samples were obtained from the General Hospital of the State of Sonora pathology's department over a period of 8 years, ranging from August 2008 to July 2016, noting in a greater number of cases diagnosed by lymph node (67.9%) compared of cases diagnosed with extranodal tissue (32.1%); 69.3% of nodal diagnosis (79 cases) corresponded to non-Hodgkin's lymphoma while 30.7% (35 cases) related to the diagnosis of Hodgkin's lymphoma.

The association had these cases with the presence of Epstein Barr virus was 28.6% in Hodgkin and 3.8% in non-Hodgkin's lymphomas. This ratio compares with different countries of the world and more specific comparisons are made with some countries in Latin America.

INTRODUCCIÓN

Las personas somos seres vivos que evolucionamos con el tiempo, adaptándonos a las circunstancias de cada día y resolviendo los problemas que se presenten en ellos. Así lo hacen cada una de nuestras células, las cuales tienen distintos estímulos que las obligan a reaccionar y, en algunas ocasiones, mutar hacia caminos desconocidos, cambiando su forma, su mecanismo de interacción y hasta su sitio de origen. Las neoplasias hematolinfoides no son la excepción a estos procesos, ya que hay diversos estímulos que promueven una malignización de sus componentes.

El siguiente trabajo está enfocado en determinar la presencia de un virus particular (Epstein Barr), con características específicas y su relación con una de las enfermedades linfoides más frecuentes: el linfoma, tanto es sus dos variedades, Hodgkin y no Hodgkin.

Este trabajo fue elaborado en el Hospital General del Estado de Sonora, buscando tejidos almacenados en bloques de parafina y a los cuales se les aplicó una inmunorreacción de anticuerpo para demostrar o no la coexistencia del virus con la enfermedad.

Los resultados obtenidos en cuanto a la relación del virus y cada uno de los subtipos de linfoma, son comparados con distintos estudios, tanto nacionales como internacionales, demostrando sus resultados mediante tabulaciones y gráficas.

MARCO TEÓRICO

LINFOMA DE HODGKIN

Antecedentes Históricos

Las enfermedades linfoproliferativas han estado descritas desde 1666 por Malpighi; sin embargo, no fue hasta 1832 cuando Thomas Hodgkin presentó ante la Sociedad Médico Quirúrgica Inglesa su trabajo sobre el estudio anatómico-patológico de siete casos que presentaban crecimiento de ganglios linfáticos y del bazo. En 1865 Sir. Samuel Wilks, publicó un artículo titulado “Enfermedad Lardácea” en donde hace mención a los hallazgos de Hodgkin, detallando 45 casos (incluidos 4 de los 7 publicados por Hodgkin) clínica y anatómicamente, llamando en su artículo a esta entidad “Enfermedad de Hodgkin”. En ese mismo año, Wilks realizó la primera descripción histológica, aunada a descripciones por Virchow, Langerhans, Greenfeld y Andrews. Fue hasta 1892 cuando Carl Sternberg de Viena y posteriormente en 1902 Dorothy Reed (colaboradora de William Welch, en el hospital de Johns Hopkins) describieron con detalle las características células gigantes que hoy llevan el epónimo Reed-Sternberg (RS). Algo distintivo es que ninguno de éstos dos investigadores consideró la enfermedad de Hodgkin como maligna; Carl Sternberg pensó que se trataba de una reacción de tipo tuberculosa y Dorothy Reed especuló que era un proceso inflamatorio reactivo (1).

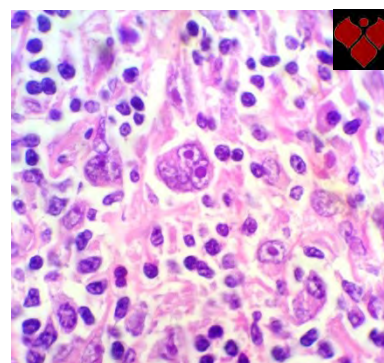
Definición y clasificación

El linfoma de Hodgkin es una neoplasia maligna que presenta una composición celular especial, ya que las células neoplásicas son minoritarias y el mayor componente está constituido por células inflamatorias; las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg (RS) así como sus variantes constituyen menos del 5% de la celularidad total y el componente no neoplásico está conformado por linfocitos, histiocitos, eosinófilos y células plasmáticas. Ésta mínima cantidad de células linfoides malignas que proliferan en dicha enfermedad es la causa por la cual ha sido difícil su clasificación (2).

El linfoma de Hodgkin, que unifica los diferentes tipos histológicos, se define por la identificación de las células Sternberg Reed diagnósticas en el entorno celular apropiado. Ambas partes de esta definición son fundamentales. Primero, la célula de Reed Sternberg es una célula grande que puede tener un núcleo lobulado, bilobulado o multinucleado y contiene inclusiones homogéneas, acidófilas, semejantes a nucléolos, que son aproximadamente un cuarto del tamaño del núcleo; el citoplasma es generalmente abundante y anfófilo. Existen variantes de este tipo de célula que ayudan en el diagnóstico del subtipo de linfoma de Hodgkin.

La definición moderna de linfoma de Hodgkin, por lo tanto, requiere la incorporación de criterios inmunológicos con el fin de diferenciar las células de Hodgkin y las células de Reed-Sternberg de los linfomas no Hodgkin que simulan histológicamente, y puede ser indistinguibles, del linfoma de Hodgkin (3).

Existen variantes de células de Reed-Sternberg (incluyendo una forma mononuclear, plegada y de forma lobulada: palomita de maíz o "popcorn"), también



Célula de Reed-Sternberg. Archivos: Departamento de Patología del Hospital general del Estado de Sonora.

conocidas como células LP y célula lacunar. Sin embargo, se han visto células de Reed-Sternberg y sus variantes en condiciones distintas al linfoma de Hodgkin, incluyendo enfermedades como la mononucleosis infecciosa y en linfomas no Hodgkin, por lo que encontrar únicamente la célula de Reed-Sternberg es insuficiente para un diagnóstico absoluto de enfermedad de Hodgkin. Se debe considerar además el fondo celular, el cual suele ser heterogéneo en el linfoma de Hodgkin, incluyendo diversas mezclas de linfocitos pequeños con irregularidades de la membrana nuclear carentes o significativos, además de células plasmáticas, células linfoides grandes, histiocitos y diferentes mezclas de células inflamatorias incluyendo eosinófilos y polimorfonucleares, con o sin necrosis.

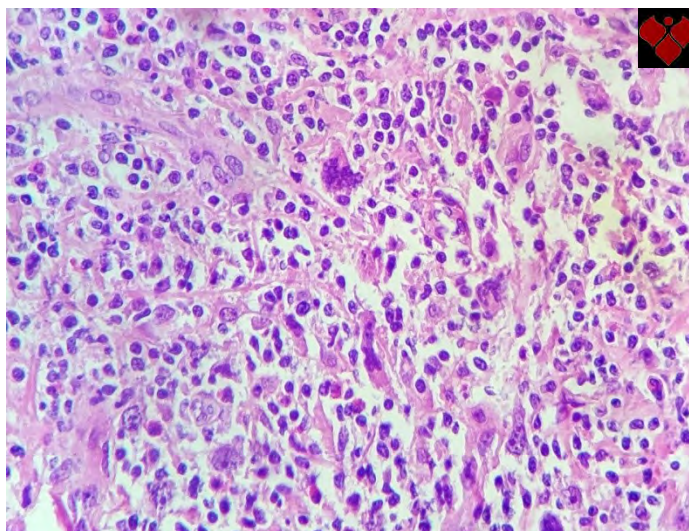
En la actualidad, la OMS reconoce dos tipos histológicos del Linfoma de Hodgkin, uno de ellos es el de “Predominio linfocítico nodular” y el otro es el “Clásico”, este último con cuatro subtipos: esclerosis nodular, celularidad mixta, rico en linfocitos y depleción linfocitaria. El pronóstico de estas cuatro variantes progresa desde bueno a malo.

Predominio linfocítico

Es una forma poco frecuente de linfoma de Hodgkin. Afecta con más frecuencia a los varones menores de 30 años. Los casos típicos se suelen diagnosticar en estadios tempranos con la enfermedad localizada en ganglios cervicales. Tiene un buen pronóstico aunque tiene más tendencia a recurrir que los subtipos clásicos. Se caracteriza por el borramiento de la estructura ganglionar debido a un infiltrado con numerosos linfocitos pequeños reactivos e histiocitos en cantidades variables. Se observan también células de Reed-Sternberg en su variante linfohistiocítica. Sin embargo otras células como eosinófilos, células plasmáticas o neutrófilos son difíciles de encontrar. Las células linfohistiocíticas expresan marcadores como CD20, pero son CD15 y CD30 negativas. No se asocia al virus de Epstein Barr y existen pocos indicios de necrosis o fibrosis.

Esclerosis nodular

Es la presentación más frecuente de linfoma de Hodgkin, llegando a ser entre 65 y 75% de todos los casos. Se da con la misma frecuencia en varones y mujeres jóvenes. En este subtipo de linfoma de Hodgkin es frecuente la afectación de los ganglios mediastínicos,

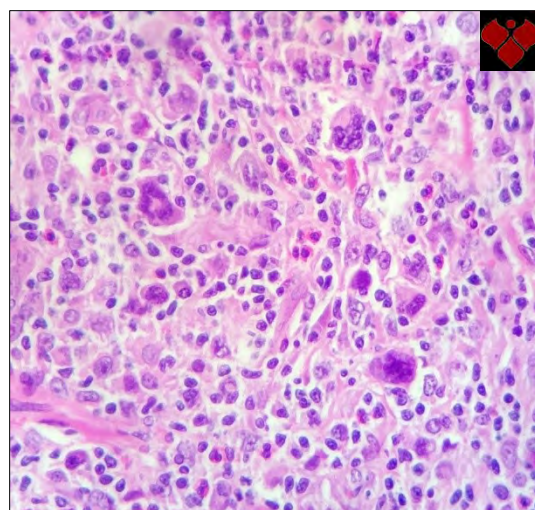


Esclerosis Nodular. Célula de Hodgkin rodeadas por bandas de tejido conjuntivo. Archivos: Dep. de Patología del HGE de Sonora.

cervicales inferiores y supraclaviculares. Así mismo puede aparecer afectación de otros órganos como el bazo, el hígado o la médula ósea. Morfológicamente se caracteriza por la presencia de células lacunares y células de Reed-Sternberg diagnósticas, bandas de colágeno que se disponen subdividiendo el tejido tumoral en nódulos, y un infiltrado inflamatorio de fondo compuesto por linfocitos T pequeños, eosinófilos, células plasmáticas y macrófagos. Las células tumorales tienen un fenotipo característico: son positivas para CD15 y CD30, y negativas para CD45 y marcadores de células T y B. Rara vez se presenta asociado al virus de Epstein-Barr.

Celularidad Mixta

Este subtipo tiene mayor prevalencia en varones jóvenes y en adultos mayores de 55 años. Más de la mitad de los casos se diagnostican con enfermedad en estadio 3 o mayor. El pronóstico es intermedio con una tasa de curación del 75%. Se



Células de Hodgkin y Reed Sternberg con infiltrado acompañante de eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas. Archivos: Dep. de Patología del HGE de Sonora. 14

observa un borramiento difuso de la estructura ganglionar provocado por un infiltrado heterogéneo compuesto por linfocitos T, células plasmáticas, eosinófilos, macrófagos y células tumorales. Las células de Reed-Sternberg diagnósticas y las variantes mononucleares también son frecuentes. El inmunofenotipo es similar al visto en los casos de esclerosis nodular y el resto de subtipos clásicos. Este subtipo de linfoma de Hodgkin se asocia en el 70% de los casos al virus de Epstein-Barr.

Rico en linfocitos

Es un subtipo que aparece con muy poca frecuencia. Se desarrolla con mayor predominio en varones y tiende a aparecer en adultos mayores. Su característica principal es un infiltrado celular con gran mayoría de linfocitos reactivos, también encontramos células de Reed-Sternberg y células mononucleares. En algunos casos se puede observar modularidad vaga debido los folículos de células B residuales, pero en la mayoría de los casos están difusamente borrados. Tienen el inmunofenotipo característico de los subtipos clásicos: CD15+ CD30+. El 40% de los casos aparece asociado al virus de Epstein-Barr.

Depleción linfocitaria

Es una forma poco frecuente de linfoma de Hodgkin, que se da prevalentemente en varones. Aparece asociada a la edad, a individuos VIH+ y en países subdesarrollados. Se suele diagnosticar en estadios avanzados de la enfermedad acompañado de síntomas sistémicos. Morfológicamente se describen muy pocos linfocitos reactivos y frecuentes células de Reed-Sternberg y de sus variantes. Tiene el fenotipo de los subtipos clásicos (CD15+ CD30+), el cual nos sirve para diferenciarlo de los linfomas no Hodgkin de células grandes con los cuales guarda algunas similitudes. Aparece asociado al virus de Epstein Barr en la mayoría de los casos. Existen dos variantes de este subtipo: una reticular y otra difusa.

Epidemiología

El linfoma de Hodgkin representa tres casos por cada 100 000 habitantes al año y el 10% de los Linfomas de Estados Unidos; de los cuales el 85% se presenta en varones con una curva de incidencia bimodal: 15 a 34 años y después de los 50 años. La American Cancer Society Cáncer estimó para el 2010, 8490 casos de los cuales 4670 serían hombres, con una muerte estimada de 1320 casos. Para la Unión Europea la incidencia es de 2.2 por cada 100,000 habitantes al año, con una mortalidad de 0.7 por 100,000 habitantes al año. Durante la última década la supervivencia de pacientes tratados con Linfoma de Hodgkin ha mejorado sustancialmente y el porcentaje de cura para esta neoplasia es del 80 al 85% 4.

En México hasta el 2003 se reportaron 935 casos, con mayor incidencia en el grupo de varones de 15 a 19 años y en mujeres igual incidencia en los grupos de 15 a 19 y de 20 a 24 años. En el Instituto Nacional de Cancerología hasta el 2004 se presentaron el 0.8% de los linfomas, con 162 casos diagnosticados de los cuales 88 fueron hombres y 74 mujeres 4.

Características Clínicas

Desde el punto de vista clínico, el linfoma de Hodgkin se manifiesta por el aumento del tamaño de un ganglio linfático o grupo de ellos. La historia natural de la enfermedad lleva a la diseminación a grupos ganglionares vecinos, con afectación de hígado, bazo y médula ósea.

En los linfomas de Hodgkin Clásicos, el subtipo Esclerosis Nodular es el más frecuente (60-80% de los casos). Incide en adolescentes y adultos jóvenes aunque puede aparecer a cualquier edad. La afectación mediastínica y supradiafragmática son las más frecuentes. El subtipo Celularidad Mixta, constituye el 15-30% de los casos y aparece a cualquier edad. La afectación del mediastino es poco frecuente y sin embargo la afectación

del bazo y de los ganglios abdominales es más común. La variedad Rico en Linfocitos, constituye aproximadamente el 6% de los casos, con una mayor incidencia en varones de edad media. Por otro lado, el tipo Depleción Linfocitaria, es la forma menos frecuente de LH, siendo una enfermedad de ancianos y pacientes VIH seropositivos. Se presenta con linfadenopatía abdominal, hepatoesplenomegalia y afección de médula ósea.

El Linfoma de Hodgkin con Predominio Linfocítico constituye el 5% de los casos, afectando a pacientes del sexo masculino entre los 25 y 45 años de edad suele involucrar ganglios periféricos respetando el mediastino. El 80% de los pacientes están en estadios iniciales en el momento del diagnóstico y prácticamente todos los pacientes (90 al 95%) hacen remisiones completas después del tratamiento. Las recaídas tardías y múltiples son más frecuentes que en los otros tipos de linfoma de Hodgkin Clásico, aunque suelen ser recaídas ganglionares aisladas que no se asocian con menor supervivencia. Además, estos pacientes tienen un riesgo mayor de desarrollar linfoma No Hodgkin que los pacientes con linfoma clásico.

Diagnóstico

Para el diagnóstico de Linfoma de Hodgkin se requiere una biopsia de un ganglio linfático afectado para confirmar el diagnóstico; por lo general, una biopsia con aguja del ganglio linfático no es suficiente para realizar un diagnóstico concluyente, por lo que es necesario obtener uno completo para la identificación morfológica de la célula de Reed Sternberg o sus variantes y el entorno inflamatorio celular, así como en el inmunofenotipo de estas células.

Dentro de las características del linfoma de Hodgkin clásico, en la Esclerosis Nodular se observa un patrón en nódulos debido a la presencia de bandas fibrosas junto a

áreas difusas. La célula característica es la variante lacunar de la célula de Reed Sternberg; tiene núcleo multilobulado, nucleolos pequeños y abundante citoplasma pálido que se retrae en el tejido fijado en formol y produce un espacio vacío “en laguna”. Estas células suelen ser abundantes. El componente no neoplásico contiene linfocitos mayoritariamente de estirpe T, histiocitos, células plasmáticas, eosinófilos y neutrófilos. Es frecuente la presencia de necrosis siendo más numerosas las células neoplásicas alrededor de los focos necróticos.

En la Celularidad Mixta, el infiltrado es difuso, las células neoplásicas son del tipo Reed Sternberg clásico, es decir, células bi o multinucleadas con nucléolos grandes, eosinofílicos que semejan inclusiones virales, acompañadas de infiltrado que contiene linfocitos T, histiocitos, eosinófilos, neutrófilos y células plasmáticas.

En la variante Rico en Linfocitos, las células neoplásicas son de tipo clásico o lacunar y el componente no neoplásico está constituido mayoritariamente, como su nombre lo indica, por linfocitos.

En los casos de Depleción linfocitaria, presentan patrón difuso y las células neoplásicas son abundantes, en ocasiones de aspecto sarcomatoso, siendo el infiltrado no neoplásico muy escaso.

El linfoma de Hodgkin Predominio Linfocítico, se define por tener un patrón de crecimiento nodular que ocupa al menos el 30% del ganglio afectado con o sin áreas difusas. La variante de célula Reed Sternberg que lo define, se caracteriza por poseer un núcleo vesicular polilobulado con nucléolos pequeños periféricos sin halo perinucleolar. Estas células se denominan células LH (o células en “palomita de maíz”). El fondo inflamatorio está constituido predominantemente por linfocitos acompañados de histiocitos mientras que las plasmáticas, los eosinófilos y neutrofilos generalmente no están presentes.

Lo más característico en el diagnóstico inmunohistoquímico del linfoma de Hodgkin clásico, es la expresión del CD30 y CD15, siendo negativas para CD45. Estos dos anticuerpos no son específicos de la célula de Reed Sternberg, sin embargo, su expresión es positiva en un alto porcentaje de casos (98% para CD30 y 84% para CD15). Aun así, estos dos marcadores no indican el origen de las células tumorales. El CD30 es una glucoproteína transmembrana tipo I compuesta por 595 aminoácidos, de 120/105 kDa de peso molecular, y miembro de la familia de factor de necrosis tumoral (TNFP superfamily). La expresión de CD30 es característica pero no exclusiva de las células de R-S y consiste en positividad en la membrana y en la zona del aparato de Golgi. El CD15 marca la membrana celular, el citoplasma y en forma de “punto paranuclear” en la zona del aparato de Golgi; puede ser positivo en pocas células e incluso estar restringido a escasos gránulos en la zona del aparato de Golgi. Sólo en algunos casos se detecta, en las células de Reed Sternberg, expresión débil de diferentes antígenos de linaje B como CD20 y CD79a. Otro antígeno asociado a linaje B que se expresa en el 90% de los casos es PAX-5. La ausencia de expresión conjunta de CD30 y CD15 o la expresión de CD20 intensa en las células neoplásicas obliga a reconsiderar el diagnóstico debiéndose descartar un Linfoma de Hodgkin de Predominio Linfocítico o linfoma B de células grandes.

La variedad nodular de predominio linfocítico expresa CD45 y antígenos de estirpe B de forma que son CD20+ y CD79a+. Frecuentemente expresan EMA y son CD15-. La expresión débil de CD30 se observa en un porcentaje pequeño de casos. Los nódulos están constituidos mayoritariamente por linfocitos B con frecuentes células T CD57+. El estudio inmunohistoquímico ayuda a reconocer el patrón de crecimiento nodular y en particular las tinciones con CD20 y CD21.

Linfoma No Hodgkin

Definición y clasificación

El linfoma No Hodgkin (LNH) comprende un grupo de enfermedades relacionadas entre sí. Cada variedad histológica de LNH se caracteriza por la transformación maligna de las células linfoides, con morfología, genética, inmunofenotipo y clínica diferente. Hay más de 30 tipos diferentes de LNH, aproximadamente 90% son linfomas de células B y en esta línea celular se encuentran 14 variedades; el otro 10% corresponde a linfoma de células T (6). El linfoma no Hodgkin es un tipo de cáncer producido en el sistema linfático. El sistema linfático está constituido por la linfa, los vasos linfáticos, ganglios linfáticos, bazo, amígdalas, timo y médula ósea (5). Son más frecuentes en adultos que en niños y tienen un incremento gradual con la edad, sobre todo a partir de los 50 años. La edad promedio al diagnóstico es de 45 a 55 años. Hay diferencias clinicopatológicas importantes en los LNH de la infancia con los de la edad adulta. En niños la incidencia es rara, tiene predominio extranodal, del 50 al 70% presentan inmunofenotipo B, es agresivo y se cura en el 70 al 90% de los casos. En adultos la incidencia es alta, con predominio nodal, el 70 al 90% corresponden a inmunofenotipo B, de curso clínico variable y tasa de curación aproximadamente del 30%⁷.

La clasificación actual de la Organización Mundial de la Salud de los tumores de los tejidos hematopoyéticos y linfoides en su cuarta edición (Lyon, Francia 2008), describe las diferentes categorías de las neoplasias linfoides (Cuadro 1) (7). En este trabajo se tomarán en cuenta tanto los linfomas No Hodgkin de inmunofenotipo B y, aunque constituyen los subtipos menos frecuentes en nuestro hospital, los de inmunofenotipo T.

Cuadro 1. Características genéticas en los subtipos de linfoma No Hodgkin más frecuentes. Modificado de Guerra Soto y colaboradores, 2013 ⁶

Tipo de LNH	Translocaciones	Casos Afectados	Protooncogenes	Mecanismos	Función
Histológicamente	Observada		Involucrados	activación	
Linfoma Linfoplasmocítico	t(9;14)(p13;q32)	50%	PAX5	Desregulación transcripcional	Factor de transcripción que regula la proliferación de células B y la diferenciación
Linfoma folicular	t(14;18)(q32;q21) t(2;18)(p11;q21) t(18;22)(q21;q11)	80-90%	BCL2	Desregulación transcripcional	Regulador negativo apoptosis
Linfoma de células del manto	t(11;14)(q13;q32)	70%	BCL1 Ciclina D1	Desregulación transcripcional	Regulador del ciclo celular
Linfoma MALT API2-MLT,	t(11;18)(q21;q21) t(1;14)(p22;q32)	50% Raro	BCL10	Proteína de fusión	Antiapoptosis
Linfoma difuso de células B grandes	der(3)(q27)	35%	BCL6	Desregulación transcripcional	Represor transcripcional
Linfoma Burkitt	t(8;14)(q24;q32) t(2;8)(p11;q24) t(8;22)(q24;q11)	80% 15% 5%	c-MYC	Desregulación transcripcional	Factor transcripcional que regula la proliferación y el crecimiento
Linfoma anaplásico de células T	t(2;5)(p23;q35)	60% adultos, 85% en niños	NPM-ALK	Proteína de fusión	ALK es una tirosinasa

Los linfomas Foliculares son neoplasias de células B del centro germinal (típicamente centrocitos y centroblastos) con patrón de crecimiento folicular. Son de bajo grado de agresividad. Los linfomas de Células del Manto son neoplasias de células B, compuestas de células pequeñas a medianas monomórficas con contornos nucleares irregulares, que presentan la translocación T (11;14). El linfoma de la Zona Marginal Nodal es una neoplasia de células B primaria de ganglios linfáticos de la zona marginal; en ella no hay evidencia de afección extranodal, ni enfermedad esplénica. Por otro lado, el linfoma de Burkitt es un linfoma de células B de crecimiento rápido, que frecuentemente se presenta con infiltración extranodal o leucemia aguda; se compone de células monomórficas de

tamaño mediano con presencia de vacuolas; se ha encontrado la translocación que involucra al gen c-myc, sin que sea característica patognomónica. El linfoma linfoblástico es una neoplasia de células precursoras de linaje B o T que pueden afectar a la médula ósea, sangre, sitios nodales y extranodales. El linfoma anaplásico de células grandes corresponde a una categoría heterogénea de linfomas de células T maduras nodales y extranodales, la cual no se ajusta a ninguna entidad específica de estos linfomas en la clasificación actual de la OMS. El linfoma Angioinmunoblastico de células T se caracteriza por enfermedad sistémica con infiltrado polimórfico que afecta ganglios linfáticos con una alta proliferación de células dendríticas foliculares y el endotelio de las vénulas. Por último, el linfoma Anaplásico de células grandes ALK negativo y ALK positivo es un linfoma de células T, con células linfoides grandes de abundante citoplasma, pleomórficas, con núcleo en forma de herradura que puede involucrar translocación del gen ALK y expresión de la proteína ALK así como de CD30. (3,7)

Epidemiología

El LNH ocupa el sexto lugar de muerte por cáncer en el mundo. Cerca de 300,000 casos nuevos se producen cada año, lo que representa el 3% de los casos nuevos de cáncer. (6). Se calcula que la incidencia en España es de 12,3 casos por cada 100 000 varones al año y 10,8 en el caso de las mujeres. Ocupa el séptimo lugar en incidencia por tipo de cáncer tanto en hombres como mujeres, permaneciendo estable en los últimos años. La probabilidad de desarrollar linfoma no Hodgkin a lo largo de la vida es de 1 de cada 43 hombres y 1 de cada 51 mujeres. En España se diagnostican unos 3100 casos nuevos al año en hombres y 2400 en mujeres. (5)

En México, en el año 2001 se reportaron 102,657 casos de tumores malignos, de los cuales 800 correspondieron a LH y 3,848 a LNH. De acuerdo al Registro Histopatológico de las Neoplasias de la Secretaría de Salud, se encuentran comprendidas entre las primeras cinco causas de muerte por cáncer y su incidencia se incrementa año con año. (6) Con base en el registro de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los datos de Globocan indican que para hombres, la tasa de incidencia fue de 4.5 casos por cada 100,000 habitantes y la tasa de mortalidad fue de 2.1 por cada 100,000; para el sexo femenino, la incidencia fue de 3.3 por cada 100,000 y la mortalidad fue 1.6 por cada 100,000. (7)

Algunos subtipos, como el Linfoma Difuso de Células Grandes B (LDCGB), constituyen aproximadamente 48% del total de linfomas en México. De acuerdo al SEER (2002) se calcula una incidencia anual de 23,500 casos nuevos. La incidencia aumenta gradualmente a partir de los 50 años. Los linfomas foliculares corresponden al 20% de todos los LNH. Afecta predominantemente a adultos, en edad promedio de entre 60 y 70 años con relación Hombre - Mujer de 1:1.7. LNH de Células del Manto representa tres al 10% de todos los linfomas, con una edad promedio de 60 años e importante predominio en Hombres (relación Hombre - Mujer de 2:1 o mayor). El LNH de la Zona Marginal Nodal comprende de 1.5 al 1.8% de todos los linfomas; la edad promedio de presentación es 60 años. En algunos estudios se ha documentado en 20 a 40% de los enfermos la infección por virus de la hepatitis C (VHC). El linfoma de Burkitt presenta 3 variantes clínicas conocidas: 1) la más frecuente en nuestro país es la esporádica que representa del 1 al 2% de todos los linfomas en Europa Occidental y en Estados Unidos. 2) La variante endémica predomina en África Ecuatorial. 3) La variante asociada a inmunodeficiencia predomina en pacientes con VIH. El linfoma anaplásico de células grandes representa aproximadamente 30% de los

linfomas T periféricos en los países occidentales. La mayoría son adultos, son raros en niños y tienen relación Hombre - Mujer de 2:1. El linfoma Angioinmunoblastico de Células T representa 1-2% de todos los LNH y aproximadamente 15-20% de los LNHT periféricos, es característico de la edad adulta y no tiene predominio de sexo. El linfoma Anaplásico de Células Grandes ALK negativo y ALK positivo corresponde al 3% de todos los LNH del adulto, se presenta en las primeras tres décadas de la vida, con predominio en hombres a razón 1.5:1 con respecto a mujeres. (3,7)

Características Clínicas

La sintomatología puede ser muy variada y dependerá del subtipo histológico concreto, la rapidez de crecimiento del tumor, localización inicial, edad del paciente y sus circunstancias particulares. En más de dos tercios de los casos, el linfoma no Hodgkin se presenta como un ganglio aumentado de tamaño, palpable (linfadenopatía). No todo ganglio aumentado de tamaño y palpable es linfoma.

En 40% de los casos, los pacientes con linfoma no Hodgkin presentan síntomas generales como fiebre, pérdida de peso o sudoración profusa, que no son explicables por otras causas. Cuando la fiebre es mayor de 38° y/o la pérdida de peso de más del 10%, se denominan síntomas B y constituirán factores pronósticos importantes. Los síntomas B están presentes en el 47% de los linfomas agresivos y en menos del 25% de pacientes con linfoma indolente (5); a menudo presentan linfadenopatía periférica que generalmente crece o decrece con el tiempo y suele ser asintomática, a menos que cause compresión (por ejemplo, del uréter, de la órbita, o de la médula espinal)(6).

En menos del 10% de los pacientes se presentan astenia (cansancio), anorexia (falta de apetito), malestar general o prurito. Otro tipo de síntomas locales, como cefalea, tos, dificultad para respirar, dolor óseo o abdominal pueden indicar afectación a esos niveles (5). Los linfomas agresivos son de rápido crecimiento con manifestaciones clínicas que pueden aparecer también de forma rápida. (6)

Algunos subtipos de linfoma No Hodgkin presentan características clínicas fundamentales:

- Los linfomas foliculares se presentan con enfermedad en estadios clínicos avanzados y con infiltración a medula ósea en 40 a 70% de los casos; habitualmente el predominio es nodal, los sitios extranodales con mayor incidencia de infiltración son: bazo, medula ósea, anillo de Waldeyer, piel, duodeno, anexos oculares, mamas y testículos.
- LNH de Células del Manto pueden cursar con manifestaciones relacionadas a infiltración de medula ósea (pancitopenia y en ocasiones leucocitosis) e incluso afectación nodal o extranodal (anillo de Waldeyer y tubo digestivo).
- LNH de la Zona Marginal Nodal se presentan con adenomegalias localizadas o generalizadas, sin manifestaciones concomitantes; en ocasiones se afecta médula ósea y sangre periférica.
- Linfoma de Burkitt tiene presentación habitualmente extranodal; en la variante endémica la mandíbula y otros huesos faciales corresponden al 50% de casos; en ocasiones se presenta en íleon distal, ciego, mesenterio, gónadas, riñones, huesos largos, tiroides, glándulas salivales y mamas. La variante esporádica, la mayor parte

de casos se manifiestan como tumores abdominales. La variante asociada a inmunodeficiencia, los sitios afectados son ganglios y médula ósea.

- Linfoma linfoblástico se caracteriza por la presencia de masa tumoral y la ausencia o no de infiltración en la médula ósea (MO) por células con cromatina madura.
- El linfoma anaplásico de células grandes presenta adenomegalias y síntomas B, documentándose características paraneoplásicas como eosinofilia, prurito o síndrome hemofagocítico.
- El linfoma Angioinmunoblástico de Células T típicamente se presenta con enfermedad avanzada, caracterizada por linfadenopatía generalizada, hepatoesplenomegalia, afección a piel y médula ósea, síntomas sistémicos e hipergamaglobulinemia policlonal; además cursan con poliserositis por lo que ocasionalmente son confundidos con enfermedades de la colágena. Presentan un curso agresivo con una media supervivencia menor a tres años.
- En el linfoma Anaplásico de Células Grandes ALK negativo y ALK positivo, la mayor parte de los pacientes se encuentran en estadios clínicos avanzados, con adenomegalias periféricas y/o abdominales, además de infiltrados extranodales y afección en la médula ósea. Se observan frecuentemente síntomas B. (3,7)

Diagnóstico

Para el diagnóstico, al igual que en el Linfoma de Hodgkin, se requiere una biopsia de ganglio linfático afectado para confirmar el diagnóstico; por lo general, una biopsia con aguja del ganglio linfático no es suficiente para el diagnóstico concluyente, sobre todo por las características histológicas que adquieren estos subtipos, debiendo obtener un ganglio

linfático completo para la identificación morfológica y del entorno inflamatorio celular, así como el inmunofenotipo de estas células. Existen características de inmunohistoquímica dependiendo del subtipo de linfoma no Hodgkin:

- En el linfoma Difuso de Células Grandes B la inmunohistoquímica mínima obligatoria es CD45, CD20 y CD3; complementada con BCL-2, BCL-6, MUM-1, CD-10, CD-30 y ALK; cuando sea posible se deberá tomar muestra adicional para estudios moleculares o investigación.
- En los linfomas Foliculares debe especificarse el grado histológico de acuerdo al número de centroblastos por campo de alto poder (grado 1 y 2: ≤ 15 centroblastos, grado 3: >15 centroblastos). El linfoma folicular grado 3b (75% de patrón difuso) se considera un linfoma agresivo y debe ser tratado de la misma forma. Se recomienda que la inmunohistoquímica incluya al menos CD20, BCL2, CD10.
- En el LNH de Células del Manto se debe obtener tejido (ganglio linfático) o MO para identificar la translocación T (11;14)(q13;q32) (ciclina D1) de preferencia por FISH. La inmunohistoquímica deberá incluir ciclina D1 además de CD20, CD5, CD23 y FMC-7 cuando sea posible. También, debe especificarse la variante morfológica de la que se trate (blastoide, pleomórfica, células pequeñas o tipo zona marginal).
- El LNH de la Zona Marginal Nodal debe confirmarse con inmunohistoquímica, la cual debe incluir panel B, CD43 y BCL2.
- En el Linfoma de Burkitt, la inmunohistoquímica deberá incluir panel B, IgM, BCL6, CD38, c-MYC y Ki67, cuya expresión deberá ser mayor a 90%; se recomienda realizar estudio citogenético y molecular para t(8;14), t(8;22) y t(2;8)

- En el linfoma Linfoblástico se debe realizar inmunohistoquímica para CD19, CD79a, CD22, CD10, CD2 y TdT.
- En los linfomas anaplásicos de células grandes, es indispensable la realización de estudios de inmunohistoquímica, donde se demuestren marcadores de células T (CD4+/CD8-); ocasionalmente se pueden encontrar CD4+/CD8+, CD30, CD56 y gránulos citotóxicos. Se recomienda la determinación de Ki67.
- En el linfoma Anaplásico de Células Grandes ALK negativo y ALK positivo se han reconocido 5 patrones morfológicos: 1) Común 62%; 2) Linfohistiocítico 10%; 3) Células pequeñas 5-10%; 4) Parecido a Hodgkin 3%; 5) Compuesto 15%. El estudio de inmunohistoquímica es positivo para CD30 en membrana celular y región de aparato de Golgi, ALK en núcleo y citoplasma, EMA, CD2, CD5, CD4, CD25, CD43, CD45RO, granzima, perforina y ocasionalmente CD3. Los estudios citogenéticos y/o moleculares a realizar son t(2;5)(p23;q35) NPM/ALK (84%), t(1;2) (q25;p23) y TPM3/ALK (13%). Los pacientes que son ALK negativos, tienen un peor pronóstico. (3,7)

Virus de Epstein Barr

Antecedentes Históricos

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 (LB) en cultivo (11). En 1968 se describió como el agente etiológico de la mononucleosis infecciosa (8). En 1970 se detectó ADN del VEB en tejidos de pacientes VIH positivos con carcinoma nasofaríngeo. Desde entonces se ha encontrado ADN de VEB en diversos tejidos neoplásicos (11). En los años 80 se relacionó con el linfoma no Hodgkin y con la leucoplaquia oral en pacientes con SIDA. Posteriormente se encontró en tejidos con otros tumores como los linfomas de células T y en la enfermedad de Hodgkin. El 90% de las personas adultas tienen serología positiva para el VEB y persiste de forma latente de por vida (8).

Características virológicas

El VEB pertenece a la familia de los γ herpesvirus; tiene una envoltura y contiene un núcleo ADN rodeado por nucleocápside icosaédrica con 162 capsómeros, una proteína tegumentaria entre la nucleocápside y la envoltura, una envoltura externa con espículas glicoprotéicas. El VEB posee genoma de ADN doble cadena de 184 kpb, que codifica más de 85 genes. El VEB o herpes virus humano tipo 4 (HVH-4) pertenece al género de linfocriptovirus, dentro de una subfamilia de γ herpes virus. Las características comunes de estos virus son el linfotropismo, la habilidad para establecer una infección latente dentro de las células del huésped y la capacidad de inducir proliferación de las células con infección latente. Se conocen 2 subtipos de VEB que infectan 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, y 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 (11). Afecta a más del 90 % de la población humana, infectando a los linfocitos B a través del antígeno CD21, encontrándose en neoplasias de células B principalmente, pero se ha asociado a otras de células T y NK (9).

El EBV, después de infectar células linfoides, puede ir a replicación lítica, durante la cual se libera la progenie del virus o iniciar una latencia activa, en la cual existe una programación de la expresión de algunos antígenos nucleares de membrana (EBNA) o proteínas latentes de membrana (LMP). Se han descrito tres tipos de latencia, en función de los genes expresados: Latencia I, se limita a la expresión de EBERs (ARNs codificados) y EBNA1; latencia II incluye LMP1 y 2 (Proteínas latentes de membrana); latencia III que se define por la expresión de EBER, las seis proteínas de EBNA (antígenos nucleares) y dos proteínas LMP. Tanto los seis antígenos nucleares (EBNA1,2,3A,3B,3C,LP) y las dos proteínas de membrana (LMP1 y LMP2) se expresan en los trastornos linfoproliferativos asociados a EBV e influyen en la naturaleza y efectividad de la respuesta inmune y el riesgo potencial de linfomagenesis (9,11).

Los EBERs 1 y 2 son pequeños ARNs no poliadenilados que están presentes en un número estimado de 10^5 a 10^6 copias por célula; se expresan en todas las formas de latencia. Se unen a la proteinkinasa (PK) activada del ARN de doble cadena inducida por interferón (IFN) inhibiéndola. Esta proteinkinasa es un mediador crucial de la acción del IFN, su unión a los EBERs inhibe su actividad suprimiendo los efectos antivirales del IFN. También se ha sugerido que EBER 1 y 2 tendrían un rol en el splicing de otros

transcriptos virales como EBNA_s y LMP_s, previniendo la apoptosis y estimulando la producción de interleukina (IL), sin embargo el rol de los EBER_s en la transformación celular por el VEB es aún incierta (11).

El EBNA 1 es una fosfoproteína de unión al ADN de secuencia específica, necesaria para la replicación y el mantenimiento del genoma del VEB; también actuaría en el mantenimiento de la infección latente por el VEB. El dímero de EBNA 1 se une al ADN mediante la interacción de una secuencia repetida, que está presente en tres sitios del genoma, utilizando maquinaria enzimática de la célula huésped para completar la replicación; además, se asocia a los cromosomas de la célula huésped durante la mitosis. Esto sería trascendente para permitir la replicación y persistencia de la forma episomal en las células en división y para la segregación de episomas en los núcleos de las células hijas. Se cree que EBNA 1 es la única proteína que se expresa en todas las células con infección latente. También se cree que la habilidad de EBNA 1 para inducir la expresión de genes activadores de recombinasa RAG 1 y 2 (recombinase-activating genes) determinaría mayor inestabilidad genética (9,11).

El EBNA₂ es la primera proteína viral que se expresa luego de la infección por el VEB de las células B y es esencial para la transformación celular; es un coactivador transcripcional que coordina la expresión de los genes virales en la latencia tipo III y también transactiva numerosos genes celulares jugando un rol crítico en la immortalización celular. Las funciones del EBNA 2 están mediadas por su interacción con el factor de transcripción RBPJK (ribonucleotide binding protein), imitando las señales de activación, llevando a las células de G₀ a G₁. Además, activa la transcripción de genes virales, que incluyen marcadores de activación de células B (CD23 y CD21) y los proto oncogenes c-fgr y c-myc (9,11).

Los EBNA 3A (EBNA 3), 3B (EBNA 4), 3C (EBNA 6) se consideran reguladores transcripcionales. EBNA 3 A parecería ser importante para iniciar el proceso de immortalización; EBNA 3 B no es fundamental para la transformación y crecimiento de las células B; EBNA 3 C sería absolutamente esencial para immortalizar células B, aumentando la producción de LMP 1, el cual facilitaría la transformación y crecimiento celular e inhibiría la apoptosis. Se ha observado que tanto EBNA 3 A y C regulan la expresión de ciertos genes celulares y se unen a una variedad de proteínas del huésped, modulando el aumento en la expresión de promotores virales y celulares (9,11).

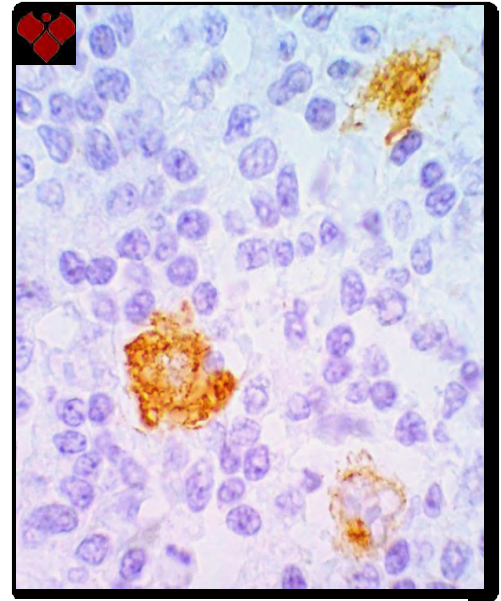
El EBNA-LP (EBNA5) es una de las primeras proteínas virales producidas durante la infección de las células B por el VEB; estimula la expresión de factores del huésped necesarios para el crecimiento de las células B, interactúa con EBNA 2 para conducir a los linfocitos B en reposo a la fase G1 del ciclo celular por medio de la unión e inactivación de la proteína 53 (p53) y los productos del gen supresor de tumor del retinoblastoma. EBNA-LP se une a la p53, proteína Rb (retinoblastoma) y a proteinkinasa C, las cuales regulan la transcripción por vías específicas de fosforilación que simulan las vías de activación del receptor de células B (BCR), constituyendo un paso importante en los estadios tempranos de la transformación mediados por VEB (11).

La proteína latente de membrana 1 (LMP 1) es una proteína integral de membrana con seis segmentos hidrofóbicos y un tallo citoplasmático que contiene la función efectora y presenta características similares al CD 40, un receptor de activación de las células B. Está involucrada en la transformación celular dado que actúa como un receptor CD40 constitutivamente activado y mimetiza la señal de crecimiento celular, así como su función por asociación con los factores ligados al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAFs). La interacción con TRAF 1 y 3 permite la activación de NF-k (factor nuclear K) dando

como resultado cambios morfológicos en la célula infectada y aumento de expresión de marcadores de células B incluyendo CD23, CD39, CD40, CD44, moléculas de histocompatibilidad clase II y moléculas de adhesión celular como LFA-1 e ICAM-1. LMP1 tiene distintos efectos sobre la síntesis de citoquinas que podrían afectar la angiogénesis y la respuesta inflamatoria a nivel de las células tumorales, contribuyendo al crecimiento tumoral y la evasión de la respuesta inmune.

LMP1 se considera el gen transformante más importante codificado por el VEB por diversas razones:

- Aumenta la expresión de las proteínas antiapoptóticas bcl-2 y A20 en las células B infectadas protegiéndolas de la apoptosis mediada por p53.
- Aumenta la expresión de IL 10, la cual estimula la proliferación de las células B e inhibe la respuesta inmune local (9,11).



Celulas de Hodgkin y de Reed Sternberg positivas para el anticuerpo LMP1. Caso real de este estudio. Archivos: Departamento de Patología del HGE de Sonora.

Las proteínas latentes de membrana 2 A y B, son proteínas integrales de membrana que sólo se transcriben una vez que el episoma viral ha sido formado. LMP 2 A tiene motivos de activación del inmunoreceptor de tirosina (ITAMS), los cuales están presentes en los correceptores del BCR, CD79a y CD79b, y transmiten señales luego de la activación del BCR, inhibiendo señales transmitidas a través de este receptor, lo que previene la activación gatillada por el antígeno del VEB, pudiendo originar la entrada al ciclo lítico. Por otro lado, LMP 2 A por sí misma estimula los receptores de tirosinkinasa imitando la presencia del BCR y generando señales de supervivencia para las células B. Por lo tanto, LMP 2 A sustituye al BCR y evita la apoptosis de las células B (9,11).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México las enfermedades oncológicas, en especial las de tipo linfoproliferativo, han presentado un gran aumento en los últimos años; se han propuesto mecanismos multifactoriales para justificar la relación de este incremento, tanto genéticos, ambientales, sociales y virológicos. Se ha reportado la asociación entre los linfomas, tanto de Hodgkin como los no Hodgkin con algunos agentes infecciosos como son los virus, por lo que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación del VEB en los pacientes con linfoma de Hodgkin y No Hodgkin utilizando el marcador de inmunohistoquímica LMP1 en estudios de ganglio linfático?

JUSTIFICACIÓN

El Virus de Epstein Barr infecta más del 90% de la población mundial y hasta en un 40% de los casos se ha encontrado asociación con el Linfoma de Hodgkin y aproximadamente en un 25% con el Linfoma No Hodgkin. Las estadísticas muestran que el problema afecta tanto a niños como adultos mayores.

En el Hospital General del Estado de Sonora, se han realizado dos estudios con respecto a las estadísticas de los linfomas en esta institución, siendo la más reciente la elaborada por Arredondo en el 2003 (12), donde se informa que en el periodo de 1996 al 2001 se habían registrado 66 casos de linfoma, constituyendo casi el 70% de ellos (45 casos) linfomas No Hodgkin y el 30% los linfomas de Hodgkin (21 casos), siendo más frecuentes en pacientes femeninas (40 casos).

Cabe señalar que en nuestro país no existen publicados trabajos en extenso de la correlación del VEB con los linfomas de Hodgkin y No Hodgkin; Quintanilla-Martínez (13,14) realizó dos trabajos (en resumen) reportados en 1994 y 1995 donde trata de determinar la prevalencia del VEB en la enfermedad de Hodgkin en adultos mexicanos, analizando 50 casos de tejido en formol demostrando que en el 70% de ellos había una correlación con las células de Reed Sternberg y sus variantes. Sin embargo, no se han elaborado estudios actuales al respecto ni se ha buscado la relación del virus en el linfoma No Hodgkin en nuestro país.

Por todo esto, evaluar la coexistencia del virus en los pacientes con linfoma permitirá establecer, en la medida de lo posible, una mejor alternativa terapéutica y un mejor pronóstico del esperado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la coexistencia del VEB en los pacientes con linfoma de Hodgkin y No Hodgkin utilizando el marcador de inmunohistoquímica LMP1 en estudios de ganglio linfático.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Describir las características clínico demográficas de los pacientes con linfoma positivos para LMP1.
- Determinar la frecuencia de positividad del VEB según el tipo histológico de linfoma en los pacientes en un periodo de ocho años.
- Describir el grado de diferencia de casos de linfoma de Hodgkin y No Hodgkin en relación al género del paciente.
- Comparar geográficamente mediante los resultados de los distintos estudios realizados, la relación del VEB y el linfoma de Hodgkin.
- Describir la evolución clínica de los pacientes positivos para LMP1.
- Incorporar el anticuerpo para la detección de LMP1 en los paneles de inmunohistoquímica.

HIPÓTESIS CIENTÍFICA

Existe una coexistencia mayor del VEB en los pacientes con linfoma de Hodgkin que en aquellos con linfoma No Hodgkin en nuestra población utilizando el marcador de inmunohistoquímica LMP1 en biopsias de ganglio linfático, ya que en la patogénesis del virus hay cuatro veces más riesgo de padecer LH en individuos con historia de mononucleosis infecciosa, los títulos de anticuerpos anti cápside viral de VEB aumentados en pacientes con LH y la detección de episoma de VEB monoclonal en las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg. En los linfomas No Hodgkin de tipo B, si bien existe una expresión del receptor CD 21 (receptor VEB), los inmunofenotipo T tienen un índice de expresión 10 veces menor que las células B. Debido a lo anterior se espera encontrar las siguientes predicciones:

Ho: Existirá una coexistencia mayor del VEB en los pacientes con linfoma de Hodgkin que en aquellos con linfoma No Hodgkin en nuestra población utilizando el marcador de inmunohistoquímica LMP1 en biopsias de ganglio linfático.

Ha: Existirá una coexistencia menor del VEB en los pacientes con linfoma de Hodgkin que en aquellos con linfoma No Hodgkin en nuestra población utilizando el marcador de inmunohistoquímica LMP1 en biopsias de ganglio linfático

MATERIALES Y MÉTODO

Diseño del estudio

- Retrospectivo: el diseño es posterior a los hechos estudiados y los datos se obtienen de archivos; es decir, el estudio se inicia después de que se haya producido el efecto y la exposición.
- Descriptivo: se describen los hechos como son observados.
- Correlacional: estudio de las relaciones entre variables dependientes e independientes, es decir, la correlación entre dos variables.
- Serie de casos: escriben una serie de características poco conocidas de un proceso, conteniendo la información adquirida a lo largo de un periodo de tiempo y los tejidos pertenecen a una serie que comparten algo en común.

Tipo de muestreo

- No probabilístico: la muestra no es producto de un proceso de selección aleatoria; han sido seleccionados en función a los criterios de inclusión intencionales del investigador

Población

Se valoraron los tejidos de pacientes mayores de edad (≥ 18 años) a los que se les realizó estudio histopatológico de ganglio linfático para el diagnóstico de Linfoma de Hodgkin o Linfoma No Hodgkin en el periodo de 2008 al 2016 en el Hospital General del Estado de Sonora.

Periodo de estudio

El periodo de estudio del protocolo fue de enero a julio del 2016. Sin embargo, las muestras con las que se realizaron las pruebas fueron de pacientes atendidos durante el periodo que comprende de agosto del 2008 a julio de 2016.

Tamaño de la muestra

El estudio de frecuencia de casos se realizó con una sola muestra obtenida mediante muestreo no probabilístico.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Tejido que perteneció a pacientes mayores de edad (≥ 18 años).
- Tejido que perteneció a pacientes con linfoma de Hodgkin y linfoma No Hodgkin diagnosticados en el Hospital General del Estado de Sonora.
- Tejidos conservados en bloques de parafina para realizar estudios de inmunohistoquímica.

Criterios de exclusión

- Tejido que perteneció a pacientes menores de edad.

Criterios de eliminación

- Ausencia de bloques de parafina para realizar estudios de inmunohistoquímica (IHQ).
- Preservación del tejido inadecuada en los bloques de parafina.

Aspectos éticos de la investigación

El presente trabajo se realizó con fines médicos descriptivos, siempre cuidando la identidad de los pacientes cuya muestra fue considerada para la elaboración de esta investigación. Durante el análisis de datos no se hizo referencia de la identidad de ninguno de los pacientes implicados. Además, se tomó en cuenta el cuidado de los aspectos éticos que demanda la investigación médica con seres humanos y se encuentran presentes en la declaración de Helsinki y la Ley General de Salud en materia de Investigación. Dada la naturaleza de la investigación, no se requirió de consentimiento informado firmado por parte de los pacientes.

Recursos empleados

Recursos humanos:

- Médico adscrito del servicio de Anatomía Patológica.
- Médico residente.
- Químico especializado en Inmunohistoquímica.

Recursos físicos:

- Expediente electrónico ASSIST.
- Bloques de parafina del material de laboratorio.
- Insumos habituales, propios del departamento de patología.

Recursos financieros:

- Los recursos serán cubiertos por el médico residente investigador y se utilizará en la compra del marcador de inmunohistoquímica LMP1, cuyo valor asciende los \$280 dls = \$5040 M.N.

Categorización de las variables según la metodología

Para el análisis de información se evaluaron seis variables, donde la variable dependiente fue la presencia o ausencia del Virus de Epstein Barr mediante la detección por inmunohistoquímica de la expresión del anticuerpo LMP1 (Cuadro 2).

VARIABLES DEPENDIENTES:

- LMP1 (VEB): Es una proteína que se expresa en los linfocitos infectados por el virus de Epstein Barr protegiéndolos de la apoptosis.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Edad: tiempo que ha vivido la persona, contando desde su nacimiento, a la cual mediante estudio histopatológico de ganglio linfático le ha sido diagnosticado algún tipo de linfoma.
- Sexo: condición de tipo orgánica que diferencia al hombre de la mujer,
- Tipo de linfoma: neoplasia hematológica desarrollada en el sistema linfático, que dependiendo de las características histológicas, será clasificada en linfoma de Hodgkin o en linfoma No Hodgkin.
- Tipo de linfoma de Hodgkin: variedad de subtipo que presente la muestra del paciente según la clasificación de la OMS.
- Tipo de linfoma No Hodgkin: variedad de subtipo que presente la muestra del paciente según la clasificación de Real.

Cuadro 2. Definición de variables

Variable	Tipo de variable	Definición operacional	Escala de medición	Indicador
Edad	Independiente Sociodemográfica	Tiempo de vida de una persona	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Independiente Sociodemográfica	Identidad orgánica del individuo	Cualitativa dicotómica	Género
Tipo del Linfoma	Independiente	Presencia de una de las dos variantes de la enfermedad	Cualitativa dicotómica	Numérico 1 Linfoma de Hodgkin 2 Linfoma de No Hodgkin
Subtipos de linfoma de Hodgkin	Independiente	Presencia de uno de los subtipos de la enfermedad	Cualitativa	Clasificación OMS Numérico 1 Predominio linfocítico 2 Esclerosis Nodular 3 Celularidad Mixta 4 Rico en linfocitos 5 Depleción linfocitaria
Subtipos de linfoma No Hodgkin	Independiente	Presencia de uno de los subtipos de la enfermedad	Cualitativa	Clasificación Real Numérico 1 Linfoma folicular 2 Linfoma de células del manto 3 Linfoma de linfocitos pequeños 4 Linfoma de la zona marginal 5 Linfoma de células grandes B 6 Otro
VEB (LMP1)	Dependiente	Positividad del marcador LMP1 en pacientes con linfoma	Cualitativa dicotómica	Numérico 0 Negativo 1 Positivo

Descripción general del estudio

- Se revisaron los registros de estudios de piezas quirúrgicas en el departamento de patología del Hospital General del Estado de Sonora para la selección de casos.
- Se obtuvieron las laminillas teñidas con técnica de hematoxilina-eosina, las laminillas de los estudios de inmunohistoquímica con los que cuente el tejido del paciente, así como bloques de parafina.
- Se interpretaron bajo microscopio de luz las laminillas teñidas con hematoxilina-eosina y los estudios de inmunohistoquímica realizados en su momento para el

diagnóstico definitivo y se emitieron diagnósticos correspondientes por parte del investigador y asesor, según las clasificaciones Real y de la OMS, comparándolas con el diagnóstico ya establecido de la muestra.

- Los resultados se procesaron en una matriz de datos de Excel y se construyeron tablas de frecuencias y gráficas.
- Se aplicó inmunorreacción con anticuerpo LMP1 para detección del virus de Epstein Barr, utilizando un tejido control previamente diagnosticado positivo para LMP1 tomando como resultado positivo una tinción de membrana y citoplasma.
- Se realizó la interpretación bajo microscopio de luz de las laminillas sometidas a inmunorreacción por dos médicos patólogos, emitiendo asociación diagnóstica con el virus de Epstein Barr.
- Se procesó toda la información y se realizaron resultados comparativos en tablas y gráficas.

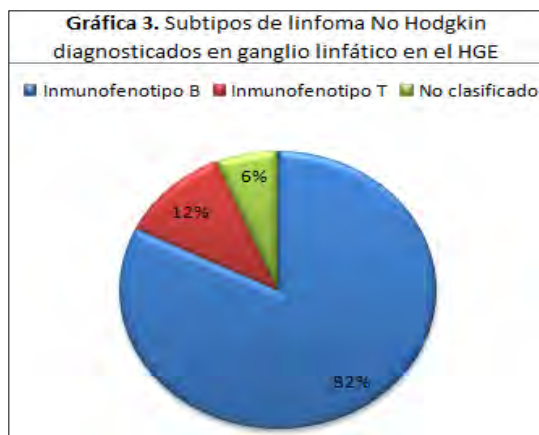
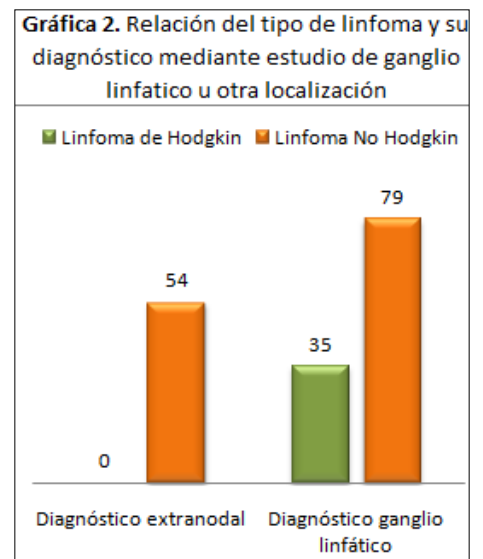
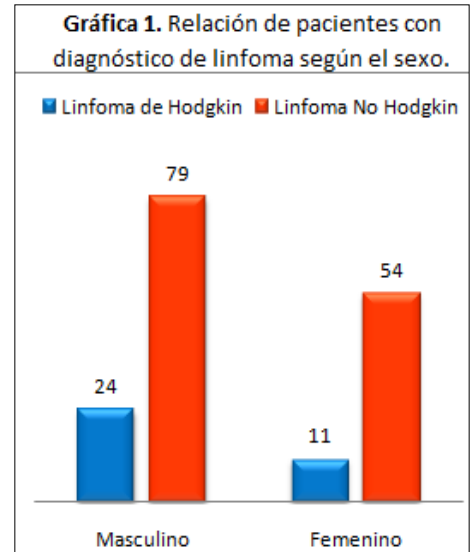
Análisis estadístico

Se realizó un estudio de estadística descriptiva que incluyó medidas de dispersión y tendencia central para las variables numéricas sociodemográficas. Del mismo modo, se construyeron tablas y gráficas de frecuencia para describir los casos positivos a VEB durante el periodo evaluado. La diferencia entre la proporción de casos con linfoma y virus de Epstein Barr fueron valoradas por medio de una prueba F de Fisher para variables cualitativas considerando un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. Del mismo modo, el grado de diferencia de los casos de linfoma en relación al género fue evaluado por medio del estadístico F de Fisher. Todos los análisis fueron realizados en el paquete estadístico IBM SPSS V22.

RESULTADOS

Se revisaron 168 muestras de tejido de pacientes con diagnóstico de linfoma del periodo comprendido de agosto de 2008 a julio de 2016, donde 103 correspondían a tejidos de pacientes del sexo masculino (61.3%) y 65 (38.7%) a pacientes del sexo femenino. De esos 168 casos, 114 (67.9%) fueron diagnosticados mediante estudios histopatológicos de ganglio linfático y 54 de ellos (32.1%) con estudios de sitios extranodales (amígdala, cerebro, estómago, intestino delgado, tiroides, entre otros) en el Hospital General del Estado de Sonora (gráficas 1 y 2).

De los 114 casos de linfoma diagnosticados mediante estudio histopatológico de ganglio linfático, 79 de ellos (69.3%) corresponden a linfomas No Hodgkin y los 35 restantes (30.7%) corresponden a linfoma de Hodgkin, siendo exclusivo este diagnóstico en ganglio linfático (gráfica 2). De los 79 casos de

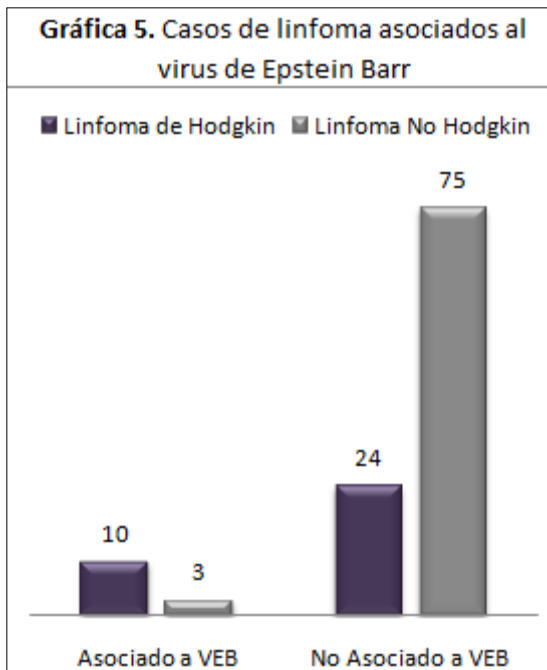


linfoma No Hodgkin, 65 fueron inmunofenotipo B (82%), 9 inmunofenotipo T (12%) y 5 de ellos no fueron clasificados en su momento (6%) por la escasa cantidad de tejido (gráfica 3).

En cuanto a los 35 linfomas de Hodgkin diagnosticados, 19 fueron diagnosticados como esclerosis nodular (54%), seis de ellos fueron del subtipocelularidad mixta (17%), cinco del subtipo rico en linfocitos (14%), dos del subtipo depleción linfocitaria (6%) y sólo

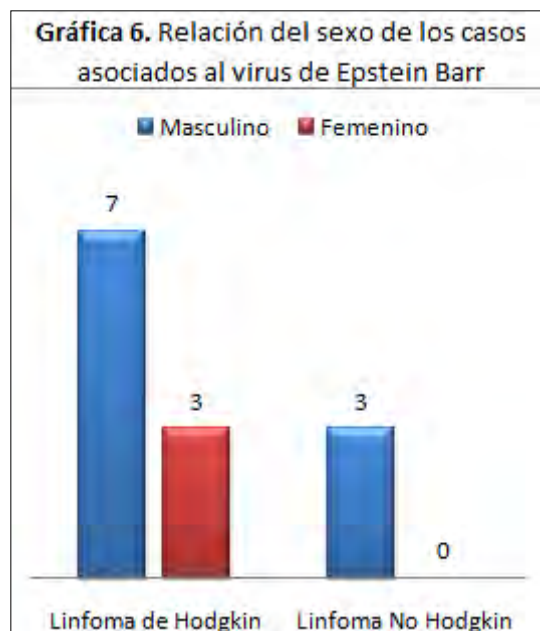


uno de predominio linfocítico (3%). Dos casos no pudieron ser subclasificados (6%) uno de ellos porque el material no se encontraba en la institución ya que fue solicitado para valoración externa y otro era una biopsia por **trucut** que no permitía la evaluación completa del ganglio y por ende su subclasificación (gráfica 4).



De los 79 casos de linfoma No Hodgkin y de los 35 de linfoma de Hodgkin (114 en total), 13 casos (11.4%) fueron positivos para asociación con el virus de Epstein Barr con el marcador de inmunohistoquímica LMP1, 10 para linfoma de Hodgkin (28.6%) y tres para linfoma no Hodgkin (3.8%). (Gráfica 5)

Estos trece casos fueron constituidos en su mayoría por 10 hombres (76.9%) y sólo tres mujeres (23.1%), con una edad media de 40 años (± 18 años); de esos 10 hombres, siete tenían diagnóstico de linfoma de Hodgkin y los tres restantes tenían el diagnóstico de linfoma No Hodgkin. Las tres mujeres fueron diagnosticadas con linfoma de Hodgkin (gráfica 6).



En la tabla 1 se desglosan los 13 casos de linfoma relacionados al virus: de los diez casos de linfoma de Hodgkin asociado a virus de Epstein Barr, cuatro de ellos correspondía al subtipo esclerosis nodular (siendo negativos los 14 restantes), uno pertenecía al subtipo celularidad mixta (los cinco restantes no estuvieron asociados), cuatro fueron positivos del subtipo rico en linfocitos (sólo uno de los cinco fue negativo) y uno más del subtipo depleción linfocitaria (de los dos casos reportados, uno no se asoció). De los tres casos de linfoma No Hodgkin que fueron positivos al VEB, dos casos pertenecieron al inmunofenotipo B, siendo estos dos casos del tipo Anaplásicos de Células Grandes; el tercer caso fue constituido por un linfoma inmunofenotipo T.

Subtipo	Linfoma de Hodgkin						Linfoma No Hodgkin		
	Esclerosis Nodular	Celularidad Mixta	Rico en linfocitos	Depleción linfocitaria	Predominio linfocítico	NC	Fenotipo B	Fenotipo T	NC
Positivo VEB	4	1	4	1	0	0	2	1	0
Negativo	14	5	1	1	1	2	63	8	4
Total	18	6	5	2	1	2	65	9	4

Se realizó Chi cuadrada y test de Fisher a los casos de linfoma de Hodgkin asociados al VEB, teniendo solamente una diferencia significativa en el subtipo rico en linfocitos (Tabla 2).

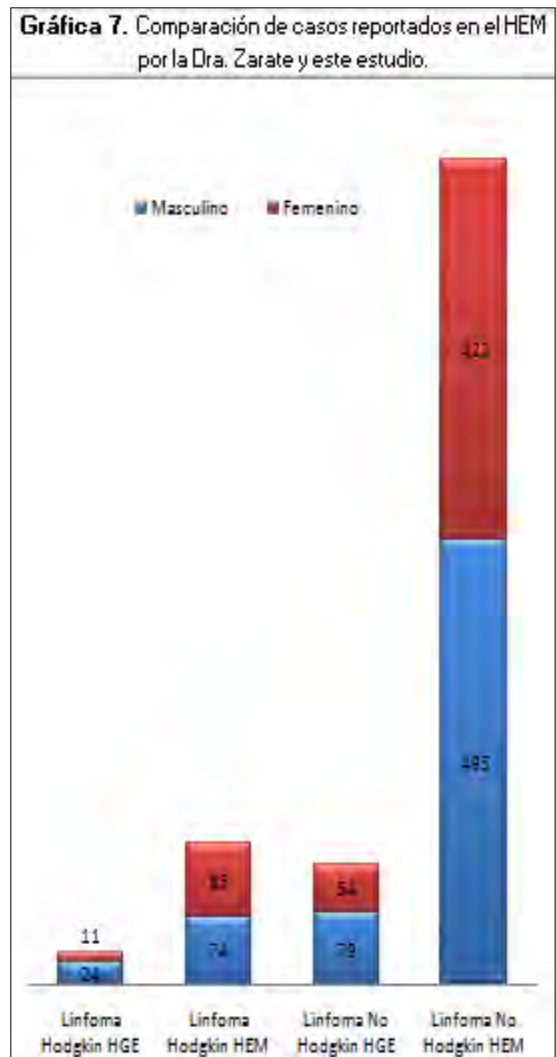
Linfoma de Hodgkin (tabla 2)				
	Asociado a VEB	Negativo	Chi cuadrada	Test de Fisher
Esclerosis nodular	4	14	0.329	0.457
Celularidad mixta	1	5	0.45	0.644
Rico en linfocitos	4	1	<u>0.007</u>	<u>0.019</u>
Depleción linfocitaria	1	1	0.51	0.508
Predominio linfocítico	0	1	0.512	1
No clasificado	0	2	0.347	1

DISCUSIÓN

La incidencia de neoplasias en nuestro país ha ido en aumento, sobre todo en los últimos años. Hablando de las neoplasias hematológicas, éstas se han ido incrementando desde hace aproximadamente 60 años y esto es debido al aumento en el número de técnicas diagnósticas como lo es la detección oportuna, un diagnóstico temprano y la toma de muestra a tiempo para determinar el tipo o subtipo

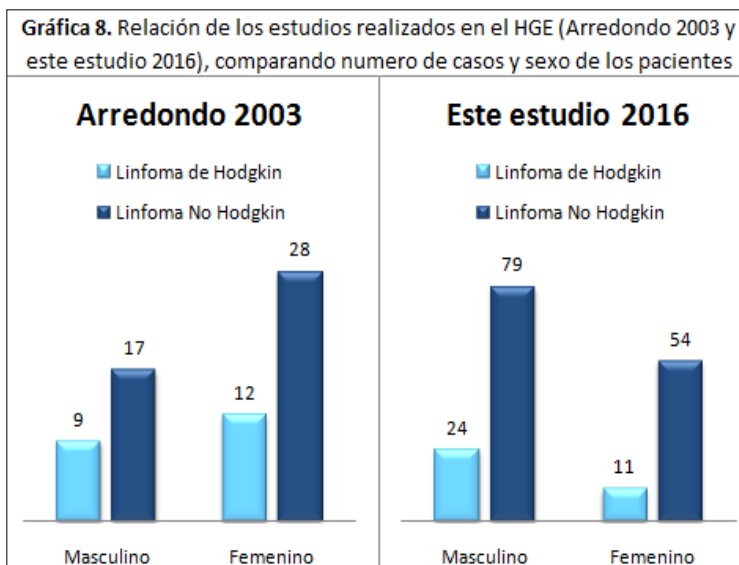
de alteración que cada paciente presente. En México, los datos más recientes los ofrece el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN, 4), donde se reporta que en el 2003 se reportaron 935 casos de linfoma de Hodgkin con una mayor incidencia en varones de 15 a 19 años y en mujeres hubo dos picos de incidencia, de los 15 a 19 años y de los 20 a os 24 años. Otro trabajo con resultados publicados es el de la Dra. Zarate y colaboradores en 2008 (15) donde se reportan en el Hospital Español de México (HEM), 1074 casos de linfoma en un periodo comprendido de enero de 2004 a noviembre de 2007, donde el 85% de los casos (917 pacientes) fueron linfomas No Hodgkin y el

15% restante (157 pacientes) fueron diagnosticados como linfomas de Hodgkin.

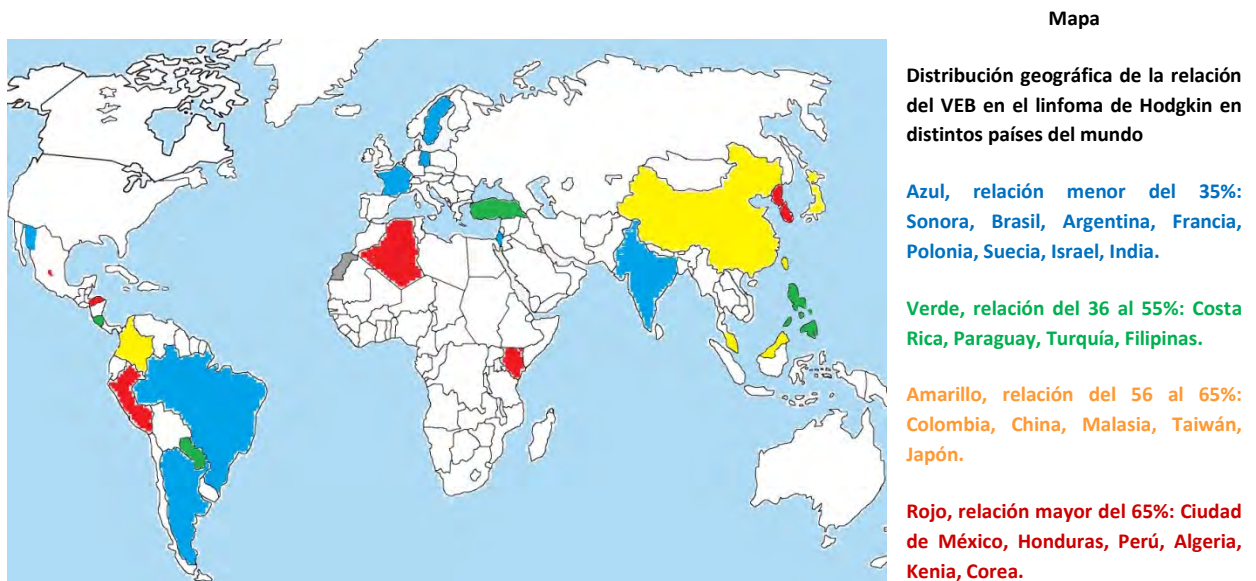


Comparando los resultados arrojados en el HEM con los de nuestro hospital, hay un mayor número de casos y, considerando que es un centro de referencia, la proporción de los casos de esa proporción se contraponen a los de nuestro hospital, teniendo una mayor cantidad de casos en mujeres diagnosticadas como linfoma de Hodgkin que en hombres (53% y 47% respectivamente) a diferencia que nuestro hospital donde los porcentajes son mayores para los pacientes del sexo masculino a diferencia que los reflejados para el sexo femenino (68.6% y 31.4% respectivamente). Al igual sucede en los casos diagnosticados como linfoma No Hodgkin, donde es mayor la proporción en los casos masculinos a diferencia de nuestro hospital, donde es mayor la cantidad de casos femeninos con ese diagnóstico (linfoma No Hodgkin en 54% de los hombres y 46% de las mujeres en el HEM a diferencia del 59.4% en mujeres y 40.6% en hombres con ese mismo diagnóstico en el Hospital General del Estado de Sonora) (gráfica 7).

Haciendo una comparación en el transcurso de los años en nuestro propio hospital, en la estadística de la Dra. Arredondo en el 2003 (12) existía una mayor cantidad de casos en pacientes del sexo femenino tanto para los pacientes con linfoma de Hodgkin y No Hodgkin; en los últimos ocho años esas proporciones cambiaron por completo, siendo más frecuente en pacientes del sexo masculino que en pacientes del sexo femenino (Gráfica 8).



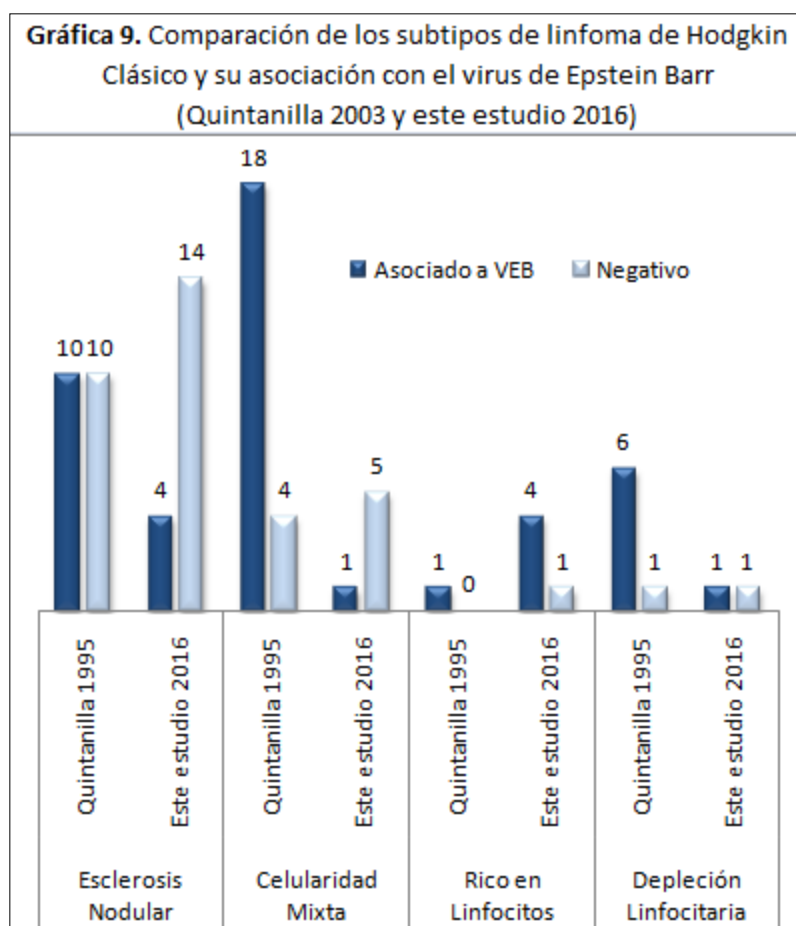
En cuanto a los 35 casos de linfoma de Hodgkin obtenidos, a 34 de ellos se les realizó el estudio de inmunohistoquímica con el marcador LMP1 para demostrar la coexistencia del virus de Epstein Barr (un caso fue eliminado por ausencia del bloque de parafina en la institución); fueron 10 casos (29.4%) los que estuvieron asociados a infección por el VEB; estos resultados son muy similares a los obtenidos por Čičkušić y colaboradores (16) en donde la asociación que obtuvieron en 81 casos de linfoma de Hodgkin obtenidos de 1985 a 1999 y el virus de Epstein Barr utilizando mediante estudio de inmunohistoquímica la búsqueda de la proteína latente de membrana (LMP1) fue del 33.3% (correspondientes a 27 casos). Este mismo autor (Čičkušić) realiza una comparación entre los distintos países del mundo y los casos registrados de linfoma de Hodgkin asociados a la infección por el VEB. Los países con menor asociación son los reportados por algunos estudios (16) en Filipinas (42.9%), Costa Rica (40%), Polonia (33%), Francia (33 y 29%), India (31%), Israel (30%) y Suecia (27%). En los países reportados con mayor asociación del linfoma de Hodgkin y VEB fueron en Turquía (55%), Japón (59 y 64%), China (60.7%), Malasia (61%), Taiwan (62.9%), Algeria (66 y 72%), Corea (69 y 76%), México (70%), Kenia (79 y 92%) y estudios de Perú y Honduras (más del 90%) (ver mapa).



Comparando específicamente los subtipos de linfoma de Hodgkin y su asociación con el virus de Epstein Barr, en nuestro hospital cuatro de los 18 casos de esclerosis nodular (22.2%) fueron asociados al virus (11.8% de n=34); también fueron cuatro casos del subtipo rico en linfocitos (11.8% de n=34). Sin embargo en el hospital sólo se habían presentado cinco pacientes con ese subtipo, por lo que en el 80% se encontró asociación al VEB. Los dos casos restantes positivos para LMP1 fueron tanto un caso (2.9% de n=34) del subtipo celularidad mixta (16.7% de los seis que se presentaron) y un caso (2.9% de n=34) del subtipo depleción linfocitaria (sólo se presentaron dos en el hospital, constituyendo un 50% de los casos). El mismo Čičkušić en su estudio también compara las proporciones que tuvieron en distintos países con algunos subtipos de linfoma, encontrándose los casos de celularidad mixta con una mayor asociación con el VEB en Polonia (61.8%), Filipinas (66.6%), Gran Bretaña (68%), Taiwan (69.2%), USA (75%), Corea (75 y 85%), Francia (80%), México (81%), Japón (84%), Malasia (86%), Costa Rica (86%), China (90.9%) y Hong Kong (100%); los menos asociados fueron Suecia (38%), Turquía (40%), Israel (45%) e India (21.7%). En cuanto al subtipo esclerosis nodular, los que tuvieron mayor asociación fueron México (50%), Hong Kong (56%), Corea (59%), Turquía (62.5%) y Taiwan (63.9%). El otro comparativo realizado fue el subtipo depleción linfocitaria, donde China no tuvo ninguna relación (0%) y países como Hong Kong, India, Taiwan y Suecia tuvieron una asociación del 100%. Por último, en el tipo predominio linfocítico no se presentó relación en los estudios realizados en Gran Bretaña, Polonia y Malasia, mientras que si fue coexistente en Taiwan (16.7%), Suecia (20%) y Turquía (40%). No se reporta la asociación del virus con el subtipo “Rico en linfocitos”. Aunque en nuestro estudio hay muchas de estas proporciones que son fluctuantes en los distintos estudios realizados por todo el mundo, es importante conocer con que herramientas se realizaron los diagnósticos

de asociación con el VEB, ya que si bien es cierto que la técnica de inmunohistoquímica con el anticuerpo LMP1 es la más usual, existen técnicas de hibridación in situ del RNA (EBNA y/o EBER) o el anticuerpo LMP2 para determinar la asociación con el virus, se ha visto que existe mayor sensibilidad y especificidad para la detección de EBER.

En cuanto a los datos anteriores donde se reporta la coexistencia del VEB en los linfomas de Hodgkin en el estudio realizado en México, son los datos proporcionados por la Dra. Quintanilla en su estudio reportado en 1995 (13). Haciendo una comparación con ese trabajo donde sólo se toman los casos de pacientes con diagnóstico de linfoma de Hodgkin clásico, se compararon con los nuestros observando lo siguiente (Gráfica 9):



1.- En ambos se utilizó el marcador de inmunohistoquímica LMP1 para detección del virus en células tumorales.

2.- El estudio de Quintanilla incluye 50 casos, donde 35 (70%) presentaron asociación con el VEB; en nuestro trabajo, sólo considerando los linfomas de Hodgkin clásico, fueron 31 pacientes en total, donde 10 casos (32.3%) tuvieron relación con el virus.

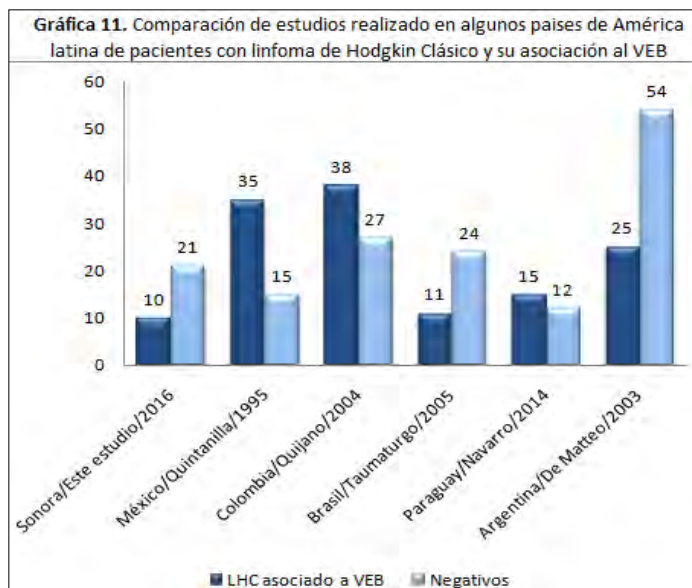
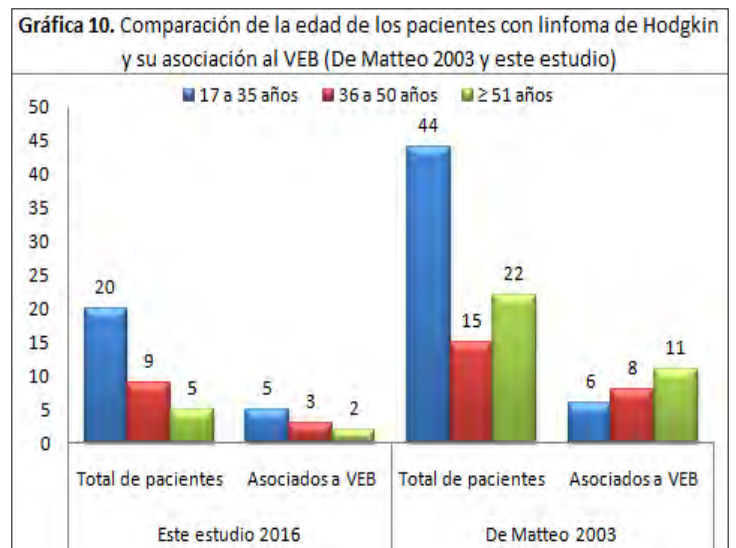
3.- La asociación más fuerte en ambos trabajos fue en el subtipo rico en linfocitos, ya que el único caso que presentó Quintanilla (100%) y cuatro de los cinco en nuestra revisión (80%) fueron positivos para el anticuerpo.

4.- El subtipo celularidad mixta (22 casos) y esclerosis nodular (20 casos) que constituían más del 80% del estudio, tuvieron una asociación del 81 y 50% respectivamente, mientras que los mismos subtipos en nuestro estudio constituían 24 casos (seis para celularidad mixta y 18 para esclerosis nodular), siendo el 77.4% de nuestro total (31), los cuales presentaron una asociación del 16.7% y 22.2% respectivamente.

5.- En los casos de depleción linfocitaria, de los siete casos de Quintanilla se presentó asociación en seis de ellos (86%), constituyendo la segunda proporción mayor en su estudio; en nuestro trabajo sólo se presentaron dos casos, siendo uno positivo para LMP1 (50%), constituyendo también nuestra segunda relación mayor en orden descendente.

Otro factor importante que se ha observado en la relación del VEB y el linfoma de Hodgkin es la edad del paciente y esto se demuestra con los resultados del estudio realizado por De Matteo y colaboradores (21), donde valora la presencia del VEB en los linfomas de Hodgkin tanto en niños como en adultos; en él se reportan 92 pacientes pediátricos (≤ 16 años), donde 51 de ellos (55%) tuvieron positividad para LMP1, mientras que sus 81 pacientes considerados adultos (≥ 17 años), tuvieron una asociación del 31% (25 de los casos). Haciendo una comparación de los resultados obtenidos con base a los grupos de edad que maneja De Matteo (Gráfica 10), podemos observar que los pacientes mayores de 17 años (en nuestro estudio no tuvimos a ningún paciente con esa edad), tienen una relación muy similar en Argentina como la tiene nuestra población en cuanto a la coexistencia del linfoma de Hodgkin y el virus de Epstein Barr (30.9% vs 29.4%). Sin embargo, si desglosamos a cada grupo de edad, donde los pacientes de 35 años o menos tuvieron una

proporción similar en ambos estudios (argentinos 54.3%, sonorenses 58.8%), tuvieron una menor relación de casos positivos (6 de 44 casos, 13.6%) en comparación con nuestros resultados (5 de 20 casos, 25%); en contraste, la asociación en los grupos de pacientes de 36 a 50 años y los mayores de 51 años presentaron una asociación mayor con el virus (53.3% y 50% respectivamente) a diferencia de los mismos grupos en nuestro hospital (33.3% y 40% respectivamente, donde no se acercaron al 50%. Otro punto a resaltar en nuestra gráfica es que la mitad de nuestros casos tenían 35 años o menos (18 a 35 años) y el otro 50% está constituido por pacientes de 36 años o más (36 a 59 años).



Relacionando al linfoma de Hodgkin y el virus de Epstein Barr en algunos países de América latina (Gráfica 11), donde se comparan nuestro resultados con los estudios de Quintanilla (México, 14), Quijano (Colombia, 22), Taumaturgo (Brasil, 23), Navarro (Paraguay, 24) y De Matteo (Argentina, 21), existe una relación similar en nuestra población con la de

Argentina (ya comentados) y con Brasil (relación del VEB en LH del 31.4%), en contraste con los valores obtenidos por Quintanilla (ya comentados), por Quijano en Colombia (relación del VEB en LH del 58.5%) y por Navarro en Paraguay (relación del 55.6%).

En relación a los casos de linfoma No Hodgkin y su asociación con el virus de Epstein Barr, Ishtiaq y colaboradores (17) refieren que la expresión de la proteína latente de membrana ha sido detectada en altos niveles en los pacientes con este tipo de linfomas; también hacen la referencia de los resultados de Matshushita y colaboradores (19) donde reportan una prevalencia del 10% del VEB en los linfomas No Hodgkin. En el estudio realizado por Ishtiaq en el 2013, reportaron 71 casos de linfoma no Hodgkin, donde nueve de ellos (12.7%) fueron asociados al VEB mediante la utilización del anticuerpo LMP1 por medio de inmunohistoquímica; de esos nueve casos, siete fueron inmunofenotipo B, siendo más evidente en el subtipo difuso de células grandes con cuatro casos (44.4%), otros dos del subtipo folicular (22.2%) y uno del subtipo células del manto (11.1%); los dos restantes correspondieron a linfomas No Hodgkin inmunofenotipo T, siendo uno de ellos linfoma T linfoblástico (11.1%) y el otro correspondiendo a linfoma de células T angioinmunoblástico (11.1%). Otro estudio en donde se busca intencionadamente la relación del VEB y los linfomas No Hodgkin es el que nos presente Navarro y colaboradores (20), donde reportan 57 casos de este tipo, teniendo una correlación de 21 casos (36.8%) con el virus; de esos, 11 pacientes (52.4%) correspondieron a linfomas No Hodgkin inmunofenotipo B de células grandes, cuatro casos (19%) a linfomas de Burkitt y dos casos (9.5%) a linfomas No Hodgkin inmunofenotipo T (uno de células T periférico y uno extranodal tipo NK).

Haciendo una relación de estos resultados con los arrojados por nuestro trabajo, de los 79 casos diagnosticados mediante estudios de ganglio linfático como linfoma No Hodgkin, solamente tres casos (3.8%) fueron asociados al VEB: dos inmunofenotipo B, los cuales fueron del subtipo anaplásico de células grandes B (66.6%) y uno inmunofenotipo T (33.3%) clasificado como linfoma no Hodgkin difuso inmunofenotipo T. Este último no fue subclasificado debido a que en la institución no contamos con anticuerpos para realizarlo.

Al igual que los resultados obtenidos por Ishtiaq y Navarro, tuvimos una mayor frecuencia en el linfoma No Hodgkin inmunofenotipo B de células grandes. Igualmente se presentaron algunos casos de inmunofenotipo T y aunque son raros, los más frecuentes se presentan en la tabla 3 y suelen asociarse a la latencia II del virus de Epstein Barr en las células infectadas.

Tabla 3

VEB asociado a alteraciones linfoproliferativas de células T/NK

- Linfoma de células T periférico, no especificado
- Linfoma de células T angioimmunoblástico
- Linfoma de células T/NK nasal extranodal

Modificado de Carbone y colaboradores (10)

Lo interesante es que, si bien la positividad del anticuerpo se presentó en el caso de linfoma T, la distribución de la inmunorreacción correspondía a los escasos linfocitos B presentes dentro de ese linfoma.

CONCLUSIONES

La coexistencia del virus de Epstein Barr es mayor en los pacientes con diagnóstico linfoma de Hodgkin (29%) que en aquellos con diagnóstico de linfoma No Hodgkin (3.8%)

De los subtipos de linfoma de Hodgkin Clásico, tanto el esclerosis nodular como el rico en linfocitos tuvieron positividad en cuatro casos, sin embargo la relación proporcional con el VEB fue mayor en los casos diagnosticados como rico en linfocitos (80%) que en los diagnosticados como esclerosis nodular (22.2%).

La mitad de los pacientes con diagnóstico de linfoma de Hodgkin asociado a VEB tenía de 18 a 35 años, mientras que la otra mitad eran pacientes entre los 36 y 59 años.

Fue mayor proporción de hombres afectados por el virus de Epstein Barr (10 casos) que las mujeres (3 casos), con una relación aproximada H:M de 3 a 1.

Los tres casos de linfoma No Hodgkin asociados al virus de Epstein Barr fueron pacientes del sexo masculino con edades de 28, 70 y 71 años.

De los tres casos de linfoma No Hodgkin, dos fueron inmunofenotipo B, subtipo Anaplásico de Células Grandes y los dos hombres tenían alrededor de 70.5 años en promedio (70 y 71 años).

El único caso de linfoma No Hodgkin inmunofenotipo T fue un varón de 28 años.

La comparación de nuestros resultados en relación al VEB y linfoma de Hodgkin (29%) se equipara con los datos obtenidos en estudios de Polonia (33%), Francia (33 y 29%), India (31%), Israel (30%) y Suecia (27%) así como los obtenidos en estudios de América latina, como lo son Argentina (30.9%), Brasil (31.4%). Cabe destacar que estas proporciones deben de evaluar el método diagnóstico (IHQ vs FISH) y la edad de los pacientes, ya que la evaluación por FISH es más específica que los estudios de IHQ y la coexistencia del VEB se ha reportado con mayor asociación en pacientes pediátricos.

Se incorporó el anticuerpo para la detección de LMP1 en los paneles de inmunohistoquímica en nuestra institución durante el tiempo en que se realizó la investigación (ver anexo).

LITERATURA CITADA

1. César Lara Torres y Carlos Ortiz-Hidalgo. **Diagnóstico histopatológico e inmunohistoquímico del linfoma de Hodgkin y su diagnóstico diferencial.** Patología 2009;47(1):35-45
2. Carmen Bellas Menéndez. **Linfoma Hodgkin.** REV ESP PATOL 2004; Vol 37, n.º2: 129-138
3. Attilio Orazi, Kathy Foucar, Daniel M. Knowles, Larry Weiss. Knowles Neoplastic Hematopathology. Third Edition, 2013; p354-658
4. Juan R. Labardini Méndez et al. **Oncoguía: Linfoma Hodgkin.** Labardini et al, Cancerología 6 (2011): 133 – 138
5. Mariano Provencio Pulla. **Linfomas no Hodgkin.** 2015 1-19
6. Antonio de Jesús Guerra Soto, Edson Reboloso-Zúñiga, Alicia Guadalupe González-Sánchez, Benjamín Rubio-Jurado, Arnulfo Nava. **Linfoma no Hodgkin. Conceptos Generales.** El Residente. 2013; 8 (1): 23-34
7. Juan R. Labardini Méndez et al. **Oncoguía: Linfoma No Hodgkin.** Labardini et al, Cancerología 6 (2011): 139 – 152
8. J.I. Cohen. **Infección por virus de Epstein Barr.** N Engl J Med 2000; 343:481-492
9. Myrna Candelaria, Enrique Luna Ochoa, Juan Labardini Méndez, Aquileo Herrera Aguilar, Olga Gutiérrez Hernández, Serrano-Olvera Alberto. **Virus y Neoplasias Hematológicas.** Candelaria et al, Cancerología 4 (2009): 217-225
10. Antonino Carbone, Annunziata Gloghini, Giampietro Dotti. **EBV-Associated Lymphoproliferative Disorders: Classification and Treatment.** The Oncologist 2008;13:577–585

11. M.P. Beltramino, R. Calmet, M. Gatica Valdes. **Virus de Epstein Barr y su relación con el desarrollo de enfermedades linfoproliferativas.** Hematologia 2005, volumen 9 No 2; 39-54
12. Arredondo Veytia H. 2003. Linfomas de Hodgkin en el Hospital General del Estado, en Hermosillo, Sonora. Tesis de especialidad, Universidad Autónoma de México. 2003; p 1-20
13. Quintanilla Martínez, L , Gamboa Domíquez, A, Gamez Ledesma I, Angeles Angeles A, Mohar A. **Association of Epstein Barr virus latent membrane protein and Hodgkin's disease in Mexico.** Mod Pathol. 1995 Aug;8(6):6759.
14. Quintanilla Martínez, L , Gamboa Domíquez, A, Gamez Ledesma I, Orozco Estevez H, Angeles Angeles A. **High prevalence of the Epstein Barr virus in a Mexican population with Hodgkin's disease.** Rev Invest Clin. 1994 SepOct;46(5):35562
15. Salceda Otero J, Aviles Viveros A, Carballo Zarate A, Zarate Osorno A, **Linfomas en México: Clasificación morfológica y por inmunohistoquímica.** Hospital Español de México. 2008
16. Čičkušić E, Mustedanagić-Mujanović J, Iljazović E, Karasalihović Z, Škaljić I, **Association of Hodgkin's lymphoma with Epstein Barr virus infection.** Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences 2007; 7 (1): 58-65
17. Ishtiaq S, Hassan U, Mushtaq S, Akhtar N, **Determination of Frequency of Epstein-Barr Virus in Non- Hodgkin Lymphomas using EBV Latent Membrane Protein 1 (EBV-LMP1) Immunohistochemical Staining.** Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol 14, 2013; p 3963-3967. DOI:<http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.6.3963>

18. Nourse JP, Crooks P, Keane C, Nguyen-Van D, Mujaj S, Ross N, Jones K, Vari F, Han E, Trappe R, Fink S, Gandhi MK, **Expression profiling of Epstein Barr virus encoded microRNAs from paraffin embedded formalin fixed primary Epstein-Barr virus positive B-cell lymphoma samples.** J Virol Methods. 2012 Sep;184(1-2):46-54 DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.05.005
19. Matsushita H, Nakamura N, Tanaka Y, **Clinical and pathological features of B cell non-Hodgkin lymphomas lacking the surface expression of immunoglobulin light chains.** Clin Chem Lab Med, 2012, 50, 1665-70.
20. Navarro Trevisan NP, Figueredo Thiel SJ, Sánchez Martínez DF, Espínola Cano AF, Campos S, **Detección inmunohistoquímica del virus de Epstein-Barr en pacientes con linfoma,** An. Fac. Cienc. Méd. (Asunción) / Vol. 46 - Nº 2, 2013.
21. De Matteo E, Vijnovich Baron A, Chabay P, Porta J, Dragosky M, Preciado MV **Comparison of Epstein Barr Virus presence in Hodgkin Lymphoma in Pediatric Versus Adult Argentine patients,** Arch Pathol Lab Med—Vol 127, October 2003
22. Quijano S, Saavedra C, Fiorentino S, Orozco O, Bravo MM. **Presencia del virus de Epstein-Barr en casos colombianos de linfoma de Hodgkin y su relación con la respuesta al tratamiento,** Biomédica 2004;24:163-73
23. Taumaturgo Pinto M, Valdeci de Almeida Ferreira F, Da Silva Pitombeira M, Meira Magalhães SM, Bastos Eloy da Costa CM, Linhares Lima Filho PW, Correia Férrer RP, Porfirio de Aguiar L, Rocha Filho FD, **Analysis of the association between Epstein-Barr virus and classic Hodgkin's lymphoma in adult patients from Ceará (Brazil) by immunohistochemistry and in situ hybridization,** Bras Patol Med Lab • v. 42 • n. 3 • p. 201-205 • junho 2006

24. Navarro Trevisan NP, Figueredo Thiel SJ, Sánchez Martínez DF, Espínola Cano AF, Campos S, **Detección inmunohistoquímica del virus de Epstein-Barr en pacientes con linfoma**, An. Fac. Cienc. Méd. (Asunción) / Vol. 46 - N° 2, 2013.

ANEXOS



Gobierno del
Estado de Sonora

Secretaría
de Salud

SERVICIOS DE SALUD DE SONORA
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO
"DR. ERNESTO RAMOS BOURS"
LABORATORIO DE PATOLOGIA
2016

ESTUDIO No.: I-16-212
NOMBRE: VIZACARRA SONOQUI ARMANDO
SERVICIO: EDAD: 43 AÑOS SEXO: MASCULINO
EXPEDIENTE: 8037.16 MEDICO:
MATERIAL RECIBIDO: GANGLIO CERVICAL
RECIBIDA: 14-07-16 ENVIADO: 20-JUL-16
D. CLINICOS: LINFOMA DE HODGKIN

DESCRIPCION:

SE REALIZO EL SIGUIENTE ESTUDIO DE INMUNOHISTOQUIMICA DE LA MUESTRA (Q-16-1677-2), SE APLICARON LOS SIGUIENTES ANTICUERPOS:


CD-45:	POSITIVO DIFUSO EN LINFOCITOS
CD-20:	NEGATIVO EN CÉLULAS TUMORALES
CD-15:	POSITIVO EN CÉLULAS DE HODGKIN
CD-30:	POSITIVO EN CÉLULAS DE HODGKIN
KI-67:	POSITIVO EN EL 90% DE CÉLULAS TUMORALES
LMP-1:	POSITIVO +++ EN CÉLULAS ASOCIADAS A VEB


DIAGNOSTICO:

GANGLIO CERVICAL CON LINFOMA DE HODGKIN SUBTIPO ESCLEROSIS NODULAR ASOCIADO A INFECCION POR VIRUS DE EPSTEIN BARR.

NOTA:

- 1.- LA POSITIVIDAD DE CD-15 Y CD-30 EN CELULAS DE HODGKIN CONFIRMAN EL DIAGNOSTICO.
- 2.- LA POSITIVIDAD DE LMP-1 CONFIRMAN LA ASOCIACION CON VIRUS DE EPSTEIN BARR.


DR. MINOR R. CORDERO B.
COMMAP: 658 CEDULA 3167182
PATOLOGO


DR. ALBERTO IBARRA MOEDANO
R3 ANATOMIA PATOLOGICA



Hospital General
del Estado
Dr. Ernesto Ramos Bours

Unidos logramos más

Bld. Luis Encinas Johnson S/N Colonia Centro
Tels. (662) 2592501, 2592505
Hermosillo, Sonora / www.saludsonora.gob.mx