



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO

“FEDERICO GÓMEZ”

Caracterización de los linfomas T/NK extraganglionar
tipo nasal en la población atendida en el hospital Infantil
de México período 2000-2019

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN :

PATOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA

Dr. Pedro Alberto Velarde Hernández.

TUTOR:

Dr. Ezequiel M. Fuentes Pananá.



Ciudad de México



Febrero 2023



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.

HOJA DE FIRMAS.

Tutor académico y director de tesis:

EZEQUIEL M. FUENTES

Dr. Ezequiel M. Fuentes Pananá
Jefe de la Unidad de Investigación en Virología y Cáncer
Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

Tutor metodológico:



Dra. María Argelia Escobar Sánchez
Jefe del departamento de Patología Clínica y Experimental
Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

ÍNDICE:

Portada	
Hoja de firmas	
1. Marco teórico.....	4
2. Planteamiento del problema.....	10
3. Pregunta de investigación.....	11
4. Justificación.....	11
5. Hipótesis	11
6. Objetivos	12
7. Material y Métodos.....	13
8. Plan de análisis estadístico.....	14
9. Descripción de variables.....	19
10. Resultados.....	27
11. Discusión	27
12. Conclusiones.....	28
13. Cronograma de actividades.....	30
14. Referencias bibliográficas.....	30
15. Limitación del estudio.....	33
16. Anexos	34

1. Marco teórico

Evolución histórica

En 1897, Mc Bride¹ describió una entidad que nombró como “lesiones ulcerosas y necróticas proliferativas de la vía aérea superior” con la característica histopatológica principal de extensa endoarteritis, con el paso del tiempo, esta lesión fue englobada dentro de una entidad conocida como *Granuloma letal de la línea media*,² el cual fue considerado por décadas un diagnóstico clínico meramente descriptivo y de exclusión. Con el avance médico, el granuloma letal de la línea media se reveló como un conjunto de enfermedades que comparten el mismo sitio anatómico de afectación, la conducta biológica agresiva y el desenlace mortal: Granulomatosis con poliangeítis (granulomatosis de Wegener), infección por hongos del orden *Mucorales* y el Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal.²

Originalmente descrito **en 1982** por Ishii et al³ como Linfoma T Nasal, confirmándose su característica morfológica de angiocentricidad y angiodestrucción, se renombró como Linfoma angiocéntrico en la Clasificación Revisada Americana-Europea de Linfomas (REAL/WHO)⁴. En 1994 Suzumiya⁵ realizó estudios de inmunohistoquímica y Southern blot para marcadores de CD56, TCR y CD3 en nueve pacientes con linfoma no-Hodgkin sinonasal que demostraron que estos linfomas provienen de células NK y linfocitos T en diferentes estadios de maduración. En 1996 se propuso renombrarlo como *Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal* y en 2001 fue incluido con esta denominación, actualmente está categorizado dentro de las neoplasias linfoides de estirpe T/NK maduras de la clasificación 2017 de neoplasias linfoides de la Organización Mundial de la Salud.⁶

Epidemiología

El Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal presenta mayor prevalencia en dos regiones del mundo: extremo oriente (China, Japón, Taiwán, Corea del Sur y Tailandia) y en América latina, principalmente en personas con ascendencia indígena (México, Guatemala, Brasil y Perú). **En** ambos grupos poblacionales abarca hasta 10% de los linfomas no-Hodgkin, mientras que en población caucásica de Europa y Estados Unidos es más raro, pues representa apenas 1.5% de los linfomas no-Hodgkin.⁸ En los últimos años se ha observado una transición epidemiológica en Estados Unidos, debida principalmente a la llegada de migrantes de origen latinoamericano y de las islas del pacífico asiático.

La mayoría de los pacientes son adultos, entre la quinta y séptima décadas de la vida, aunque los casos pediátricos no son raros, el rango de edad observado es desde los 9 a los 89 años, afecta principalmente a hombres (hasta 75%) mientras que en pacientes pediátricos los adolescentes son los más afectados (hasta 70%).

El pronóstico varía entre las series de casos, sin embargo **es en** general pobre, con una tasa de supervivencia a 5 años de apenas 25-50%.¹¹

Etiología

Rol del virus de Epstein-Barr (VEB)

El VEB es la infección más común y persistente en seres humanos, con aproximadamente el 95% de la población adulta mundial padece una infección la gran mayoría de manera asintomática de por vida. El VEB pertenece a la familia *Herpesviridae*, posee un genoma de ADN de aproximadamente 165 kbps. Es el primer virus tumoral descubierto en 1964 por los Dres. Michael Epstein e Yvonne Barr al estudiar mediante microscopía electrónica células cultivadas de linfoma de Burkitt endémico de la región subsahariana de África.¹²

In vitro, el VEB infecta preferentemente a los linfocitos B humanos no proliferantes y quiescentes, los activa, induce su proliferación e inmortalización y establece una infección latente en ellos. Tras la infección, el ADN viral se mantiene como copias episomales extracromosómicas en el núcleo, **el** cual se cromatiniza al adquirir

nucleosomas incluidas histonas con marcas mayoritariamente represivas y un muy alto grado de metilación CpG.

En la llamada fase prelatente de infección viral inmediatamente posterior a la entrada a la células hospedero, el VEB reprograma los linfocitos B en reposo en blastos B activados y proliferantes, la transcripción viral es menos restringida, lo que conduce a la expresión tanto de genes virales líticos como latentes inmediatos y tempranos; en contraste, en las células infectadas latentes establecidas, un conjunto mínimo pero claramente definido de genes es expresado. Como resultado de la infección de linfocitos B *in vitro*, surgen las llamadas líneas celulares linfoblastoides (LCLs) en las que el VEB establece una infección latente estable, *in vivo*, la fase latente le permite al virus persistir toda la vida del individuo infectado.^{7,12,15}

El virus también posee una fase citolítica con producción de partículas virales infectadas, ésta generalmente se da en el epitelio de la orofaringe, en donde tiene como función la transmisión del virus a otros hospederos.

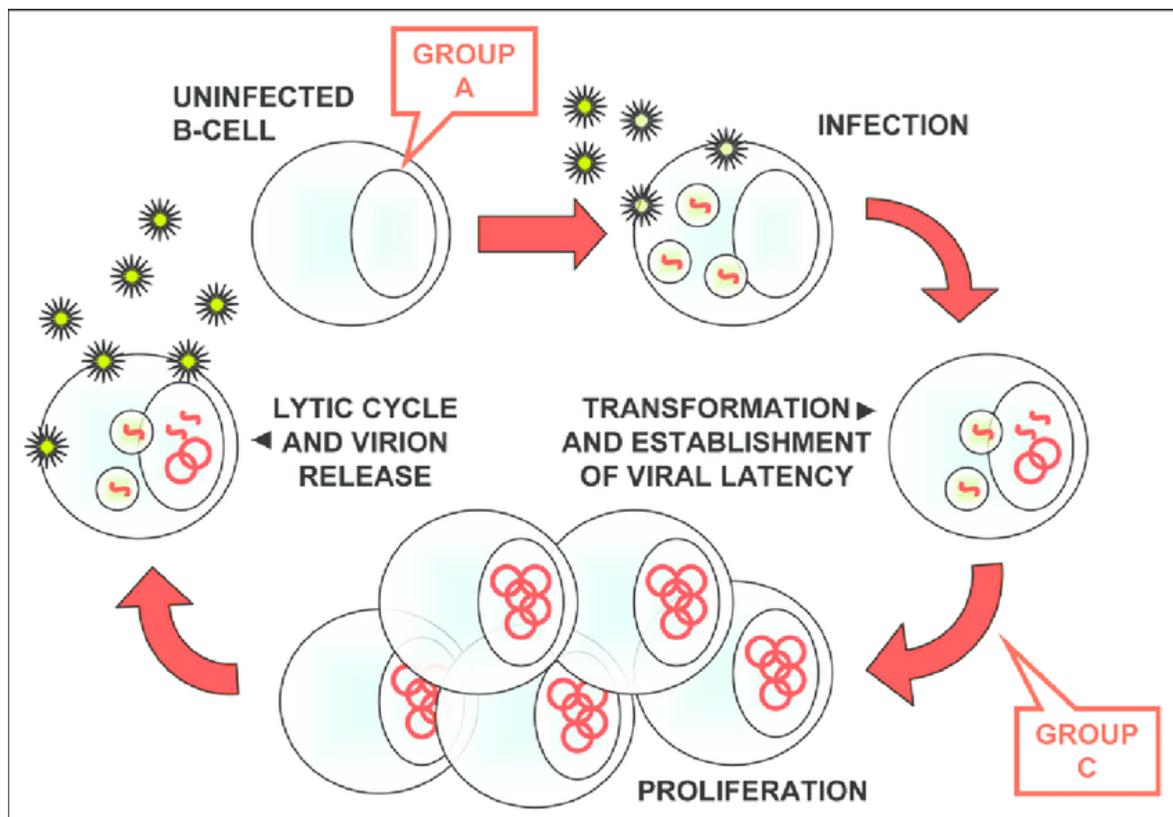


Fig.1 Ciclo de vida del virus de Epstein-Barr

Programas transcripcionales latentes en la patogenia de enfermedades relacionadas al virus de Epstein-Barr

Dependiendo del patrón de expresión de genes viral, el VEB posee hasta cuatro patrones de latencia:

- Tipo I: se expresa el antígeno nuclear de Epstein-Barr I (EBNA-1) y un número extenso de ARNs no codificantes principalmente microRNAs y los EBER), esta latencia se asocia con el Linfoma de Burkitt
- Tipo II: se expresa EBNA-1 y las proteínas latentes de membrana (LMP-1, LMP-2A y LMP-2B) además de los ARNs no codificantes, este patrón de latencia se relaciona con el Linfoma de Hodgkin, el carcinoma nasofaríngeo indiferenciado y los linfomas no-Hodgkin de estirpe T/NK
- Tipo III: se expresa toda la familia de antígenos nucleares, EBNA-1, EBNA-2, EBNA-LP, EBNA-3 a, b y c, además de los LMPs y los ARNs no codificantes, está asociado a los trastornos linfoproliferativos postrasplante **los** linfomas de individuos inmunocomprometidos, la mononucleosis infecciosa y la infección *in vitro*
- Latencia 0: expresa los ARNs no codificantes EBER, se encuentra en individuos sanos

VEB y linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal

Aunque originalmente se pensó que el VEB solo podía infectar linfocitos B y el epitelio de la nasofaringe, en 1988 Jones et al encontraron genomas de VEB en linfocitos T CD4 de tres pacientes con linfoma de células T. Ahora se sabe que la infección crónica activa por VEB (CAVEB) y en algunas inmunodeficiencias primarias también se pueden infectar otras células como los linfocitos T, células NK y células mioepiteliales. El CABEV a menudo resulta en linfomas T/NK en el cual el VEB se encuentra infectando las células T o NK,

En 1990, Harabuchi et al⁷ reportaron por primera vez la íntima asociación entre la infección por VEB y el linfoma T/NK extraganglionar de tipo nasal. Posteriormente estudios citogenéticos y de biología molecular como el de Zhang et al¹³ demostraron que el virus por sí mismo no causa transformación maligna **solo es** un elemento genético más que predispone al cáncer y que es necesaria la presencia de otras alteraciones genéticas. Por ejemplo, en el linfoma Burkitt es necesaria la traslocación del oncogen c-Myc a la región de los promotores transcripcionales de las inmunoglobulinas.

Se ha observado que las células NK infectadas con VEB secretan cantidades elevadas de interleucina 2 (IL-2) e interleucina 9 (IL-9), que promueven la activación y proliferación de las mismas.²⁵ En 2018, Kimura et al^{5,15}, propusieron dos modelos de tumorigénesis en múltiples etapas: 1) infección seguida de alteración genética y 2) alteración genética seguida de infección. En ambos, además de la infección por VEB, otros factores, como la asociación con ciertos alelos de sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA), antecedentes genéticos, factores extrínsecos, mutaciones genéticas y modificaciones epigenéticas y virus mutantes, podrían estar involucrados.

Alteraciones genéticas en la patogénesis del linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal

Diversas alteraciones genéticas se han visto involucradas en la patogénesis, una de las más frecuentemente encontradas (hasta 60% de los casos) es la delección de 6q21-23, en esta región se localizan varios genes supresores tumorales tales como *HACE1*, *PRDM1*, *ATG5* y *FOXO3*. Otras alteraciones de relevancia son *JAK3* (hasta 30% de los casos) que resulta en un estado fosforilado que activa permanentemente *STAT3* (promotor de transcripción), *TP53*, *CTNNB1*, *KRAS*, *KIT*, *KMT2D* y *ARID1A*. Todo esto resulta en una sobreexpresión de genes relacionados con la angiogénesis, estrés genotóxico y proliferación celular, además de activación de las vías de señalización JAK-STAT, AKT y NF- κ B. También se ha observado sobreexpresión del factor de crecimiento derivado de plaquetas alfa (PDGF- α)

Algunos estudios como el de Sánchez Romero et al²² han sugerido factores de riesgo ocupacionales o el estatus socioeconómico, o como el de Kojya²³, que sugiere que la exposición continua a pesticidas, en cuanto al estatus socioeconómico. Se cree que la desnutrición, higiene deficiente, la deficiencia inmune resultante y el agravamiento por la carencia de servicios médicos accesibles están relacionados a la patogénesis.

Cuadro clínico:

El linfoma T/NK extraganglionar de tipo nasal es inicialmente encontrado como una ulceración progresiva o como un granuloma necrótico en la cavidad nasal, paladar y nasofaringe, el tumor frecuentemente invade los tejidos cercanos como piel de cara, senos paranasales, órbita y posteriormente desarrolla extensa destrucción de estructuras centofaciales. Los síntomas más comunes al momento del diagnóstico son obstrucción nasal y rinorrea sanguinolenta, también se acompaña de tumefacción de las mejillas, órbitas, odinofagia y ronquera. También se han descritos manifestaciones sistémicas como fiebre prolongada, astenia y pérdida de peso.

Los sitios de presentación son en su mayoría la vía aerodigestiva superior, sin embargo se han descrito raros casos en testículo, cerebro, glándulas salivales, páncreas, tejidos blandos, médula ósea, glándulas suprarrenales y piel de otros sitios.^{19, 20}

Histopatología

Histológicamente, este linfoma se caracteriza por tener un patrón de crecimiento difuso o en sábanas, la célula neoplásica presenta amplia variación en forma y tamaño, variando desde pequeñas hasta grandes, citoplasma de escaso a moderado, con núcleos irregulares, nucleólos pequeños y elevado conteo mitótico, la característica distintiva es la angiocentricidad y angiodestrucción, sin embargo, debido a que este linfoma se asocia frecuentemente a extensa necrosis coagulativa, no todos los casos van a mostrar estas características.

Pruebas auxiliares

En cuanto al perfil de expresión de inmunohistoquímica, se ha descrito en literatura por Tse y Kong que entre el 65 y 70 % de los casos expresan antígenos para estirpe NK como CD2, CD3, CD3-ε CD56, CD94, y marcadores citotóxicos como TIA, Granzima B y Perforina. Aproximadamente un 30 a 35% de los casos son de estirpe de linfocito T y expresan CD2, CD3, CD3-ε, CD5, CD8, TCR-β, CD56 y marcadores citotóxicos (TIA, Perforina y Granzima B),⁹ se ha descrito la expresión de p53 en casos con morfología de células grandes y con un peor pronóstico.¹³ Debido a que los marcadores que expresan son prácticamente los mismos, es muy difícil separar el linaje celular y por lo tanto reciben la denominación de Linfoma T/NK. En 2016 Hog et al²⁶ realizaron estudio retrospectivo de 108 casos de linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal con técnicas de biología molecular para identificar reordenamientos del gen que codifican el receptor de células T para determinar el linaje celular corresponde a células T o NK, se encontró que el linaje celular no influye en el comportamiento clínico ni en la supervivencia de los pacientes.

Tanto los linfomas de estirpe T como de estirpe NK son positivos para virus de Epstein-Barr, el cual puede demostrarse por varios métodos, ya sea por inmunohistoquímica por medio del anticuerpo contra las proteínas (LMP-1^o EBNA-1) o por medio de técnicas de biología molecular como la hibridación in situ, ésta última, por la expresión más homogénea de los EBERs, constituye el estándar de oro de la detección del VEB en todas las neoplasias asociadas.

2. Planteamiento del problema

Actualmente, la gran mayoría información clínica, anatomopatológica y epidemiológica disponible sobre el linfoma T/NK extraganglionar de tipo nasal proviene de estudios en poblaciones de Norteamérica y Europa Occidental, se

cuentan con escasos estudios en poblaciones donde la prevalencia es mayor como África subsahariana y países de América del Sur, sin embargo no se cuenta con estudios de este tipo en la población mexicana.

3. Pregunta de investigación:

¿Cuáles son las características epidemiológicas, clínicas, histopatológicas y perfil de expresión de inmunohistoquímica de los linfomas T/NK extraganglionar tipo nasal en la población atendida en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez”?

4. Justificación

A pesar de que existen estudios a nivel mundial sobre la frecuencia y características de los linfomas T/NK extraganglionar tipo nasal, no existen estudios en la población mexicana donde se describe la frecuencia ni las características epidemiológicas ni inmunofenotípicas de éstos. El presente estudio descriptivo tiene como fin ser un punto de arranque para el estudio de linfomas T/NK extraganglionar tipo nasal VEB positivo.

5. Hipótesis

La frecuencia, características epidemiológicas e inmunofenotípicas del linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal en la población del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” será igual al reportado en la literatura mundial.

6. Objetivos

Objetivo General:

Conocer las características clínicas, histopatológicas, epidemiológicas y perfil de expresión de inmunohistoquímica en pacientes diagnosticados con Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el período comprendido entre los años 2000 a 2019.

Objetivos específicos:

1. Determinar la presencia de infección por virus de Epstein Barr en pacientes diagnosticados como Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal
2. Conocer la incidencia del Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal en la población atendida el Hospital Infantil de México Federico Gómez durante el periodo 2000-2019.
3. Identificar los sitios anatómicos más afectados en pacientes diagnosticados como Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” durante el periodo 2000-2019.

7. Material y métodos

Tipo y diseño de estudio

Transversal, descriptivo, retrospectivo, analítico y comparativo

Muestreo y tamaño de muestra

El tipo de muestreo será no probabilístico, por conveniencia. Acorde al número de casos encontrados en el archivo del Servicio de Patología.

Criterios de inclusión

Biopsias de pacientes con diagnóstico de Linfoma T/NK extraganglionar de tipo nasal realizado en el departamento de Patología del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” diagnosticados durante los años 2000 a 2019

Criterios de exclusión

Biopsias de pacientes que no cuenten con bloques de tejido ni laminillas histológicas

Criterios de eliminación:

Ninguno

Materiales

Los materiales necesarios para realizar este protocolo serán los siguientes:

1. Personal:

- a. Alumno: Dr. Pedro Alberto Velarde Hernández
- b. Tutor principal: Dr. Ezequiel M. Fuentes Pananá
- c. Tutor metodológico: Dra. María Argelia Escobar Sánchez

2. Materiales:

- a. Libreta de archivos del servicio de Patología
- b. Bloques de parafina y laminillas tanto de histoquímica como de inmunohistoquímica
- d. Computadora portátil

Métodos

Realización de base de datos

Se realizó la base de datos con los registros quirúrgicos del departamento de Patología Clínica y Experimental del Hospital Infantil de México de los años 2000 a 2019. Se ingresó a la base de datos general todos los casos nuevos de linfomas del mismo periodo de tiempo, recolectando los datos de número de quirúrgico, número de registro, edad, sexo, ubicación, diagnóstico y biopsias subsecuentes según el caso.

De la base de datos general, se extrajeron los casos diagnosticados como Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal y se procedió a la recopilación del material (bloques de tejido en parafina, laminillas de histoquímica y de inmunohistoquímica)

Una vez recolectados los casos se procedió a la revisión de los mismos y evaluación de las reacciones de inmunohistoquímica para determinar cuáles fueron los anticuerpos más comúnmente utilizados para el diagnóstico así como las laminillas que estuvieran en condiciones óptimas para evaluación

8. Plan de Análisis estadístico

Se realizó análisis descriptivo de las variables de interés y caracterización representadas en tablas de frecuencia utilizando el software SPSS V.25.0 para análisis estadístico.

La información se representó en figuras, gráficas y en tablas donde fue apropiado.

9. Definición de las variables

A) variable independiente

Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal

Definición: Linfoma agresivo y predominantemente extraganglionar de células T/NK caracterizado por angiotropismo, angiodestrucción necrosis y asociación con Virus de Epstein-Barr

Definición operacional: Diagnóstico de linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal por el departamento de patología.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica

Escala de medición:

Positivo / Negativo

B) variables dependientes:

Edad

Definición: Tiempo cronológico cumplido desde el momento del nacimiento

Definición operacional: Rango de las edades cronológicas mínima y máxima que componen las etapas de la edad pediátrica

Tipo de variable: Cualitativa, categórica, politómica

Escala de medición:

- Neonato (hasta 1 mes)
- Lactante menor (de 1 mes 1 día hasta 11 meses 29 días)
- Lactante mayor (de 1 año a un año 11 meses)
- Preescolar (de 2 años a cinco años 11 meses)
- Escolar (de 6 años a 11 años 11 meses)
- Adolescente (de 12 años a 18 años 11 meses)

Sexo

Definición: Conjunto de características biológicas (anatómicas y fisiológicas) que distinguen a los seres humanos en dos grupos.

Definición operacional: Masculino: Género gramatical propio del hombre

Femenino: Género gramatical propio de la mujer

Tipo de variable: Cualitativa nominal dicotómica

Escala de medición: Hombre/Mujer

Ubicación anatómica:

Definición: Sitio del cuerpo humano definido por el Comité Internacional de Nomenclatura anatómica

Definición operacional: Sitio topográfico de la anatomía humana donde se presentó el Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal en los pacientes estudiados.

Tipo de variable: Cualitativa nominal politómica

Escala de medición:

- Mucosa nasal
- Dorso nasal
- Mejilla
- Labios

- Cornetes

CD2

Definición: siglas en inglés para grupo de diferenciación 2, es una glucoproteína de 50 kDa, de la familia de las inmunoglobulinas, que media en la adhesión de los linfocitos T activados y los timocitos con las células presentadoras de antígenos y las células diana.

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra la molécula CD2 de diferenciación de linfocito T

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

CD3

Definición: Siglas para grupo diferenciación 3, es una proteína de 28 kDa que tiene papel en la transducción de señales y la expresión del receptor de células t (TCR) en la superficie de la célula. Es un marcador específico de timocitos y células T.

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra la molécula CD3 de diferenciación de linfocito T

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

CD8

Definición: Siglas de grupo de diferenciación 8, glucoproteína transmembrana de 65-70kDa que participa como co-receptor en la estabilización de la adhesión del receptor de linfocitos T a moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad I (MHC I). Se expresa en la superficie de los linfocitos T citotóxicas.

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra la molécula CD8 de diferenciación de linfocito T citotóxico

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

CD56

Definición: Siglas para grupo de diferenciación 56, es una isoforma de 140 kDa de la molécula de adhesión celular neural (N-CAM). Se expresa en una subpoblación de linfocitos granulares grandes de la sangre periférica y en todas las células con actividad citolítica natural (NK)

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra la molécula CD56 de diferenciación de linfocito T *Natural Killer*

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

Granzima B

Definición: Enzima de la familia de las serina-proteasas contenida en gránulos citotóxicos provenientes de los linfocitos T citotóxicos y las células NK. Se expresa en el citoplasma. Su principal función es inducir la muerte celular para eliminar células infectadas con virus y células tumorales.

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra la enzima Granzima B presenta en los gránulos de linfocitos T citotóxicos

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

Perforina

Definición: Proteína citolítica modificada N-glicosilada de 70 kDa. Se acumula en gránulos citoplasmáticos similares a los lisosomas de linfocitos T citotóxicos y NK.

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra la enzima Perforina presenta en los gránulos de linfocitos T citotóxicos

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

LMP-1

Definición: Proteína transmembrana de 63kDa codificada por el gen *BNRF1* del VEB, está implicada en más de cuatro vías de señalización celular, e induce la expresión de múltiples marcadores de superficie y moléculas de adhesión celular.

Definición operacional: Anticuerpo de inmunohistoquímica contra LMP-1 presente en células infectadas con Virus de Epstein Barr en las latencias tipo II y III

Tipo de variable: Categórica nominal politómica

Escala de medición:

- Positivo
- Negativo
- N/A

Consideraciones éticas

Con base en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en el Título Segundo, Capítulo I, Artículo 17, este proyecto se clasifica como una investigación sin riesgo debido a que no implica intervención directa con los pacientes.

Como parte de las consideraciones ética en investigación se salvaguardará la confidencialidad de los datos personales extraídos de los reportes de histopatología y tanto el protocolo de investigación como los resultados obtenidos en el estudio estarán abiertos al acceso público

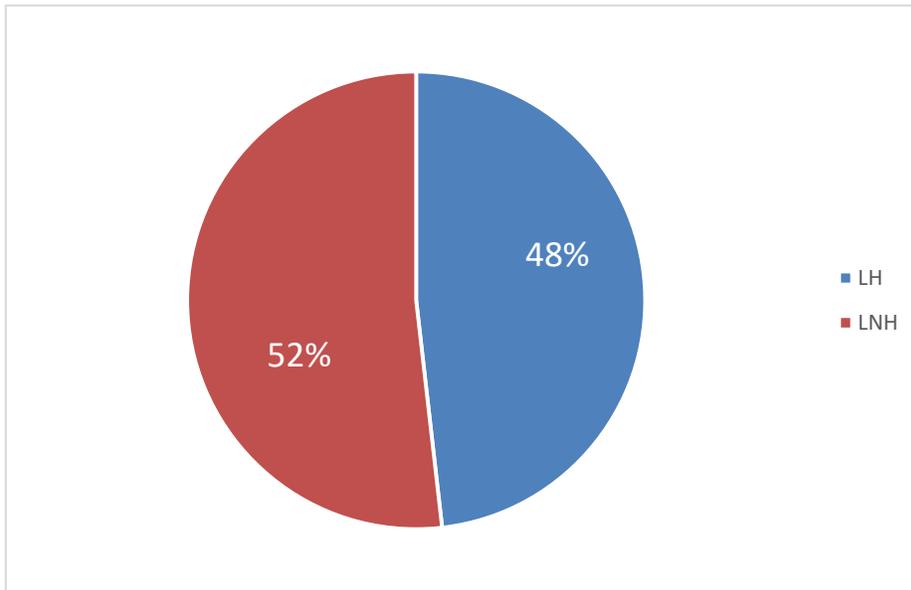
10. Resultados

Se realizó la recolección de datos generales concernientes a todos los casos de linfomas obteniéndose en total 444 casos en 20 años, de estos datos generales se obtuvo la siguiente relación entre linfomas Hodgkin y no-Hodgkin:

Tabla I: Total de linfomas Hodgkin y no-Hodgkin

LH	LNH
215	229

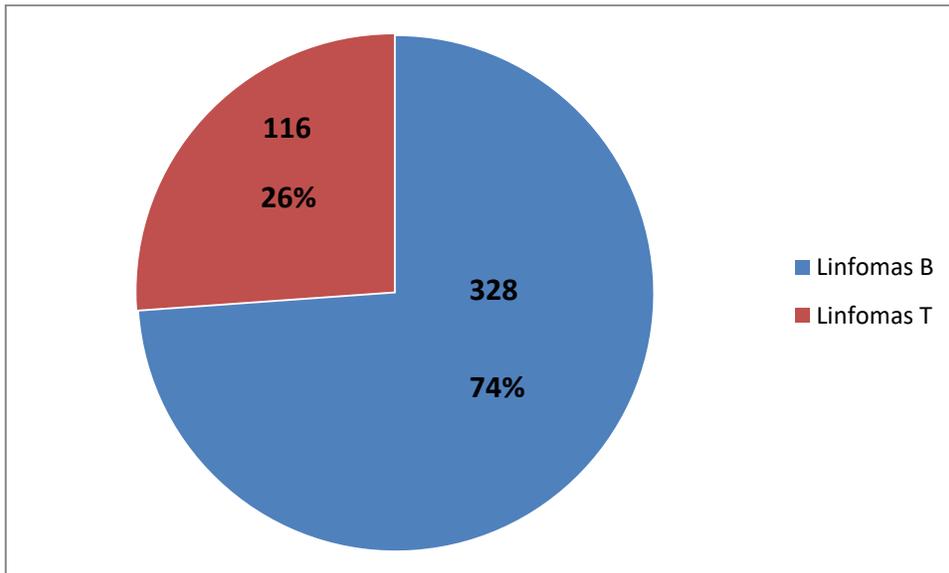
Gráfica I: Relación entre linfomas Hodgkin y no Hodgkin



Del total de linfomas diagnosticados, predominaron los no Hodgkin con 52%

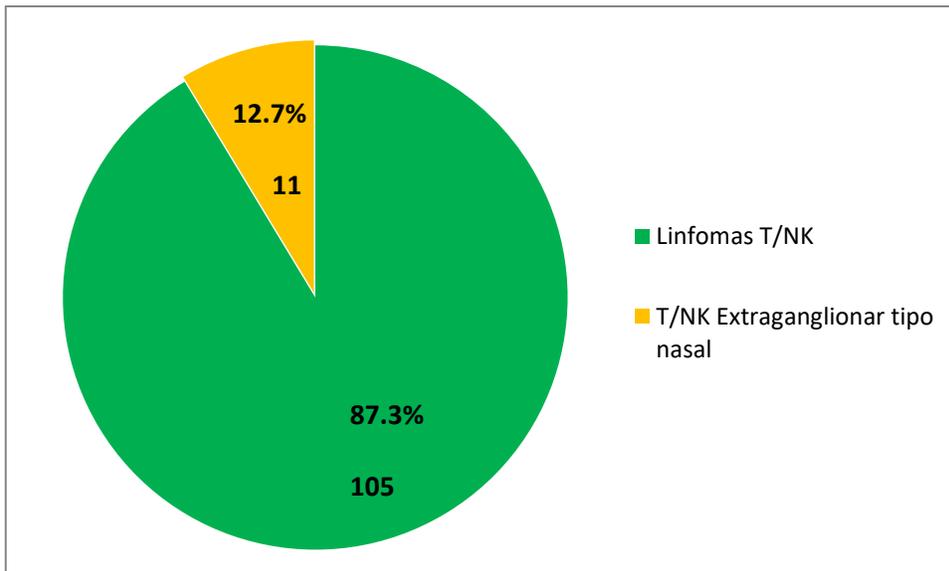
Del total de linfomas, se obtiene la siguiente proporción entre linfomas de células B y de células T:

Gráfica II: relación linfomas B y T

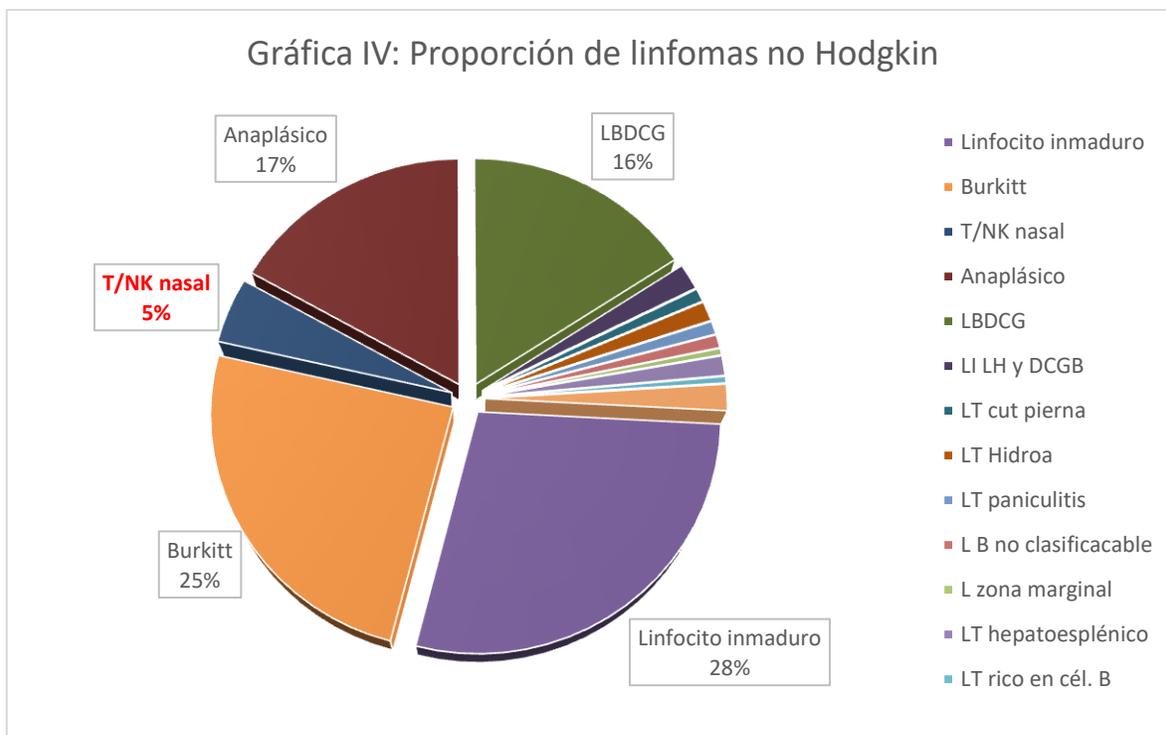


De los casos de linfomas T o NK (116 casos) se obtuvo la proporción que representa a los linfomas T/NK extraganglionar

Gráfica III: Proporción entre linfomas T o NK y Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal.



De los casos de linfomas no Hodgkin (229), se obtiene la siguiente proporción por diagnóstico:



Siglas: LBDCG = linfoma B difuso de células grandes, LT = Linfoma T, LI LH y DCGB = Linfoma intermedio con características de linfoma de Hodgkin y difuso de células B grandes

De entre todos los linfomas no-Hodgkin, el T/NK extraganglionar tipo nasal fue el quinto más frecuente, con 5% de los casos.

Se realizó valoración de los casos de Linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal de acuerdo con los de criterios inclusión y exclusión logrando reunir un total de 11 casos con los siguientes datos obtenidos de la información clínica proporcionada al momento de la biopsia:

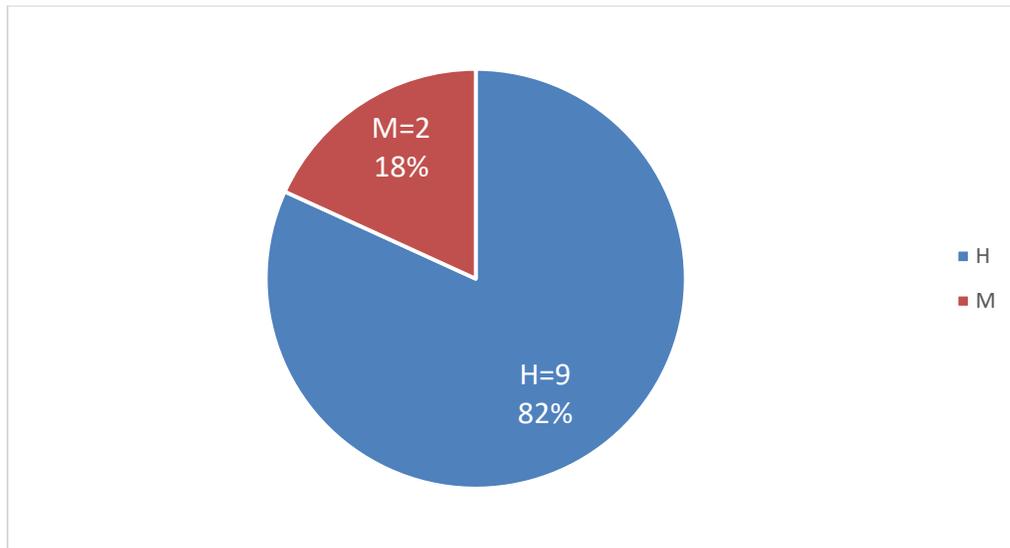
Tabla II: Casos de linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal analizados

No.	Quirúrgico	Sexo:	Ubicación	Edad
1	A	Hombre	Mucosa nasal	14a
2	B	Hombre	piel de nariz	14a
3	C	Mujer	mejilla	7a 1 m
4	C	Hombre	paladar blando	14a
5	D	Hombre	paladar blando	11a
6	E	Hombre	labio superior	5a

7	F	Mujer	Piel cabelluda	2m
8	G	Hombre	mucosa nasal	15a
9	H	Hombre	piel de nariz	13a
10	I	Hombre	Piel brazo	18a
11	J	Hombre	cornete medio	13a

De estos casos se obtiene la siguiente relación por género:

Gráfico V: Relación por género



Se realizó división de los casos estudiados por grupos etarios como recién nacidos, lactante menor, lactante mayor, preescolares, escolares y adolescentes obteniendo los siguientes resultados:

Tabla III: casos por grupo etario		
Grupo etario	Frecuencia	Porcentaje
Neonatos	0	0%
Lactante menor	1	9%
Lactante mayor	0	0%
Preescolar	1	9%
Escolar	2	18%
Adolescente	7	64%
Total:	11	100%

El grupo etario más afectado fue el adolescente con 7 casos (64%), los menos afectados fueron los neonatos con 0 casos.

Se realizó correlación entre la edad y el sitio:

Tabla IV

Recuento		Sitio									Total
		cornete medio	Cuero cabelludo	labio superior	mejilla	mucosa nasal	Mucosa nasal	paladar blando	Piel brazo	piel de nariz	
Edad	Adolescente	1	0	0	0	1	1	1	1	2	7
	Escolar	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
	Lactante menor	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	Preescolar	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Total		1	1	1	1	1	1	2	1	2	11

El sitio más frecuentemente afectado en el grupo etario más afectado fue la piel de la nariz en los adolescentes.

Se realizó tabla cruzada de relación de edad con sexo

Tabla V

Recuento		Edad				Total
		Adolescente	Escolar	Lactante menor	Preescolar	
Sexo	Hombre	7	1	0	1	9
	Mujer	0	1	1	0	2
Total		7	2	1	1	11

El grupo más comúnmente afectado fueron los varones adolescentes con 7 casos

Se realizó tabla cruzada comparando sitio anatómico con el sexo:

Tabla VI

Recuento		Sitio									Total
		comete medio	Cuero cabelludo	labio superior	mejilla	mucosa nasal	Mucosa nasal	paladar blando	Piel brazo	piel de nariz	
Sexo	Hombre	1	0	1	0	1	1	2	1	2	9
	Mujer	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
	Total	1	1	1	1	1	1	2	1	2	11

El grupo más afectado fueron varones en piel de la nariz y el paladar blando, mientras que en las mujeres la incidencia fue equivalente

Reacciones de inmunohistoquímica

Se revisaron las reacciones de inmunohistoquímica de los casos y se seleccionaron los anticuerpos más comúnmente utilizados con los siguientes resultados. Los casos en los cuales no se realizó la reacción o no fue valorable por defecto en la técnica se enlistan como N/A. Las imágenes histológicas y de inmunohistoquímica se enlistan en el anexo I.

No.	CD8	CD5	Granzima B	Perforina	LMP-1	CD56	CD2	CD3
1	P	P	P	N	N	N/A	N	P
2	P	N/A	P	N/A	N/A	P	N/A	P
3	P	P	P	P	N/A	N/A	P	N
4	N/A	N/A	P	P	P	N/A	N/A	P
5	N/A	P	P	P	N/A	N	P	P
6	N	P	P	P	P	P	P	N/A
7	P	N/A	N	P	N/A	P	P	N
8	P	N/A	P	P	P	P	N	P
9	P	N/A	P	P	P	P	P	P
10	P	P	P	P	P	P	N	P
11	P	N/A	P	N/A	N/A	P	N	P

P= positivo, N= Negativo N/A: no aplica

Se realizó tabla cruzada para comparar la expresión de los marcadores CD2 y CD3:

Tabla VIII

		CD3			
		N	N/A	P	Total
CD2	N	0	0	4	4
	N/A	0	0	2	2
	P	2	1	2	5
Total		2	1	8	11

De los marcadores, el CD2 presentó el mayor número de positivos

Se hicieron tablas cruzadas para comprar CD2 con Granzima B

Tabla IX

		Granzima		
		N	P	Total
CD2	N	0	4	4
	N/A	0	2	2
	P	1	4	5
Total		1	10	11

De los marcadores CD2 y Granzima B, la granzima B es la que presentó positividad más constante

Se hicieron tablas cruzadas para comprar los inmunomarcadores citotóxicos Granzima B y perforina.

Tabla X:

Tabla cruzada Perforina*Granzima

Recuento

		Granzima		Total
		N	P	
Perforina	N	0	1	1
	N/A	0	2	2
	P	1	7	8
Total		1	10	11

De los marcadores Granzima B y Perforina, la granzima B es la que presentó positividad más constante

11. Discusión

De todos los casos de linfomas atendidos en el hospital, el linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal representó el 2.48% y de entre los linfomas no-Hodgkin, representó el 4.78%, esto es superior a la frecuencia en países de Europa occidental y América anglosajona donde su prevalencia es de 1.5% de los linfomas no-Hodgkin, pero se mantiene en el rango reportado de hasta 10% en otros países con una mayor incidencia de este linfoma.

De todos los casos encontrado durante la realización de la base de datos únicamente 11 contaban con el material adecuado, como son laminillas con hematoxilina y eosina, reacciones de inmunohistoquímica y bloques de parafina.

Se realizó una comparación de los casos de linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal con relación al sexo y se encontró un predominio del sexo masculino (82% vs 18%), con razón Hombre/mujer de 4.5:1 lo cual coincide con los datos obtenidos en estudio de cohorte en pacientes latinoamericanos por Da Rosa et al en 2019¹⁸.

En cuanto a la comparación de los casos de linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal con los grupos etarios, se pudo evidenciar que la presencia de esta lesión crónica es proporcional a la edad, el mayor número de pacientes se encuentran en la adolescencia con 64%, esto coincide con el pico de incidencia en adolescentes

en los casos pediátricos de linfomas T/NK periféricos reportados en estudios por Hutchinson en 2008¹⁷ y Huang en 2019¹⁶.

En cuanto a la ubicación anatómica, con excepción de un caso, todos afectaron sitios de la vía aerodigestiva superior (10), lo cual es concordante con los literatura mundial^{9, 10}. Un caso (9%) ocurrió fuera de esta área, en piel de brazo, lo cual es una ubicación atípica, pero reportada en la literatura mundial¹⁹.

En cuanto al perfil inmunofenotípico, el marcador más frecuentemente expresado es el CD8 con 73% de positividad, cabe recalcar en solo un caso fue negativo (9%) y en los restantes (18%) no se realizó la reacción. El otro antígeno más constante fue la Granzima B también con 91% de positividad, en este cabe resaltar que el único caso que no dio positivo en la inmunohistoquímica, fue debido a que no se realizó.

12. Conclusiones:

A pesar de que el linfoma T/NK extraganglionar tipo nasal es una neoplasia pediátrica rara, posee una alta agresividad y una tasa de supervivencia a 5 años baja, esto debido a factores como el estrato socioeconómico, la exposición ambiental a agentes químicos y el retraso en el diagnóstico, que hace que los pacientes acudan al tercer nivel de atención en estadios clínicos avanzados.

En cuanto a los datos demográficos, los resultados coinciden con lo reportado en la literatura mundial manteniéndose en un rango medio entre los países con menor y mayor prevalencia.

Durante la realización del estudio se observó la falta de información clínica precisa así como el dispar uso de los reactivos de inmunohistoquímica, esto último puede subsanarse con la implementación de un panel estandarizado en caso de que se sospeche de esta neoplasia, al tener datos sobre los anticuerpos más útiles en nuestro medio para el diagnóstico, puede estandarizarse el uso de éstos de manera rutinaria, así como la implementación de un estándar en la realización de la técnica inmunohistoquímica para reducir en la medida de lo posible, los estudios

no valorables. Otro método a considerar para las de reacciones de inmunohistoquímica es la realización de tinciones multiparamétricas que combinen al menos dos inmunomarcadores pues permitiría una evaluación simultánea y en las mismas células, de la expresión de los mismos, lo que supone una ventaja frente a las reacciones con un solo marcador, pues con este método se observan diferentes niveles de una misma lesión y se corre el riesgo de agotar el tejido analizado.

Debido a que la expresión inmunohistoquímica de LMP-1 fue irregular en los casos analizados, no fue valorable o no se realizó y al ser necesario para el diagnóstico el demostrar la infección por VEB, un punto de buena práctica que puede implementarse es obviar su realización y en cambio, reemplazarla de manera rutinaria por la hibridación in situ para EBER, reduciendo así el margen de error en la determinación y el riesgo a agotar el tejido.

Por medios que se tienen al alcance en nuestra institución como la inmunohistoquímica, no es posible determinar con exactitud si los linfomas estudiados son de estirpe T o NK, siendo la PCR para búsqueda de reordenamientos en el gen que codifica el TCR y la hibridación in situ de ARN para transcritos del mismo gen los métodos para determinar el linaje celular específico de estos linfomas. Sin embargo, esta determinación es irrelevante pues se ha demostrado que el linaje celular no tiene mayor impacto en el pronóstico ²⁶.

13. Cronograma de actividades

Fecha Actividad	Septiembre 2021	Octubre 2021	Febrero 2022	Marzo 2022	Abril 2022	Mayo 2022	Junio 2022
Revisión bibliográfica							
Elaboración del protocolo							
Presentación Al comité de ética							
Recolección de casos							
Análisis estadístico							
Discusión de los resultados							
Entrega de tesis							

14. Referencias:

1. McBride, P., 1897. Photographs of a case of rapid destruction of the nose and face. *J. Laryngol. Otol.* 12, 64–66.
2. Aozasa, K., Ohsawa, M., Tajima, K., Sasaki, R., Maeda, H., Matsunaga, T. and Friedmann, I. (1989), Nation-wide study of lethal mid-line granuloma in Japan: Frequencies of Wegener's granulomatosis, polymorphic reticulosis, malignant lymphoma and other related conditions. *Int. J. Cancer*, 44: 63-66.
3. Ishii, Y., Yamanaka, N., Ogawa, K., Yoshida, Y., Takami, T., Matsuura, A., et al., 1982. Nasal T-cell lymphoma as a type of so-called “lethal midline granuloma”. *Cancer* 50, 2336–2344.
4. Jaffe ES (1996) Classification of natural killer (NK) cell and NK-like T-cell malignancies. *Blood* 87: 1207–1210
5. Suzumiya, J., Takeshita, M., Kimura, N., Kikuchi, M., Uchida, T., Hisano, S., Eura, Y., Kozuru, M., Nomura, Y., & Tomita, K. (1994). Expression of adult and fetal natural killer cell markers in sinonasal lymphomas. *Blood*, 83(8), 2255–2260.

6. Matutes, E. The 2017 WHO update on mature T- and natural killer (NK) cell neoplasms. *Int J Lab Hem.* 2018; 40(Suppl. 1): 97- 103.
7. Harabuchi Y, Yamanaka N, Kataura A, Imai S, Kinoshita T, Mizuno F, et al. Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet.* (1990) 335:128–30.
8. Haverkos BM: Extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type (ENKTL-NT): an update on epidemiology, clinical presentation, and natural history in North American and European cases. *Curr Hematol Malig Rep.* 11 (6):514-527, 2016
9. Medeiros LJ, Miranda RN. Extranodal NK-/T- Cell Lymphoma, Nasal type. En: Medeiros LJ, Miranda RN: *Diagnostic Pathology: Lymph nodes and extranodal lymphomas*, 2^a ed, Filadelfia: Elsevier; 2018 pp 644-651.
10. Harabuchi, Y., Takahara, M., Kishibe, K., Nagato, T., & Kumai, T. (2019). Extranodal Natural Killer/T-Cell Lymphoma, Nasal Type: Basic Science and Clinical Progress. *Frontiers in pediatrics*, 7, 141.
11. Kwong Y-L. Natural killer-cell malignancies: diagnosis and treatment. *Leukemia* 2005;19:2186–94.
12. Young LS, Yap LF, Murray PG. Epstein-Barr virus: more than 50 years old and still providing surprises. *Nature Reviews Cancer.* Diciembre 2016
13. Zhang, Y., Nagata, H., Ikeuchi, T., Mukai, H., Oyoshi, M.K., Demachi, A., et al., 2003. Common cytological and cytogenetic features of Epstein-Barr virus (EBV)-positive natural killer (NK) cells and cell lines derived from patients with nasal T/NK-cell lymphomas, chronic active EBV infection and hydroa vacciniforme-like eruptions. *Br. J. Haematol.* 121, 805–814.
14. Quintanilla-Martinez, L., Kremer, M., Keller, G., Nathrath, M., Gamboa-Dominguez, A., Meneses, A., et al., 2001. p53 Mutations in nasal natural killer/T-cell lymphoma from Mexico: association with large cell morphology and advanced disease. *Am. J. Pathol.* 159, 2095–2105
15. Kimura, H., 2018. EBV in t-/NK-Cell tumorigenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1045, 459–475.

16. Huang Y, Xie J, Ding Y, et al. Extranodal natural killer/T-cell lymphoma in children and adolescents: a report of 17 cases in China. *Am J Clin Pathol* 2016; 145: 46–54.
17. Hutchison RE, Laver JH, Chang M, et al. Non-anaplastic peripheral t-cell lymphoma in childhood and adolescence: a Children's Oncology Group study. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51: 29–33
18. Da Rosa LI, Fernandes da Silva, W Abdo, A Eduardo M Rego, Rocha V, Pereira J; Extranodal NK/T Cell Lymphoma Nasal Type: A Cohort Study from Latin America. *Blood* 2019; 134 (Supplement_1): 5284.
19. Liu, S., Zhou, X., Song, A., Huo, Z., Wang, Y., & Liu, Y. (2019). Nasal-type extranodal natural killer/T-cell lymphoma presenting with a mass on the buttock: A case report. *Medicine*, 98(49),
20. Alegría-Landa V, Manzarbeitia F, Salvatierra Calderón MG, et al. Cutaneous intravascular natural killer/T cell lymphoma with peculiar immunophenotype. *Histopathology* 2017;71:994–1002.
21. Lee WJ, Lee MH, Won CH, et al. Comparative histopathologic analysis of cutaneous extranodal natural killer/T-cell lymphomas according to their clinical morphology. *J Cutan Pathol* 2016;43:324–33.
22. Sánchez-Romero, C., Paes de Almeida, O., Rendón Henao, J., & Carlos, R. (2019). Extranodal NK/T-Cell Lymphoma, Nasal Type in Guatemala: An 86-Case Series Emphasizing Clinical Presentation and Microscopic Characteristics. *Head and neck pathology*, 13(4), 624–634.
23. Kojya S., Matsumura J., Ting L., Hongyo T., Inazawa J., Kiriata M., Aozasa K. Familial nasal NK/T-cell lymphoma and pesticide use. *Am. J. Hematol.* 2001;66:145–147
24. Tsurumi T, Fujita M, Kudoh A. Latent and lytic Epstein-Barr virus replication strategies. *Reviews in medical virology*. Febrero 2005.
25. Coleman, CB et al. Epstein-Barr virus type 2 latently infects T cells, inducing an atypical activation characterized by expression of lymphotactic cytokines. *The journal of virology*. 2015

26. Hong, M., Lee, T., Young Kang, S., Kim, S. J., Kim, W., & Ko, Y. H. (2016). Nasal-type NK/T-cell lymphomas are more frequently T rather than NK lineage based on T-cell receptor gene, RNA, and protein studies: lineage does not predict clinical behavior. *Mod Pathol*, 29(5), 430–443.

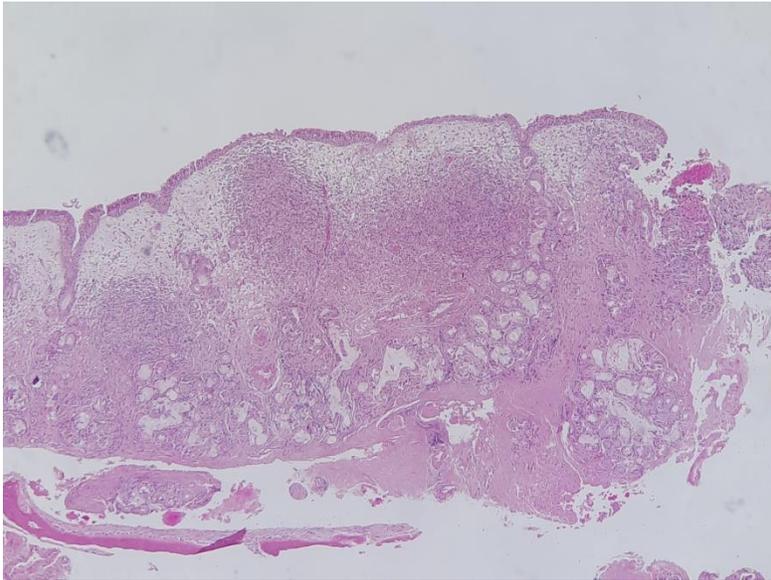
15. Limitaciones del estudio

Debido a la contingencia de salud debido a la Hepatitis aguda grave de causa desconocida, el laboratorio de virología estuvo saturado de casos sospechosos de hepatitis viral, por lo que los recursos materiales y humanos estuvieron destinados a determinar pruebas de virus hepatotropos, por lo que se retrasó la realización de las hibridaciones in situ para EBER no pudiendo recabar estos resultados para la entrega de este proyecto

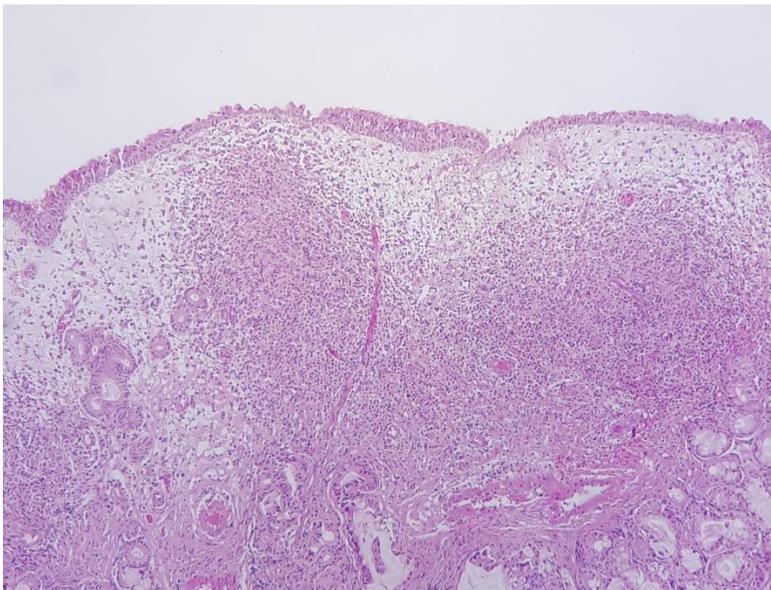
16. Anexos

Anexo I:

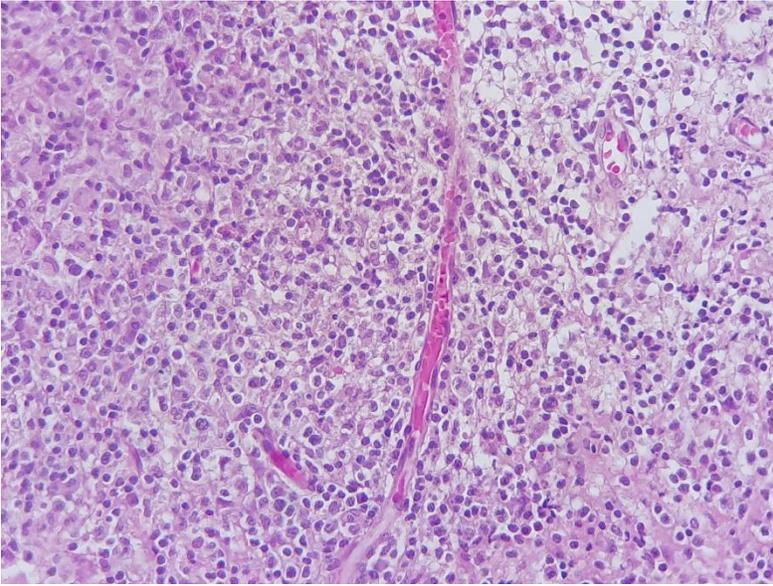
Fotomicrografías de casos de Linfoma T/NK extranganglionar tipo nasal



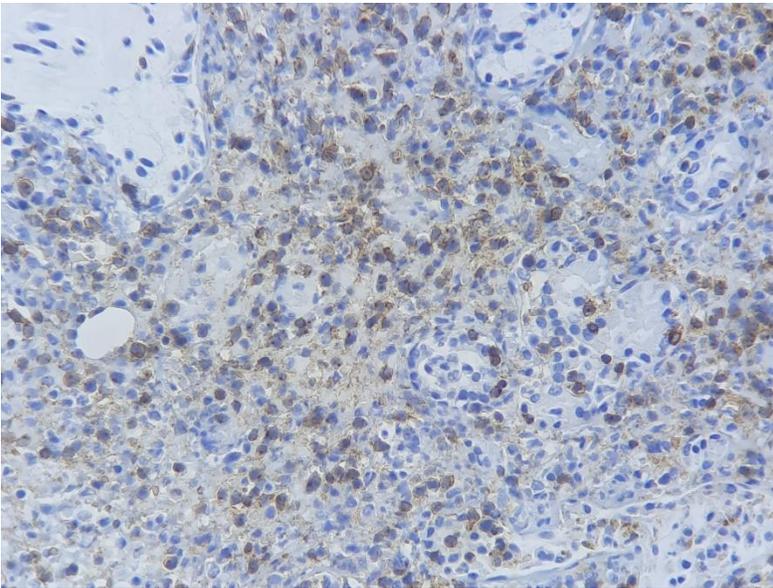
HE, 5x



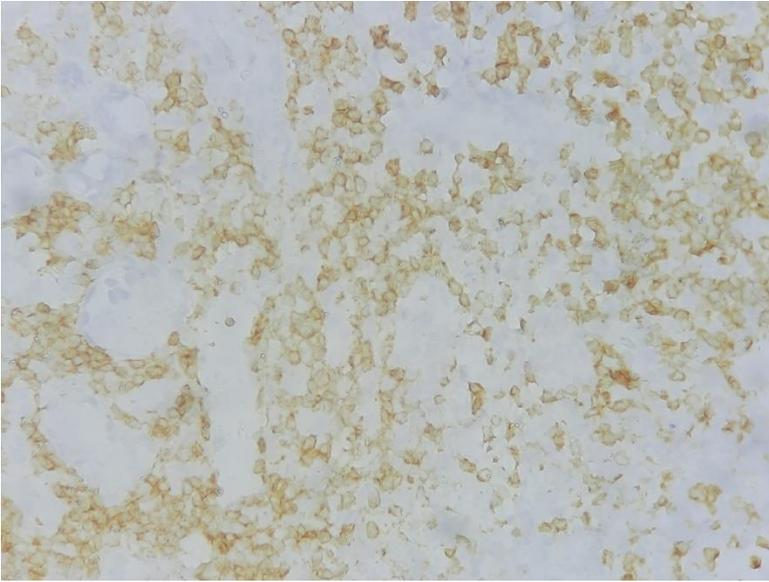
HE, 10X



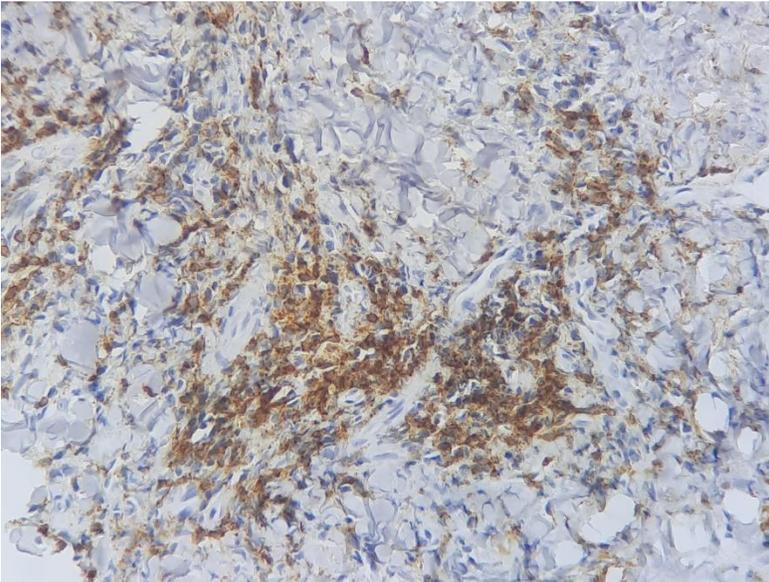
HE, 40X



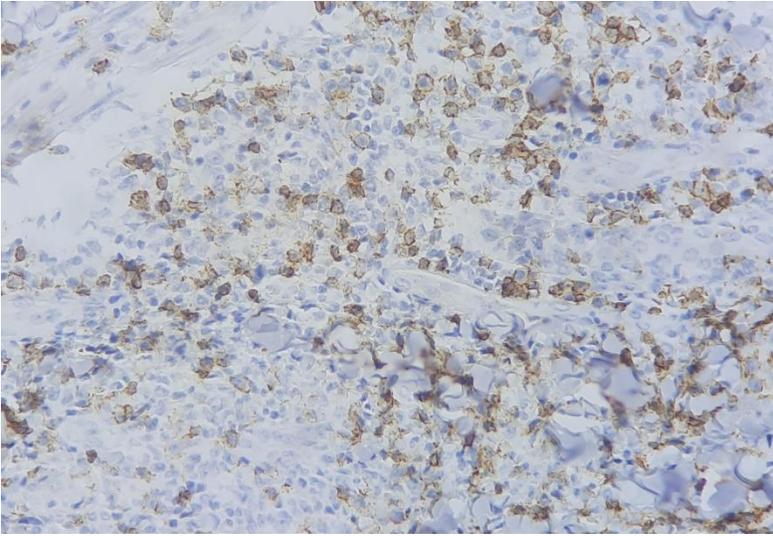
CD2, 40X



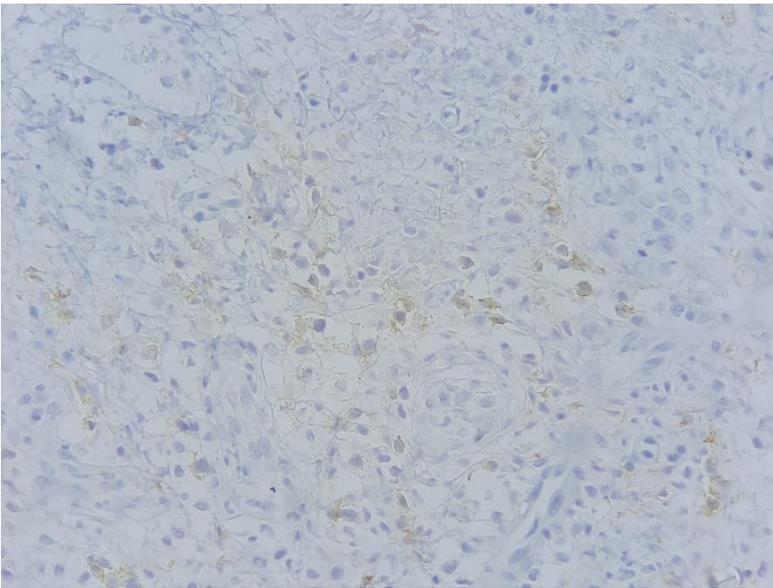
CD3, 40X



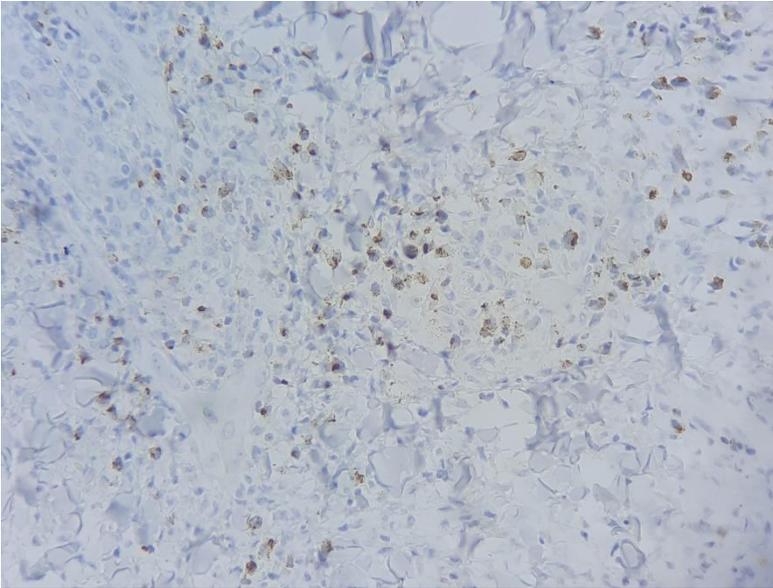
CD5, 40X



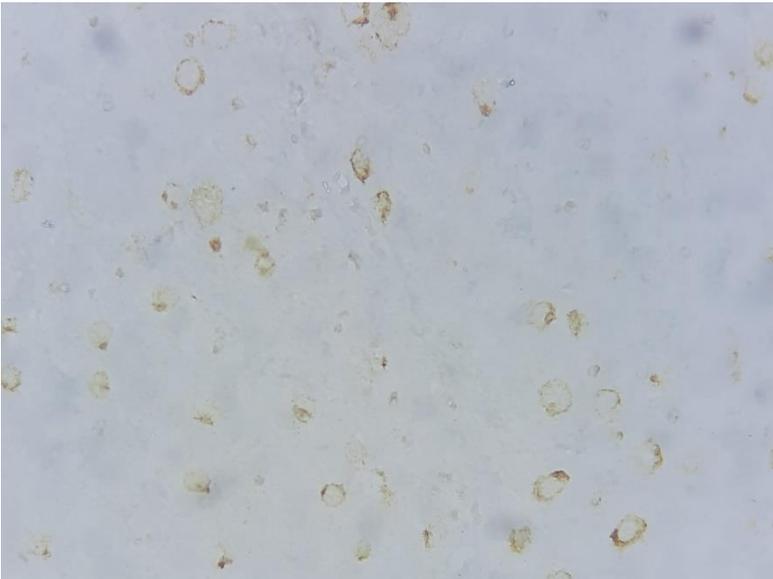
CD8, 40X



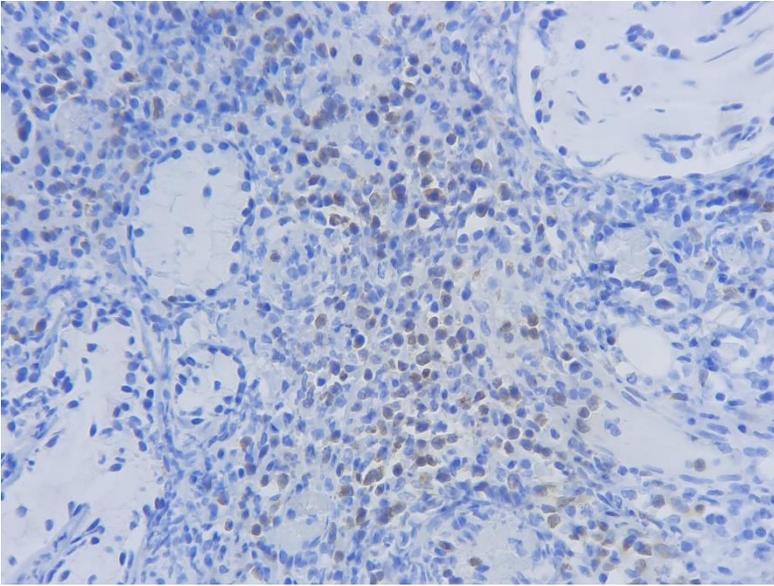
CD56, 40X



Granzima B, 40X



LMP-1, 40 X



Perforina, 40 X