

República Dominicana
Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña
Vicerectoría de Post Grado
Unidad de Residencias Médica
Instituto Oncológico Regional Del Cibao
Residencia de Hematología

Asociación de virus Epstein barr y virus linfotropo de células T humano tipo 1 en pacientes con neoplasias linfoides diagnosticados por el departamento de hematología en el período julio 2016-Julio 2017

Tesis de pos grado para optar por el título de especialista en:

Hematología



Sustentante:

Dra. Jandery Espinal

Asesores:

Dra. Esmedalys Romero

Claridania Rodríguez (Metodológico)

Los conceptos emitidos en la presente tesis de pos grado son de la exclusiva responsabilidad de la sustentante de la misma.

Distrito Nacional: 2017

Tabla de contenido

AGRADECIMIENTO	i
DEDICATORIA	ii
1 INTRODUCCION.....	1
1.2 Justificación e importancia	5
1.3 Planteamiento del problema	7
2. OBJETIVOS	9
2.1 OBJETIVOS GENERALES	9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3.0 MARCO TEORICO DE REFERENCIAS.....	10
VIRUS DE EPSTEIN-BARR:.....	11
PRODUCTOS GÉNICOS DEL VEB.....	12
GENES LATENTES:	12
LATENCIA Y PERSISTENCIA	18
VIRUS LINFOTROPICOS T HUMANOS (HTLVs).....	20
Linfomagénesis	37
Linfoma de Hodgkin.....	37
Linfoma no Hodgkin	43
Linfoma anaplásico de células grandes.....	43
Linfoma de Burkitt	44
Linfoma difuso de células b grandes	46
Otros linfomas no Hodgkin.....	51
Trastornos Linfoproliferativos asociados a VEB	53
Latencia y persistencia del VEB	53
Linfoma de Hodgkin.....	56
METODOS Y TECNICAS.....	59
4.1 Tipo de estudio	59
4.2 Universo o población.....	59

4.3 Muestra.....	59
4.4 Criterios de inclusión y exclusión	59
4.5 Variables y su operacionalización.....	60
4.6 Procesamiento de datos	60
4.7 Plan de análisis.....	61
4.8 Consideraciones éticas.....	61
PRESENTACION DE LOS RESULTADOS	62
DISCUSIÓN	69
CONCLUSIONES	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS.....	84

AGRADECIMIENTO

A Dios porque nunca se ha olvidado de mí, y me ha llevado siempre de la mano, su luz y su verdad han sido mi guía mostrándome cada día que todo es posible para quien tiene fe.

A mis padres por su apoyo, confianza, paciencia y amor incondicional.

A mis compañeros residentes de promoción que terminaron siendo mis amigos para toda la vida, Dios tuvo el propósito de unirnos y no puedo estar más agradecida de él por haberlos elegido a ustedes para acompañarme durante esta travesía.

A mis profesores los doctores César Matos, Pedro Sing, Esmedalys Romero y Minerva Cornelio por su colaboración y asesoría en todo el trayecto de esta sub especialidad.

A los pacientes y familiares que formaron parte de este estudio y depositaron su confianza en mí.

Al Dr. Lenin Peña, me has acompañado, apoyado y ayudado durante todo el trayecto hacia el crecimiento profesional, dándome tu respaldo en todo momento cada vez que lo he necesitado.

A todos aquellos que me ayudaron a llegar hasta aquí, gracias.

La autora.

DEDICATORIA

A Dios: por mantener a cada momento de mi vida protegida, bendecida, y acompañada de Él, por ser mi luz, mi guía, darme fortaleza, y enseñarme a que todo es posible con él.

A mis Padres:

Mami: por ser mi mejor amiga, tener siempre tiempo para escucharme, orientarme, consentirme, quererme, sacrificarte por mí, y ser como eres, porque si no ha de ser así, yo no fuera hoy lo que soy, por ser parte esencial de mi vida.

Papi: por apoyarme en todo momento, por tus consejos, por haberme inculcado los valores y la motivación constante que me ha permitido ser la persona que soy.

A mis hermanos:

Jennifer: por ser parte importante de mi vida, por sacrificarte muchas veces debido a mis compromisos o a mi trabajo, gracias por ser como eres y darme apoyo incondicional a lo largo de mi carrera, sin ti en mi vida esta meta hubiese sido más difícil de alcanzar, eres la mejor de las hermanas, siempre te voy a estar agradecida.

Maxi: Te fuiste donde nuestro padre celestial antes de poder ver culminado este objetivo, sin embargo, tú fuiste pieza importante durante este recorrido, siempre me ayudaste con lo que más necesité que fue con el cuidado de mi hijo, mientras no estuve presente fuiste más que un tío para él, voy a estarte eternamente agradecida y dedico este logro especialmente a ti y a tu vida, te amo.

A mi hijo Troy Fernando, sin ti en mi vida nada de lo que he alcanzado tuviera el significado ni la importancia que tiene, gracias a ti cada día es un motivo de celebración y agradecimiento a Dios por haberme dado el mayor de los regalos hace nueve años, tú fuiste, eres y serás mi mayor inspiración para lograr lo que me proponga, gracias mi amor.

A los pacientes que durante nuestra residencia de hematología y práctica diaria ponen a nuestro servicio su salud, confiando plenamente en nosotros, sin ustedes no tendría sentido nuestra carrera y no sería adecuada nuestra formación, gracias.

A todas esas personas que de una u otra forma contribuyeron la culminación de esta sub especialidad, gracias infinitas.

Jandery Mariel Espinal Aquino

1 INTRODUCCION

La dinámica de la infección por el VEB y su respuesta inmune específica, tanto en huéspedes sanos como en pacientes infectados por el VIH, no está totalmente establecida [1]. En el presente estudio, la respuesta serológica mostró la presencia de anticuerpos anti EBNA1 en 19 pacientes del grupo total, sugestivo de replicación viral activa, bien sea en etapas iniciales o pasadas de la infección; es importante resaltar que los anticuerpos IgM anti EBNA1 aparecen en la fase aguda de la infección por el VEB, más precozmente, con títulos más elevados y por un período de tiempo más prolongado que los IgM anti CVA, los cuales además, se caracterizan por su breve persistencia en sangre en pacientes menores de cuatro años de edad [2].

Un alto porcentaje de pacientes con infección pasada presentaron carga viral para el VEB en sangre periférica. En controles sanos las células T CD4+ específicas anti EBNA1 pueden organizar y mantener el control inmune específico contra el VEB y más aún, servir como efectoras contra células potencialmente malignas relacionadas con esta infección [12]. Heller y col [5], reportaron que el control inmune protector de las infecciones crónicas virales, como la del VEB, incluye un reservorio importante de linfocitos T CD4+ con respuestas tipo TH1, que contienen, adicionalmente a las células T ayudadoras para la activación de linfocitos T citotóxicos específicos efectoras, un porcentaje de células con fenotipo de memoria efectoras y con capacidad para producir rápidamente interferón en presencia de EBNA1. Por lo tanto, no es de extrañar que en niños portadores de alteraciones de los linfocitos T, ya sean congénitas o adquiridas, la infección por el VEB sea generalmente crónica activa, con altos niveles del virus en sangre periférica [15].

En los pacientes infectados con el VIH, las cargas virales de VEB son más altas que en los controles sanos, con promedios mayores de células circulantes infectadas por el virus, así como también una disminución de la frecuencia de células CD4+ y CD8+ de memoria específicas anti VEB, sobre todo en pacientes no tratados [16-20].

Sin embargo, en relación con este último punto, Bekker y col [21], al estudiar una población de niños y adolescentes infectados por el VIH y recibiendo tratamiento antirretroviral de amplio espectro (TARAE), demostraron que los linfocitos T CD8+ específicos contra antígenos del VEB, se encontraban en un porcentaje similar al de los controles sanos concluyendo que en estos pacientes probablemente exista una falla en el nivel de reactividad de las células T CD4+ específicas para el VEB. En esta investigación, las mayores cargas virales para el VEB se encontraron entre los pacientes con menor número de linfocitos T CD4+.

Autores como Fellner y col [22], señalaron que la carga viral del virus EB disminuye cuando los contajes de linfocitos CD4+ caen a menos de 50 por mm³. Legoff y col [28], en un estudio realizado en Francia, concluyeron que en pacientes infectados por el VIH las cargas virales para VEB eran significativamente superiores a los que presentaban contajes bajos de CD4+ bajos. Adicionalmente se ha descrito que el TARAE en pacientes VIH, que es seguido de un aumento de los linfocitos T CD4+, puede ocasionalmente asociarse con un incremento de las cargas virales para el VEB, pues la reconstitución inmune durante el tratamiento antirretroviral puede incrementar la estimulación de los linfocitos B y por ende el número de células B infectadas [23,24].

Kimura y col [25] publicaron recientemente que, en pacientes con enfermedad crónica activa por el VEB, los linfocitos T y las células asesinas naturales (NK por sus siglas en inglés) son infectados por el virus [8]. Si bien entre los pacientes aquí estudiados con menores porcentajes de linfocitos T CD4+, a pesar del TARAE, se encontraron las mayores cargas virales para el VEB, no es posible demostrar hasta qué punto la infección por dicho virus contribuye directamente con este descenso.

En portadores sanos, el VEB se reactiva periódicamente en el tejido linfoide asociado a las mucosas, por lo que el DNA viral puede ser detectado en sangre o tejidos, sin que necesariamente su presencia sea sinónimo de enfermedad relacionada con el virus. Debido a que los hallazgos serológicos pueden subestimar la frecuencia de reactivaciones asintomáticas del virus, se ha reportado que la detección de ADN del VEB en suero de pacientes

inmunosuprimidos puede ser usada como un marcador de laboratorio de enfermedad activa por el VEB [1,26,27]. En pacientes con VIH este virus se reconoce por su capacidad para producir severas complicaciones, frecuentemente malignas, debido a las fallas en la inmuno vigilancia específica del hospedero para el VEB [28]; sin embargo, en relación con este punto, es importante señalar que los valores absolutos de carga viral aparentemente tienen poco valor diagnóstico para definir el riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas con el VEB en pacientes VIH positivos: su valor pronóstico debe ser estudiado en estudios de cohortes por períodos de tiempo más prolongados antes de afirmar cualquier tipo de conclusión [20,29]. Ningún paciente para el momento de su inclusión en este trabajo tenía manifestaciones clínicas de enfermedad aguda órgano específico por el VEB, así como tampoco enfermedades malignas relacionadas con dicho virus. Por otra parte, aunque se ha reportado que en los huéspedes normales las cargas virales

del VEB son más altas en las infecciones agudas, en comparación a las infecciones pasadas, entre los pacientes aquí investigados no hubo diferencias significativas entre los casos agudos o crónicos activos, aunque se observó una tendencia a la disminución de las cargas cuando la infección avanzó en el tiempo [16].

Como se indicó anteriormente, en la mayoría de las publicaciones se reporta que la carga viral del VEB es más alta en pacientes infectados con el VIH que entre los controles sanos [17-19, 30]. Otros autores afirman que la carga viral para el VEB en pacientes HIV positivos al inicio de la TARAE es similar a la de pacientes HIV negativos infectados en forma aguda por el virus [1]; sin embargo, no se ha demostrado la existencia de una relación significativa entre los valores absolutos del ADN del VEB en sangre periférica y la del VIH, así como tampoco con su replicación ni con los estadios clínicos de la infección por este virus [15]. Estos resultados concuerdan con lo encontrado entre los pacientes estudiados, donde la carga del VEB en sangre periférica no se relacionó en forma significativa con la del VIH; por otra parte, se han descrito en pacientes infectados por el HIV fluctuaciones a lo largo del tiempo en la carga viral en células mononucleares de sangre periférica para el VEB, con variaciones individuales impredecibles, lo cual indicaría el poco valor predictivo de su cuantificación en la progresión de los pacientes hacia el SIDA [20,29]; tampoco se han encontrado diferencias de la carga viral del VEB en células mononucleares de sangre periférica entre los pacientes que reciben

TARAE y aquellos sin tratamiento, aunque aparentemente las altas cargas para el VEB inducen un retardo en la respuesta al tratamiento[17,31].

En conclusión, en los pacientes portadores del VIH, es fundamental realizar la cuantificación del VEB en sangre periférica, ya que la serología por sí sola no representa el estado de actividad de la infección por el VEB. Dado el alto porcentaje de pacientes con cargas virales para el VEB encontrado en esta investigación, se sugiere la realización del seguimiento de los mismos, para identificar hasta qué punto el sistema inmune es capaz de clarificar el virus

La leucemia/linfoma de células T del adulto fue descrita originalmente en 1977 en una serie de casos de 16 pacientes nativos de una isla japonesa llamada Kyushu. La enfermedad fue definida como una leucemia de células T maduras del adulto (1). Varios años después, algunas partículas de retrovirus de tipo C fueron detectadas y aisladas de pacientes con linfomas cutáneos de células T y se denominaron HTLV-1 (2). En 1982, el mismo virus se aisló en líneas celulares obtenidas de pacientes fallecidos por leucemia/linfoma de células T del adulto en Japón (7). Por otra parte, en 1985 en Japón, se describieron asociaciones entre HTLV-1 y una enfermedad neurológica conocida como paraparesia espástica tropical (TSP) y mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM) (8). Actualmente se sabe que estas dos enfermedades son mielopatías idénticas conocidas como HAM/TSP (9).

El HTLV es un virus oncogénico con un genoma compuesto por una cadena sencilla de ARN que es capaz de infectar linfocitos T y B, monocitos y células dendríticas y endoteliales. Sin embargo, la transformación maligna sólo se ha descrito en linfocitos T, originando la leucemia/linfoma de células T del adulto (10). A la fecha se han descrito cuatro tipos de HTLV (desde HTLV-1 hasta HTLV-4). Aunque HTLV-2 no ha sido asociado con ATLL, este virus se ha encontrado en casos aislados de ciertas condiciones neurológicas. Aunque el virus HTLV-2 no se ha asociado con esta leucemia, se ha encontrado en casos aislados de ciertas condiciones neurológicas. Los otros dos tipos, HTLV-3 y HTLV-4, fueron descritos en el 2005 y no se han asociado con ninguna enfermedad en los seres humanos (11). Se ha determinado que el HTLV-1 induce la transformación leucémica de los linfocitos T infectados mediante la activación de sus proteínas TAX y HBZ (cierre de leucina básico de HTLV-1, HTLV-1 basic-leucine zipper), las cuales en conjunto modulan actividades celulares tales como activación,

supervivencia y mutación (12). Las áreas del mundo con mayor prevalencia de infección por HTLV-1 son Japón, África, las islas caribeñas y Sur América (9). El virus se ha encontrado en todos los países latinoamericanos, con mayor prevalencia en Argentina, Brasil, Colombia y Perú. En Brasil se ha descrito una prevalencia de 0,41 %, con variaciones entre las diferentes áreas geográficas y socioeconómicas (13).

1.2 Justificación e importancia

El virus de Epstein-Barr (VEB) se ha demostrado implicado en la etiopatogenia de tumores como el carcinoma nasofaríngeo, el linfoma de Burkitt, y los linfomas B que aparecen en dos grupos de pacientes inmunodeprimidos: los pacientes trasplantados y los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Además, el VEB se ha detectado en varios grupos de linfomas T cutáneos en pacientes inmunocompetentes, aunque su implicación en estos casos no se encuentra aclarada. Sin embargo, no existen series procedentes de nuestro país que estudien la asociación del VEB y los linfomas, y dada la variabilidad geográfica en la prevalencia del virus nos pareció importante estudiar la presencia de material genético del VEB en un grupo de linfomas T cutáneos.

La mayoría de los casos de LB endémico se asocian al VEB. Sin embargo, en las áreas no endémicas sólo el 20% de los casos están asociados. Por lo tanto, el VEB no es un factor ni necesario ni suficiente para el desarrollo de este linfoma.

Las células neoplásicas del LB asociado al VEB sólo expresan EBNA1 y EBERs; es decir, expresan un patrón de latencia tipo I. El VEB en el LB es de carácter clonal. El mecanismo patogénico del VEB podría estar relacionado con la capacidad de EBNA1 para activar los genes RAG1 y RAG2, lo que aumentaría la posibilidad de producirse la translocación característica que activa el oncogen c-myc. La malaria, en los casos endémicos, sería un factor facilitador ya que al disminuir la actividad inmunosupresora de las células T, posibilita la expansión de clones de células B infectadas por el VEB.

En el 40-70% de los casos de EH clásica, las células HRS expresan EBERs. En la EH tipo predominio linfocítico sólo se detecta expresión de EBERs en el 0-20%. El VEB en los casos de EH asociada es de carácter clonal. Además de EBERs, en la EH las células neoplásicas expresan EBNA1 , LMP-1 y LMP-2; es decir, muestran un patrón de latencia tipo II. En la EH los linfocitos no neoplásicos no expresan LMP-1 y todas las células neoplásicas que expresan EBERs expresan LMP-1, lo que sugiere que el papel oncogénico del VEB estaría mediado por LMP-1, que es una proteína con conocida actividad oncogénica.

Se ha descrito que los casos de EH asociados a una cepa del VEB caracterizada por presentar una delección en el extremo carboxilo-terminal del oncogén LMP-1 son morfológicamente más agresivos. Los linfomas T/NK nasales se asocian estrechamente con el VEB. El hecho de que en este tipo de linfoproliferativos se detecte infección clonal y se observe expresión de LMP-1 en algunas células neoplásicas sugiere que el VEB pueda tener un papel patogénico.

El 40% de los linfomas T-periféricos contiene algunas células infectadas por el VEB, que expresan EBERs y algunas también LMP-1. Característicamente en estos linfomas sólo una pequeña proporción de las células neoplásicas está infectada por el virus. Dentro de este grupo de trastornos linfoproliferativos, es el linfoma- T tipo angioinmunoblástico el que se asocia al VEB con mayor frecuencia (50%).

Tanto los procesos linfoproliferativos asociados al trasplante de órganos como los linfomas que aparecen en la infección por el VIH están estrechamente relacionados con el VEB. En estos procesos, la gran mayoría de las células neoplásicas muestran señal positiva para EBERs y además expresan todos los EBNAs y LMP-1 es decir, presentan un patrón de latencia de tipo III.

La infección viral en la mayoría de los casos asociados al trasplante es de carácter policlonal mientras que en los asociados al SIDA suele ser de carácter clonal.

El hecho de que no en todos los linfomas asociados a inmunodeficiencia se detecte la presencia de VEB sugiere que este no es un factor necesario para el desarrollo de todas las neoplasias

linfoides que se desarrollan en estos pacientes. Sin embargo, parece que en los linfomas asociados al VEB que se desarrollan en este grupo de pacientes y que son la mayoría de los LNH de células grandes de los pacientes VIH seropositivos y todos los procesos linfoproliferativos asociados al trasplante de órganos, el VEB podría ser un único factor inductor del crecimiento, actuando en las primeras fases de la expansión celular. Posteriormente se producirían otras alteraciones moleculares que activarían oncogenes ó inactivarían genes supresores, las cuales serían responsables de la transformación maligna. Esto explicaría que se consiga de muchos trastornos linfoproliferativos post-trasplante asociados al VEB tras la retirada de la terapia inmunosupresora.

1.3 Planteamiento del problema

La leucemia/linfoma de células T del adulto es una enfermedad maligna linfoproliferativa agresiva de células T periféricas, con una corta supervivencia en su forma aguda y una incidencia menor de 5 % en personas infectadas con el HTLV-1 (4). Actualmente, esta enfermedad está bien reconocida por la Organización Mundial de la Salud y existe consenso diagnóstico sobre sus características morfológicas, inmunofenotipo y alteraciones genéticas (5). Se ha establecido la integración monoclonal del HTLV-1 y se han identificado dos proteínas involucradas en la progresión de la enfermedad (6).

La enfermedad fue definida como una leucemia de células T maduras del adulto (1). Varios años después, algunas partículas de retrovirus de tipo C fueron detectadas y aisladas de pacientes con linfomas cutáneos de células T y se denominaron HTLV-1 (2). En 1982, el mismo virus se aisló en líneas celulares obtenidas de pacientes fallecidos por leucemia/linfoma de células T del adulto en Japón (7). Por otra parte, en 1985 en Japón, se describieron asociaciones entre HTLV-1 y una enfermedad neurológica conocida como paraparesia espástica tropical (TSP) y mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM) (8). Actualmente se sabe que estas dos enfermedades son mielopatías idénticas conocidas como HAM/TSP (9).

El HTLV es un virus oncogénico con un genoma compuesto por una cadena sencilla de ARN que es capaz de infectar linfocitos T y B, monocitos y células dendríticas y endoteliales. Sin embargo, la transformación maligna sólo se ha descrito en linfocitos T, originando la

leucemia/linfoma de células T del adulto (10). A la fecha se han descrito cuatro tipos de HTLV (desde HTLV-1 hasta HTLV-4).

Las áreas del mundo con mayor prevalencia de infección por HTLV-1 son Japón, África, las islas caribeñas y Sur América (9). El virus se ha encontrado en todos los países latinoamericanos, con mayor prevalencia en Argentina, Brasil, Colombia y Perú. En Brasil se ha descrito una prevalencia de 0,41 %, con variaciones entre las diferentes áreas geográficas y socioeconómicas (13). En Colombia la presencia de HTLV-1/2 se demostró en tejidos incluidos en bloques de parafina de pacientes con linfomas no Hodgkin en Cali, una ciudad de la región del Pacífico, usando una técnica de amplificación por PCR (cinco de 75 casos); en el mismo estudio se encontró serología.

Leucemia/linfoma T del adulto positiva en 5,1 % de la población afrocolombiana de la localidad costera de Tumaco (14). En un estudio reciente en Bogotá, entre 8.913 donantes de sangre, se encontró una seroprevalencia de 0,07 % (15).

En general, estas neoplasias se desarrollan en aproximadamente el 5 % de todos los individuos infectados, con una latencia de cerca de 30 años desde la primoinfección viral. Esta enfermedad se ha descrito predominantemente en adultos mayores, con un promedio de 58 años, lo cual se relaciona con el mencionado largo periodo de latencia de la infección viral (4)

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GENERALES

Determinar la participación del VEB y el HTLV 1 en la patogénesis neoplasias linfoides a fin de determinar si la presencia del virus afecta su composición.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la frecuencia del VEB y el HTVL 1 en forma comparativa en pacientes con neoplasias linfoides.

Analizar cuantitativamente marcadores linfocitarios del microambiente tumoral para determinar si existen diferencias asociadas a la edad y/o a la presencia de VEB y el HTVL1

Describir las características clínicas, histológicas e inmunofenotípicas del linfoma y la sobrevida libre de eventos (SLE) en forma comparativa según su asociación con VEB, para determinar si la presencia del virus tiene algún impacto en la evolución clínica de esta enfermedad.

3.0 MARCO TEORICO DE REFERENCIAS

El Virus de Epstein Barr (VEB) es un herpes virus que infecta al huésped y persiste durante toda la vida del mismo. Se asocia con un espectro variado de desórdenes clínicos desde infecciones agudas y crónicas hasta neoplasias linfoides y epiteliales y se cree que contribuiría en la patogénesis de los mismos. La asociación del VEB con varias neoplasias linfoides es bastante contundente, indicando un rol etiopatogénico en su desarrollo. Sin embargo, dado que la infección por el VEB es prácticamente ubicua en adultos sanos, es difícil establecer su rol causal en la génesis de linfomas. La infección primaria generalmente es asintomática, aunque en adolescentes y adultos jóvenes frecuentemente se manifiesta con el síndrome de mononucleosis infecciosa. Luego del primer contacto, el huésped controla al virus a través de una respuesta T específica. Sin embargo, el VEB ha desarrollado estrategias que le permiten minimizar o eliminar su potencial patogénico para mantener la infección y la supervivencia del huésped en el cual persiste. Al desregular el crecimiento celular, favorece la aparición de alteraciones genéticas con la consiguiente transformación celular y desarrollo de linfomas.

La linfomagénesis es considerada un proceso complejo con múltiples pasos. Se reconocen cuatro mecanismos fundamentales:

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

Se han asociados tres tipos de virus al desarrollo de linfomas, dos pertenecientes a la familia Herpesviridae, el virus de Epstein–Barr (VEB) o Herpesvirus humano tipo 4 y el Herpesvirus humano tipo 8 (HVH-8), y un retrovirus, el Virus linfotrópico humano de células T–tipo 1 (HTLV-1)

VIRUS DE EPSTEIN-BARR:

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. En 1968 se determinó que era el agente etiológico de la Mononucleosis Infecciosa heterófila positiva. 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 [2]. El VEB pertenece a la familia de los γ herpesvirus. Como otros herpesvirus, el VEB es un virus con envoltura y contiene un núcleo ADN rodeado por una nucleocápside icosaédrica con 162 capsómeros, una proteína tegumentaria entre la nucleocápside y la envoltura y una envoltura externa con espículas glicoprotéicas. El VEB posee un genoma de ADN doble cadena de 184 kpb, que codifica más de 85 genes. El genoma viral está formado por una serie de terminales directos repetitivos en cada extremo y secuencias repetitivas internas que sirven para dividir al genoma en dominios cortos y largos de secuencia única que poseen la mayoría de la capacidad codificante [3].

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 [4]. 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) [5].

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. Estas diferencias están determinadas por las regiones codificadoras de los EBNAs [6].

PRODUCTOS GÉNICOS DEL VEB

Los productos génicos de VEB interactúan o exhiben homología con una amplia variedad de moléculas antiapoptóticas, citoquinas o señales de traducción que promueven la infección, immortalización y transformación celular por el VEB [7]. Después de la infección primaria el virus permanece transcripcionalmente activo, aunque de una forma restringida, y los genes que se expresan entonces son llamados “genes latentes”. Estos comprenden aproximadamente diez tipos de productos génicos que son expresados en diferentes perfiles de transcripción o patrones de latencia.

Los genes conocidos como “genes muy tempranos” (IE: immediate early genes) se expresan inmediatamente durante la fase lítica y codifican para factores de transcripción. Los genes cuya activación no se afecta por la síntesis viral, incluyen las enzimas del metabolismo de los nucleótidos del huésped y la síntesis de ADN y se denominan “genes tempranos”.

Los genes cuya expresión genera nuevos templados genómicos lineales, y que se bloquean por la inhibición de la síntesis de ADN viral lineal en fase lítica, son llamados “genes tardíos” e incluyen a la mayoría de las proteínas virales estructurales, y también a las no estructurales como las de la interleukina 10 viral (IL10v; BCRF1). También pertenecen al grupo tardío los genes que codifican para la glicoproteína 110 (BARFF 4) y la glicoproteína 350 (BLLF 1).

Debido a que la mayoría de los síndromes ligados al VEB se asocian con la latencia viral, las funciones de los genes latentes se han estudiado más exhaustivamente [2].

GENES LATENTES:

El grupo de genes latentes incluye:

1. ARNs codificados por el VEB (EBERs)
2. Antígenos nucleares del VEB (EBNAs)
3. Proteínas latentes de membrana (LMPs)

ARNs codificados por el VEB (EBERs: VEB-encoded RNAs):

Los EBERs 1 y 2 son pequeños ARNs no poliadenilados que están presentes en un número estimado de 105 a 106 copias por célula [8]. Son ARNs no codificantes, de 167 y 172 nucleótidos respectivamente. Ambos se expresan en todas las formas de latencia [9].

Tienen una estructura secundaria que presenta un extenso apareamiento de bases intramoleculares con gran homología a los ARN de transferencia [6]. Se unen a la proteinkinasa (PK) activada del ARN de doble cadena inducida por interferón (IFN) inhibiéndola [10]. 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 [8]. También se ha sugerido que EBER 1 y 2 tendrían un rol en el splicing de otros transcriptos virales como EBNAs y LMPs, previniendo la apoptosis y estimulando la producción de interleukina (IL) 102, sin embargo, el rol de los EBERs en la transformación celular por el VEB es aún incierta [7].

Antígenos nucleares del VEB (EBNAs):

EBNA 1: Es una fosfoproteína de unión al ADN de secuencia específica, necesaria para la replicación y el mantenimiento del genoma del VEB [11]. También tendría un rol central en el mantenimiento de la infección latente por el VEB [7]. Está formada por un dominio amino terminal, un segmento de secuencia Gly-Ala (glicina-alanina) repetidas, de longitud variable, otro dominio básico corto que incluye una secuencia de localización nuclear y un largo segmento carboxi-terminal hidrofóbico de unión al ADN y actividad de dimerización [12].

El dímero de EBNA 1 se une al ADN mediante la interacción de una secuencia repetida, que está presente en tres sitios del genoma [2]. Luego de la unión de EBNA-1 al origen de replicación plásmica (Ori P), el VEB utiliza la maquinaria enzimática de la célula huésped para completar la replicación [13]. El EBNA 1 cuando se une al Ori P del VEB episomal, se asocia también a los cromosomas de la célula huésped durante la mitosis [14]. 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 [8].

Se cree que EBNA 1 es la única proteína que se expresa en todas las células con infección latente [15], pero lo hace en distintos niveles de transcritos dependiendo del tipo de célula huésped y de su estado de activación. Esto está determinado por la acción de cuatro tipos de promotores (promotor C, F, Q y W). En los tipos de latencia donde EBNA1 es el único EBNA expresado (tipo I y II), la transcripción es iniciada desde un promotor ubicado en Bam H1Q (promotor Q: Qp). Qp es considerado el verdadero promotor para la transcripción del EBNA latente [16].

A esta proteína se le ha adjudicado un rol oncogénico potencial. Los ratones transgénicos con el promotor de cadenas pesadas de inmunoglobulinas bajo el control de EBNA, desarrollan linfomas [12]. 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 [2].

EBNA2: Es la primera proteína viral que se expresa luego de la infección por el VEB de las células B in vitro, y es esencial para la transformación celular [8]. EBNA-2 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 [17]. Las funciones del EBNA 2 están mediadas por su interacción con el factor de transcripción RBPJK (ribonucleotide binding protein), imitando las señales de activación vía Notch y llevando a las células de G0 a G1. El EBNA 2 se une al CBF1/RBP- JK (core binding factor 1/ribonucleotide binding protein) y desplaza de manera competitiva a un represor transcripcional (que incluye a la histona desacetilasa) permitiendo de esta forma la activación de la transcripción de genes virales [14]. Estos genes incluyen, marcadores de activación de células B, CD23 y CD21, los proto oncogenes c-fgr y c-myc [18].

EBNA-LP (EBNA5): Es una de las primeras proteínas virales producidas durante la infección de las células B por el VEB [19]. EBNA-LP es esencial para la transformación ya sea directa

o indirectamente vía EBNA 2, estimulando la expresión de factores del huésped necesarios para el crecimiento de las células B [6]. 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 retino-blastoma [20]. EBNA-LP se une a la p53, proteína Rb (retinoblastoma) y a proteinkinasa C (PKs C HA 95celular y HAX1), las cuales regulan la transcripción por vías específicas de fosforilación que simulan las vías de activación del receptor de células B (BCR). Este es un paso importante en los estadios tempranos de la transformación mediados por VEB [2].

EBNA 3: EBNA 3A (EBNA [3]), 3B (EBNA [4]), 3C(EBNA [6]): EBNA 3A, 3B y 3C son reguladores transcripcionales. EBNA 3 A parecería ser importante para iniciar el proceso de immortalización. Se ha demostrado que EBNA 3B no es fundamental para la transformación y crecimiento de las células B, y que EBNA 3C sería absolutamente esencial dado que virus recombinantes EBNA 3C negativos no pueden immortalizar células B [21]. EBNA 3C puede aumentar la producción de LMP 1 el cual facilitaría la transformación y crecimiento celular e inhibiría la apoptosis [22]. EBNA 3B se correlaciona *in vitro* con el aumento en la expresión de CD 40 y la disminución en la expresión de CD 77. EBNA 3 A y C regulan la expresión de ciertos genes celulares y se unen a una variedad de proteínas del huésped, incluyendo distintas isoformas del factor de transcripción RBP-JK, modulando el aumento en la expresión de promotores virales y celulares comandados por EBNA [22]. EBNA 3 C aumenta la expresión de CD 21 *in vitro* y aumenta la expresión de LMP1 dirigida por EBNA [21].

Proteínas latentes de membrana (LMPs)

LMP 1: Es una proteína integral de membrana con 6 segmentos hidrofóbicos y un tallo citoplasmático (extremo carboxi-terminal) que contiene la función efectora [23] y presenta características similares al CD 40, un receptor de activación de las células B [12]. Está involucrada en la transformación celular dado que actúa como un receptor CD40 constitutivamente activado y mimetiza la señal de crecimiento celular que normalmente resulta de la unión con el CD40 ligando [24]. LMP1 mimetiza la función del CD40 por asociación con los factores asociados al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAFs) [25]. Su tallo citoplasmático interactúa con los TRAFs y con los TRADDs (dominios de muerte asociadas

al receptor del factor de necrosis tumoral) permitiendo la activación del NF- κ B (factor nuclear κ B) y la kinasa amino-terminal del c-jun (JNC), una cascada de kinasas activadas por citoquinas inflamatorias [26]. La interacción con TRAF 1 y 3 permite la activación de NF- κ B 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 [27]. También induce el aumento de las señales a través de la vía JAK-STAT por medio de la unión a la kinasa JAK 3 y vía de las MAP kinasas, la cual tiene como mediador al TRAF [22]. LMP1 tiene distintos efectos sobre la síntesis de citoquinas que podrían afectar la angiogénesis y la respuesta inflamatoria a nivel de las células tumorales in vivo, contribuyendo al crecimiento tumoral y la evasión de la respuesta inmune [28]. 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 la p53 [29].
- Aumenta la expresión de IL 10, la cual estimula la proliferación de las células B e inhibe la respuesta inmune local [2].
- In vitro la expresión de LMP1 se asocia con la transformación de líneas celulares de fibroblastos murinos [14].
- LMP1 es un oncogén que estimula la génesis de tumores in vitro. Los ratones transgénicos que expresan LMP 1 bajo el control de los elementos reguladores del promotor de los genes de las cadenas pesadas de inmunoglobulinas, desarrollan linfomas B [26].

LMP 2 A y B: Son proteínas integrales de membrana que difieren en su dominio amino-terminal [9]. LMP 2 A y B, sólo se transcriben una vez que el episoma viral ha sido formado [2]. LMP 2 A tiene motivos de activación del inmunoreceptor de tirosina (ITAMS) en su dominio citoplasmático [30]. Estos motivos ITAMS están presentes en los co receptores del BCR, CD79a y CD79b, y transmiten señales luego de la activación del BCR [18]. LMP 2A se une y secuestra tirosinkinasa del BCR, originando inhibición de las señales transmitidas a través de este receptor. Esto previene la activación gatillada por el antígeno del VEB lo que podría 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 de esta forma, la apoptosis de las células B que carecen de inmunoglobulina de superficie [14]

INFECCIÓN PRIMARIA Y TRANSFORMACIÓN DE LA CÉLULA B

El VEB es transmitido por contacto salival. Durante la infección aguda el VEB inicialmente infecta, y replica en el epitelio escamoso estratificado de la orofaringe [31] mientras que la infección de los linfocitos B ocurre en el tejido linfoide de la orofaringe [32]. La infección del linfocito B está mediada por la interacción de la Glicoproteína 350/220 viral con el CD21 (CR2), receptor fisiológico del factor C3d del complemento [33]. Luego de la unión, la envoltura viral se fusiona con la membrana de la célula infectada y la nucleocápside es transportada hasta el límite nuclear, liberando el ADN viral dentro del núcleo, permitiendo la transcripción inicial de EBNA-2 y EBNA-LP ambos esenciales para el crecimiento y transformación de la célula B [34]. La actividad de EBNA-2 y EBNA-LP es modulada por la subsiguiente expresión de EBNA-3A-C. El segundo evento importante es la disposición del genoma viral en estado episomal a través de los segmentos terminales repetitivos, para lo cual el virus utiliza la maquinaria de reparación del ADN de la célula huésped. Luego de la recircularización del genoma, se expresa, el espectro completo de proteínas latentes [35]. Este proceso que permite el crecimiento y transformación de la célula huésped incluye la transcripción de los ARNm policistrónicos, codificados en EBNA-1 junto con uno o más de los otros EBNA, y la transcripción de LMP-1, el mayor oncogén del VEB. El evento final es la expresión única de EBNA-1 necesario para mantener al genoma en estado episomal [2].

Genoma del Epstein Barr

La infección primaria con el VEB frecuentemente ocurre en los primeros años de vida en los países sub desarrollados y es generalmente asintomática. En las áreas más desarrolladas, la infección primaria puede postergarse hasta la adolescencia tardía o adultez temprana y origina

mononucleosis infecciosa [4]. Según Thorley Lawson y col, el VEB utiliza cinco programas de transcripción para establecer y mantener la infección:

1. Programa de crecimiento: incluye la expresión de todos los genes latentes, EBNA-1 a 6, LMP-1, LMP-2 A y LMP-2 B.
2. Programa de default: determina la expresión de EBNA-1, LMP-1 y LMP-2 A
3. Programa de latencia: no se expresan genes virales.
4. Programa EBNA-1: donde EBNA-1 es el único gen viral expresado.
5. Programa lítico: expresión de todos los genes líticos [36].

Cesarman y col. denominan a los programas de transcripción como patrones de latencia e incluyen al patrón de latencia tipo I donde EBNA-1 es el único gen viral expresado, el patrón de latencia tipo II (equivalente al programa de default) y el patrón de latencia tipo III (similar al programa de crecimiento). (Estas nomenclaturas serán utilizadas de forma indistinta) [26].

LATENCIA Y PERSISTENCIA

Cómo otros herpes virus el VEB persiste durante toda la vida del huésped. Las células B de memoria son el reservorio para el virus latente. El VEB cuando ingresa al organismo infecta predominantemente a las células B naive subepiteliales de la orofaringe, para convertirlas en blastos B proliferantes a través del programa de crecimiento, pero estas células son rápidamente eliminadas por la respuesta T del huésped, dirigida contra los genes virales líticos durante la infección primaria temprana. La respuesta T fulminante contra estas células recién transformadas por el VEB es la base del síndrome de mononucleosis infecciosa en adolescentes y adultos jóvenes. El crecimiento de las células B transformadas por el VEB se mantiene bajo el control de una respuesta alerta y persistente contra los productos virales. Una parte de los linfoblastos infectados proliferan y se diferencian a través de una reacción tipo centro germinal y luego ingresan al pool de células B periféricas, como células B de memoria en reposo [2].

Se piensa que el virus podría transformar a las células B naive infectadas en células de memoria, cambiando a la célula desde su programa de crecimiento al programa de default, el cual comprende la expresión de tres proteínas latentes, dos de las cuales LMP-1 y LMP-2 son capaces de producir las señales del centro germinal que determinan que los blastos B con infección latente, formen centros germinales y realicen la transición al compartimiento de memoria [37]. La expansión clonal que se produce en el centro germinal aumenta el tamaño del pool de células B infectadas por VEB. Estas células B del centro germinal se diferenciarán a células B de memoria, las cuales serían el reservorio a largo plazo del VEB.

Dado que las células B de memoria se encuentran en reposo y tienen larga sobrevivencia el virus puede persistir en ellas por largos períodos sin necesidad de expresar genes virales [8]. Las células de memoria con infección latente disminuyen la expresión de proteínas virales, entran al programa de latencia y circulan entre la sangre y el anillo de Waldeyer [26].

Cuando las células de memoria con infección latente se dividen expresan solo EBNA-1 y permiten la replicación del ADN viral. En este caso la división celular no es regulada por el virus (porque ninguna de las proteínas de crecimiento está presentes), sino por la célula como parte de los mecanismos de homeostasis normal de la célula B de memoria [36]. Si las células de memoria son activadas y se diferencian a células plasmáticas, el VEB, puede ingresar al ciclo lítico y producir nuevas partículas virales, algunas de las cuales podrán infectar nuevas células B naive regenerando de esta forma el pool de células infectadas [37].

Las células B infectadas pueden escapar de la respuesta T porque la expresión de proteínas inmunogénicas como EBNA-3 A, 3 B y 3 C, es silenciada una vez que se produce la infección latente. Debido a que EBNA-1 es indispensable para mantener el genoma viral en la célula huésped en división, su transcripción es continua y es iniciada desde un promotor autorregulado. A pesar de que EBNA-1 es una proteína extraña para el huésped, las células infectadas que expresan EBNA-1 no son reconocidas por la respuesta T debido al efecto inhibitorio de una proteína Gly-Ala repetida, en el procesamiento proteosomal y la subsiguiente presentación restringida por las moléculas de histocompatibilidad [12].

VIRUS LINFOTROPICOS T HUMANOS (HTLVs)

Durante la década de los '70 se describió por primera vez la existencia de la enzima transcriptasa reversa, la cual tiene un mecanismo de acción diferente a las polimerasas celulares siendo capaz de sintetizar ácido desoxiribonucleico (ADN) a partir de ácido ribonucleico (ARN) [1]. Desde entonces, se comenzó a investigar la presencia de retrovirus en humanos, búsqueda que culminó en 1980 con el primer aislamiento del HTLV-1 a partir de un paciente norteamericano de raza negra que padecía un linfoma cutáneo T [2]. El descubrimiento de la interleuquina-2 (IL-2) fue fundamental para este hallazgo ya que su empleo permitió mantener linfocitos humanos en cultivo y establecer líneas celulares humanas [3]. Posteriormente, en 1982 se descubrió el HTLV-2, segundo retrovirus humano, aislado a partir de un paciente norteamericano que padecía una leucemia T atípica a tricoleucocitos [4].

La clasificación actual de los retrovirus se basa en el análisis de la estructura genómica y en las homologías de las secuencias nucleotídicas de los mismos, hallándose así varios géneros formando parte de la familia Retroviridae. El HTLV se encuentra dentro del género Deltaretrovirus, que agrupa los virus exógenos que se caracterizan por la presencia de dos genes reguladores (tax y rex) que codifican para proteínas no estructurales importantes en la expresión del genoma y por carecer de oncogenes reconocidos pese a ser virus transformantes [5]. Los virus linfotrópicos, que infectan células T en el hombre (HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 y HTLV-4), son retrovirus que exhiben características comunes a los demás integrantes de la familia Retroviridae, tales como llevar la información genética bajo la forma de ARN; poseer un genoma diploide organizado en tres genes estructurales principales (gag-pol-env) y dos regiones de secuencias repetitivas terminales largas idénticas (LTR), orientadas de la misma manera, en los extremos 5' y 3' y poseer la enzima transcriptasa reversa.

Clasificación

Los virus linfotrópicos T de primates (PTLVs) comprenden a los virus linfotrópicos T humanos (HTLV) y a sus homólogos simianos, los virus linfotrópicos T simianos (STLV). El HTLV-1 y el STLV-1 pertenecen al grupo denominado PTLV-1. El STLV-1 es endémico en

numerosas especies de simios y monos que habitan tanto África como Asia. El alto grado de homología entre el HTLV-1 y el STLV-1, permitió hipotetizar el surgimiento del HTLV-1 a través de eventos de transmisión interespecie. Dentro del grupo PTLV-2, compuesto por HTLV-2 y STLV-2, contrariamente a lo ocurrido en los PTLV-1, no se ha encontrado un homólogo humano cercano a las dos cepas descubiertas en chimpancés y bonobos africanos, lo que sugiere que la transmisión interespecie que ha resultado en la presencia del HTLV-2 actual, ha ocurrido en un pasado distante. Los virus STLV-3 divergen considerablemente tanto del HTLV-1 como del HTLV-2. Estos retrovirus son endémicos en numerosas especies de monos que habitan el este, centro y oeste de África. Recientemente, dos laboratorios independientemente han informado el descubrimiento de su homólogo humano, el HTLV-3 en 2 habitantes del sur de Camerún. Junto con el STLV-3, estos dos retrovirus pertenecen al grupo PTLV-3. Además, dentro del grupo PTLV-4, existe un cuarto tipo viral humano, el HTLV-4, que ha sido descubierto en la misma área geográfica que el HTLV-3 y cuyo homólogo simiano aún no ha sido descrito [6,7]. En la figura 1 se muestran las relaciones filogenéticas de los distintos PTLVs en base al análisis de la secuencia del gen que codifica para la porción del LTR.

Estructura de la partícula viral

El virión de los HTLVs es una partícula esférica de 80 a 110nm de diámetro, aproximadamente. Está formado por una nucleocápside icosaédrica protegida por una envoltura lipídica adquirida durante la brotación a partir de la membrana celular, la cual ha incorporado lípidos y proteínas de origen celular, entre ellas, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. En cuanto al componente proteico de origen viral, está representado por un multímero de dos proteínas que son el producto del gen env, las glicoproteínas gp46 externa y la gp21 de transmembrana. La primera es la que se adsorbe al receptor celular y tiene capacidad de producir la síntesis de anticuerpos neutralizantes en el huésped infectado. La segunda, mantiene al complejo gp21-gp46 en la superficie del virión, y participaría en el proceso de fusión. Por dentro de la envoltura lipídica se encuentra la cápside externa, un poliedro de 60 caras triangulares, constituida por la proteína p19. Dicha

proteína está miristilada en su extremo N terminal, lo que permite su anclaje al nivel de la membrana plasmática. Esta cápside contiene al core o núcleo interno viral, que se encuentra formado por una segunda cápside de proteína, p24, con propiedades hidrófobas. Ambas proteínas, la p19 y la p24, son productos del gen gag.

El core encierra el genoma a ARN junto con varias enzimas codificadas por el gen pol que son fundamentales para completar el ciclo viral. Entre ellas están la transcriptasa reversa con su actividad ADN polimerasa-ARN dependiente-ribonucleasa H, cuya función es generar un ADN complementario (ADNc) y desintegrar la cadena de ARN; la integrasa, cuya función es permitir la unión covalente del virus al ADN celular; y la proteasa con función proteolítica, necesaria para clivar las proteínas producto de los genes. El genoma viral consiste en dos moléculas idénticas de ARN monocatenario unidas a la vez a una proteína básica, la nucleoproteína p15, que es también codificada por el gen gag [9].

Estructura genómica

El genoma de los HTLVs es de alrededor de 10kb de longitud, formado por moléculas de ARN modificadas según forma reminiscente de los ARN mensajeros celulares, incluyendo capsulamiento en el extremo 5' y poliadenilación en el extremo 3'. Como en todos los retrovirus, el genoma de los PTLVs presenta 3 genes estructurales codificadores de las proteínas virales de envoltura (env), cápside (gag) y polimerasas (pol), genes reguladores de la replicación viral y secuencias LTR en cada extremo. El orden de los genes codificantes de proteínas estructurales es invariable: 5'gag-pol-env 3'. A diferencia de otros retrovirus más simples, los PTLVs poseen una región en su extremo 3' denominada pX, con varios marcos de lectura abiertos (ORFs por opening reading frame) conteniendo genes que codifican proteínas no estructurales, importantes para la regulación de la transcripción y replicación viral [10]

En cuanto a los genes estructurales, gag codifica una poliproteína precursora de 53kd (p53), la cual es clivada por la proteasa viral en tres proteínas. Ellas son (según orden de traducción) la proteína de la matriz (p19), la de la cápside (p24), y la nucleoproteína (p15). La p24 es la que

presenta mayor porcentaje de identidad (entre 85 y 91.6%) en su secuencia aminoacídica entre el HTLV-1, 2, 3 y 4; y es por lo tanto inmunológicamente responsable de la reactividad cruzada para los antígenos p24 que se observa en estos virus [11]. El gen pro, que codifica la proteasa, se encuentra superpuesto a los genes gag y pol, corresponde a un ORF de 703 nucleótidos que codifica la proteasa (14kd), que se genera por autoclivado. El gen pol codifica para la enzima transcriptasa reversa en el extremo amino-terminal y para la integrasa en el extremo carboxilo-terminal, ambas implicadas en la síntesis e integración del virus en el genoma del huésped en forma de provirus [12]. Si bien no se conoce la estructura y conformación natural de la transcriptasa reversa de los HTLV, se sabe que la enzima no posee una actividad correctora (“proofreading”), existiendo la posibilidad de introducir errores en cada ciclo replicativo, y con ello, generar variabilidad genómica. El gen env codifica para una proteína precursora (gp61) de la envoltura, la que después de su digestión enzimática y glicosilación origina dos glicoproteínas, una de superficie (gp46) y una de transmembrana (gp21). Los genes reguladores, codifican para proteínas de regulación de la transcripción del ARN (p40Tax, p27Rex, p21Rex), las que probablemente desempeñen un papel en el establecimiento de la infección latente. Esta región (pX), posee cuatro ORFs:

el ORF-I codifica para la proteína p12I probablemente implicada en la transformación celular y que se uniría a las cadenas b y g del receptor de la IL-2 interfiriendo en su transporte hacia la superficie celular; el ORF-II lo hace para las proteínas p13II y p30II; el ORF-III para p27rex (o Rex) y p21rex (molécula truncada de Rex) y el ORF-IV para p40tax (o Tax). El gen tax codifica para una fosfoproteína de 40kd en el HTLV-1 (p40Tax) y de 37kd en el HTLV-2 (p37Tax), que permite la iniciación de la transcripción viral actuando en forma trans sobre el promotor viral TRE (Tax Responsive Element) y sobre promotores de algunos genes celulares [13]. No actúa directamente sobre el ADN viral o celular sino a través de intermediarios, tales como factores celulares de transcripción, entre ellos el NF- κ B que actúa a nivel de promotores inducibles de citoquinas [14]. Tax es también transactivadora de promotores de genes celulares que codifican para proteínas implicadas en la activación, división y proliferación de células huéspedes, tales como la interleuquina 2 (IL-2), la cadena a del receptor de la IL-2 (IL2-R), la vimentina, el factor estimulante de colonia de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el proto-oncogen c-fos y el factor de necrosis tumoral (TNF). Esta función transactivadora de la proteína Tax constituye uno de los primeros factores virales de la leucogénesis. Además, se

creo que Tax inhibe la expresión de la enzima polimerasa β , interviniendo en los procesos de reparación del ADN, y con ello perturbando la transcripción del ADN celular [15]. El gen rex se encuentra en el ORF III de la región pX y codifica para una proteína de 27kDa (p27Rex), que actúa de manera post-transcripcional, regulando la expresión de genes virales. Disminuye tanto su propia expresión como la de la proteína Tax al actuar directamente sobre la secuencia RRE (Rex Responsive Element) situada en el extremo 3' del LTR. La p27Rex, de igual modo que rev en el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1), induce el pasaje de ARNs no clivados hacia el citoplasma e inhibe la expresión de los ARNs doblemente clivados, favoreciendo así la síntesis de proteínas virales estructurales [16]. El extremo carboxilo-terminal de rex codifica a una proteína de 21 kDa (p21Rex) aunque hasta el momento no se ha llegado a atribuirle función alguna. Los LTRs se encuentran en cada extremo del genoma proviral, y son regiones no codificables que se dividen en U3, R y U5, siendo característicamente largas en el HTLV-1 (777pb para la cepa de referencia ATK-1) en comparación con otros retrovirus. Estos LTRs representan un elemento regulador esencial de la replicación viral ya que permiten la integración al genoma celular y contienen sitios de fijación para la ARN polimerasa. En cuanto a la región U3, posee la señal de poliadenilación, la caja TATA y tres repeticiones de una secuencia de 21pb llamadas TRE que corresponden a sitios de fijación para numerosos factores de transcripción de origen celular y de proteínas virales, implicadas además en el control del nivel de transcripción del ARN viral mediado por Tax. A su vez, la región R contiene el sitio de iniciación de la transcripción, el sitio de poliadenilación y la mayor parte de la secuencia implicada en la formación de la estructura RRE [10]

Replicación viral

El ciclo de replicación de los HTLVs, como en otros virus, puede dividirse en las siguientes etapas: adsorción, penetración de la nucleocápside, liberación del genoma, inserción del genoma, transcripción y producción de proteínas y genoma, ensamblaje, brotación y maduración.

La primera etapa del ciclo de multiplicación viral, la adsorción, ocurre a través de receptores de superficie celular que reconocen a las glicoproteínas de la envoltura viral, principalmente la gp46. En el año 2003 se propuso al transportador 1 de la glucosa (GLUT-1) como receptor del HTLV-1/2, el cual se halla expresado en todas las superficies celulares de los vertebrados [17-21].

Hallazgos más recientes sugieren que el ingreso del HTLV-1 a la célula se haya mediado por la formación de un complejo ternario sobre la superficie celular formado por las proteínas de envoltura del virus, GLUT-1, proteoglicanos de heparán sulfato (HSPGs) y neuropilina-1 (NRP-1) [22]. Por su parte, el HTLV-3 se une eficientemente tanto a células CD4+ como CD8+.

Luego del reconocimiento de las glicoproteínas de envoltura, la envoltura viral se fusiona con la membrana plasmática, lo que posibilita el ingreso de la nucleocápside al citoplasma. Ya en el citoplasma, por decapsidación, se libera el ARN viral. Este ARN genómico es copiado en una cadena simple de ADN por acción de la transcriptasa reversa viral dando lugar a un híbrido de poca estabilidad. El ARN es degradado por la ARNasa H, y a partir del ADN monocatenario se forma ADN doble cadena, el que es transportado al núcleo donde se integra al genoma celular por acción de la integrasa viral. El ADN viral integrado o provirus está ya en condiciones de ser transcrito a ARN genómico, aunque puede permanecer como tal tanto tiempo como la célula sea viable. Cabe señalar que los HTLVs no se integran en ningún locus específico sino que su integración es totalmente al azar [23,24].

La transcripción del provirus genera tres moléculas diferentes de ARNm. La de mayor tamaño, también llamado ARN genómico, puede ser utilizado para ser encapsidado dentro de las nuevas partículas virales o bien puede ser traducido para producir un precursor (p55) de los genes gag y pol que luego de ser procesado produce tres proteínas: p19 (matriz), p24 (cápside) y p15 (nucleoproteína) [25]. Además, a partir de ese mismo ARNm es traducida la proteasa y la transcriptasa reversa. El segundo ARNm codifica el gen env del cual deriva un precursor de 61-69Kd, dependiendo el grado de glicosilación.

Este precursor luego es procesado en dos productos finales: gp46 (superficie) y gd 21 (transmembrana) [25]. Por último, un tercer ARNm codifica las proteínas de la región pX: p40Tax, p27Rex y p21Rex [25].

El ensamblaje de las proteínas y los ARNs genómicos tiene lugar en la proximidad de la membrana plasmática, donde previamente se han insertado las proteínas de envoltura ya glicosiladas. Esto posibilita que durante la brotación la progenie viral adquiera su envoltura con lípidos y proteínas pertenecientes a la célula huésped, entre ellas, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Después de integrado como provirus al genoma celular, los HTLVs también pueden multiplicarse por expansión clonal de la célula huésped durante la división celular, siendo éste el mecanismo principal de replicación de éstos virus [24]. A diferencia del HIV-1 que posee una variabilidad genómica importante, los PTLVs son relativamente estables. Esta escasa variabilidad genética se debe principalmente a la ausencia o baja frecuencia de ciclos replicativos durante la infección persistente. Durante esta etapa, la única manera que tiene el virus de multiplicarse es mediante la expansión clonal de las células que hospedan al virus [26]. Esta baja variabilidad ha sido utilizada como herramienta molecular para una mejor comprensión del origen, evolución, y diseminación de estos retrovirus.

Vías de transmisión

El HTLV-1/2 se transmite de madre a hijo (TMH), por contacto sexual, por vía parenteral y por trasplante de órganos [27]. Debido a que el HTLV-1/2 se disemina en el organismo por expansión clonal de las células infectadas y sinapsis viral, raramente se encuentra virus libre en plasma. Es así, como la forma que presenta mayor infectividad es la del virus asociado a células. Transmisión Madre a Hijo (TMH): estudios epidemiológicos realizados en Japón demostraron que en áreas endémicas para el HTLV-1, la transmisión madre-hijo ocurre principalmente por leche materna [28]. Hino y colaboradores establecieron que se infectan alrededor del 25% de niños de madres seropositivas que amamantan por más de 12 meses, mientras que sólo se infecta por vía transplacentaria o perinatal un 2-5% de los niños que no fueron amamantados [29]. En todos los casos, la seroconversión de los niños ocurre entre los

18 y 24 meses de edad [29]. También se han reportado casos de transmisión vertical del HTLV-2 en comunidades originarias de África y América del Sur [28,30,31]. En consecuencia, la lactancia del niño a partir de una madre HTLV-1/2 seropositiva es un factor de alto riesgo para la transmisión vertical y el riesgo aumenta en función de la prolongación de la lactancia especialmente si es superior a los 6 meses [32,33].

Transmisión sexual: el HTLV-1 se encuentra en fluidos como el semen o secreciones vaginales. La transmisión sexual es más eficiente de hombre a mujer y de hombre a hombre, que de mujer a hombre [34]. Se estima que la posibilidad de transmisión hombre-mujer en una pareja estable al menos por 10 años, es de 60,8%, mientras que a la inversa esta probabilidad se reduce al 0,4% [35]. En un estudio realizado en los EEUU, se observó que aproximadamente 25 a 30% de las parejas sexuales de donantes de sangre HTLV-1/2 seropositivos sin otro antecedente de riesgo, también estaban infectados [36]. Otro factor coadyuvante a tener en cuenta que facilita la infección y la transmisión es la presencia de enfermedades de transmisión sexual, tanto para hombres como para mujeres [37,38]. Por otra parte, el nivel de anticuerpos anti-Tax de la persona infectada y la carga proviral estarían también correlacionadas con el riesgo de transmisión [36,39]. En cuanto a la donación de semen, estudios realizados in vitro demostraron la capacidad del fluido seminal de transmitir el HTLV-1 [40]. Pero hasta el momento no hay reportes que indiquen infección directa de espermatozoides. Es así, como la transmisión sexual se llevaría a cabo por los linfocitos infectados presentes en el fluido seminal.

Transmisión parenteral: ocurre por transfusión sanguínea o intercambio de agujas y jeringas entre usuarios de drogas inyectables (UDIs). La transmisión parenteral ocurre con mayor eficiencia si se transfunden componentes celulares (eritrocitos, linfocitos, plaquetas) o sangre entera. En un estudio retrospectivo en Japón se demostró que el 63,4% de los receptores de sangre entera o de productos sanguíneos conteniendo células de donantes HTLV-1 seropositivos, desarrollaba anticuerpos anti-HTLV-1 consecutivamente a la transfusión [41,42]. También para el HTLV-2, se ha reportado infección luego de transfusiones de productos sanguíneos celulares contaminados [43].

Transmisión por trasplante: Estudios realizados en Estados Unidos, han observado que si bien las prevalencias de infección por HTLV son más bajas en donantes de tejidos que en la población en general existe el riesgo de adquirir la infección a partir de trasplante de órganos. Además, algunos autores sugieren incluir técnicas moleculares con el fin de reducir el riesgo de infección para el receptor. Hay reportes sobre receptores de órganos tales como médula ósea, hígado y riñón, con serología negativa previa al trasplante, que se convirtieron luego de recibir el órgano desarrollando la mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) y leucemia a células T del adulto (ATL) [44-47].

VIRUS LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 1 (HTLV-1)

Características generales

El HTLV-1, primer oncoretrovirus humano descrito, fue aislado por dos grupos de investigadores en forma independiente. En 1980 Poiesz y colaboradores recuperaron al HTLV-1 de una línea celular de linfoblastos, la HUT 102, establecida a partir de una biopsia ganglionar de un paciente de raza negra de Estados Unidos que padecía un linfoma cutáneo T [2]. Este aislamiento fue denominado HTLV por virus linfotrópico T humano. En 1981 Yoshida y colaboradores lograron otro aislamiento en Japón a partir de una línea celular, la MT1, que fuera establecida con células de sangre periférica de un paciente con una peculiar leucemia T llamada leucemia a células T del adulto (ATL) [48]. Este virus, entonces llamado ATLTV por virus de la leucemia a células T del adulto, era similar al virus linfotrópico T humano previamente descrito y pasó luego a ser denominado HTLV-1 [49]. En 1983, Seiki logró la secuencia completa del virus aislado del paciente japonés, la que fue identificada como HTLVATK-1, constituyendo la primera secuencia de referencia para este retrovirus [50].

Epidemiología

El HTLV-1 se encuentra diseminado en gran parte del mundo afectando aproximadamente entre 15 y 25 millones de personas [51]. Existen regiones endémicas con cifras muy elevadas (³ 15%) para esta infección en Japón, especialmente en las islas del sudoeste, y en algunas

áreas de África, así como en Melanesia y en las islas Seychelles [51]. Se encontraron endemias con cifras intermedias (5-14%) en el Caribe y algunas regiones de África Occidental, y con cifras bajas (<5%) en Australia y algunos países latinoamericanos como Colombia, Perú, Panamá, Brasil, Chile y Argentina [52- 55]. La sero prevalencia aumenta con la edad y es mayor en mujeres que en hombres.

La prevalencia del HTLV-1 en donantes de sangre de diferentes países del mundo varía según la región geográfica estudiada. Así, existen áreas endémicas como Japón donde la prevalencia en donantes de sangre llegó a ser de 13.14%, Martinica entre 3-5% y en Trinidad y Tobago de 1.5% [56-58]. Por otro lado, en áreas no endémicas se reportaron prevalencias de HTLV-1 de 0.01% en Estados Unidos, 0.03% en Canadá, 0.002% en Noruega, 0.003 en Francia y 0.0056% en Grecia [59-64]. En cuanto a Sudamérica, la prevalencia de HTLV-1 en donantes de sangre de Argentina, Brasil, Colombia y Perú, dependiendo del área estudiada, puede llegar hasta el 2%; considerándose éstas como áreas de prevalencia baja [65-69]. Los primeros estudios para detectar la infección por este virus en mujeres embarazadas se realizaron en Japón, país de alta endemicidad, donde se reportaron cifras de prevalencia de hasta el 7.1% en el año 1989 [70]. Pero el Programa de Prevención de ATL que implementaron desde 1987 y que incluye a esta población disminuyó la tasa de transmisión madre-hijo del 20% al 3% [71]. Entre las medidas de prevención se sugiere no amamantar si son madres HTLV-1 seropositivas, como actualmente recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC). Estudios realizados en países endémicos del continente americano en embarazadas saludables de bajo riesgo, mostraron una prevalencia de HTLV-1 de 1,93% en Martinica [72], mientras que en mujeres de origen Quechua de Cuzco y Quillabamba de Perú se detectó un 2,3% [73]. En Salvador, Bahía, Brasil, 0,7% a 0,88% de mujeres embarazadas de bajo nivel socio económico son HTLV-1 positivas [74]. Estudios más recientes en mujeres embarazadas realizados en países no endémicos de Europa, demostraron que la prevalencia del HTLV-1/2 no superaba el 0.02% y además era 6 veces mayor que en donantes de sangre de la mismo área [75].

En poblaciones de UDIs se observaron seroprevalencias para HTLV-1 que llegan hasta el 30%, según la región estudiada [76]. Así, en UDIs de Europa y Estados Unidos la prevalencia de

este retrovirus no supera el 0.3% contrariamente a lo que ocurre en Brasil donde el HTLV-1 es el tipo viral más frecuente en esta población (12.6%) [77-80]. En cuanto a las trabajadoras sexuales mujeres (TS), en países donde el HTLV-1 es endémico como Japón, Zaire, Perú y Brasil la prevalencia varía de 2.8% a 7.3% mientras que en áreas no endémicas como España y Singapur, la prevalencia no supera el 0.6% [38,81-85]. Por otro lado, los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) presentan prevalencias de HTLV-1 que concuerda con las áreas de endemidad para este retrovirus siendo, por ejemplo, de 1.8% en Perú mientras que en Europa y estados Unidos no supera el 0.4% [86-88].

Enfermedades asociadas

El HTLV-1 es el causante etiológico de una enfermedad neurológica llamada mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), y una de naturaleza hematológica denominada Leucemia a Células T del Adulto (ATL) aunque la mayoría de los portadores de éste virus permanecen asintomáticos a lo largo de sus vidas [89-93]. Hasta el momento no se ha demostrado la existencia de una cepa viral neuropatogénica o leucemogénica ni se ha podido relacionar la variabilidad genética de aislamientos virales con el desarrollo de alguna de las enfermedades asociadas. Se estima que éstas patologías serían el producto de una conjunción de la carga proviral del inóculo, factores genéticos del huésped como el haplotipo del antígeno leucocitario humano (en inglés, HLA) y la variabilidad genética del virus [94].

Si bien la presentación de ambas patologías en el mismo individuo se considera como excepcional, en Salvador, Brasil, el 14% de los pacientes con ATL, manifiestan además HAM/TSP [95]. Además, la infección por HTLV-1 está asociada con el desarrollo de otras enfermedades severas que pueden ser clasificadas en dos categorías: síndromes inflamatorios (uveítis intermedia, miositis, polimiositis, artritis, neumonitis pulmonar infiltrativa) e infecciones oportunistas (hiperinfección por *Strongyloides stercoralis* y dermatitis infecciosa en niños) [96]. Tanto la ATL como la HAM/TSP se encuentran con mayor frecuencia en áreas en donde el virus es endémico, aunque solo el 1 a 5% de sujetos HTLV-1 seropositivos tiene

el riesgo de desarrollar una de las dos patologías a lo largo de sus vidas. Además, se ha propuesto que la vía de infección primaria determinaría el curso de la patogénesis subsecuente.

Específicamente, la exposición a través de las mucosas con el HTLV-1 ha sido asociada al desarrollo de ATL mientras que la infección a través de transfusiones ha sido correlacionada con el desarrollo de HAM/TSP [97].

Leucemia a Células T del Adulto (ATL)

La Leucemia a Células T del Adulto (ATL) es una leucemia linfocitaria T CD4+, endémica en el sur de Japón donde fue descrita por primera vez en 1977 [92]. La ATL se manifiesta con mayor frecuencia en regiones donde la infección es endémica y donde la misma es adquirida a temprana edad por transmisión vertical. En nuestro país se encuentra con alta prevalencia, al igual que la HAM/TSP, en el Noroeste argentino [98]. Tiene un período de incubación mínimo de 20 años con una edad de presentación promedio de 50 años y similar en ambos sexos. Se desarrolla con más frecuencia en individuos infectados por transmisión madre a hijo, lo que resulta en una mayor incidencia intrafamiliar [99]. Se han descrito casos excepcionales de ATL postransfusional en individuos inmunocomprometidos y politransfundidos.

Esta leucemia es la única afección humana neoplásica conocida ligada directamente a la infección por un retrovirus. Si bien en los últimos años ha habido un avance notorio en la investigación de los mecanismos oncogénicos, aún no han sido del todo aclarados, la proteína Tax tendría un rol fundamental en la leucemogénesis.

Si bien la expresión de Tax es mínima en el transcurso de la ATL, parece ser que su presencia es necesaria para mantener el fenotipo maligno in vitro [102]. En la ATL se observa una integración monoclonal de uno o varios provirus en el genoma de las células tumorales, mientras que en los portadores asintomáticos la integración es policlonal [103]. Además, en los pacientes con ATL se producen niveles moderados de anticuerpos con cargas provirales elevadas. La ATL presenta características clínicas semejantes a otras leucemias agudas, tales como infiltrados de células malignas en médula ósea, ganglios linfáticos y piel, configurando

un patrón clínico con afección de vísceras, huesos, pulmón e infecciones oportunistas con alteración de la función hepática, lesiones osteolíticas y distintos tipos de lesiones dermatológicas. Son patognomónicos los linfocitos pleomórficos con núcleos hipersegmentados en forma de trébol en sangre periférica y la hipercalcemia.

También se presentan formas clínicas crónicas, linfomatosas y latentes [101]. El diagnóstico debe considerar características clínicas y resultados de laboratorio, tales como la morfología de linfocitos, el inmunofenotipo, la histología de los tejidos afectados en los casos de linfoma; estudios serológicos para detección de anticuerpos anti-HTLV-1 en plasma/suero y estudios moleculares que permitan detectar el genoma viral en los cortes histológicos. El diagnóstico diferencial de ATL incluye otras leucemias a células T tales como la leucemia promielocítica a células T, el síndrome de Sézary, linfomas a células T periféricos o la enfermedad de Hodgkin [101]. La ATL aguda tiene un curso rápidamente progresivo presentando una supervivencia de 6 a 9 meses, por lo que es común el sub-diagnóstico si no se cuenta con laboratorios especializados que permitan su clasificación en forma certera y rápida, antes de la precipitada evolución a un desenlace fatal, como sucede en la mayoría de los casos. En cuanto al tratamiento, hasta el momento las terapias disponibles presentan una eficacia mínima con pocos individuos respondedores. Las estrategias empleadas incluyen tratamientos quimioterapéuticos, con un sinnúmero de drogas utilizadas, la mayoría de ellas produciendo remisión parcial y solo en muy pocos casos la remisión total de los casos agudos de ATL [104].

Mielopatía Asociada al HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP)

Este síndrome neurológico anteriormente definido por Montgomery bajo el nombre de paraparesia espástica tropical (PET), fue descrito por primera vez en Jamaica en 1988 [105]. En 1985 Gessain y colaboradores detectaron en Martinica una prevalencia muy alta de anticuerpos anti-HTLV-1 en pacientes con paraparesia espástica, asociando por primera vez esta patología con la infección por el HTLV-1 [90]. Un año después Osame y colaboradores describieron en Japón un cuadro similar al que denominaron mielopatía asociada al HTLV-1 (HAM) [106]. Cuando se estableció que ambas entidades eran idénticas, se adoptó el término

de HAM/TSP para referirse a ellas y la TSP dejó de considerarse exclusivamente tropical [107]. La HAM/TSP se encuentra en distintas partes del mundo con focos de prevalencia variable dentro de regiones donde las cifras de infección por HTLV-1 son uniformes. Esta característica sugiere la participación de cofactores, ya sean ambientales o genéticos para la manifestación de la enfermedad en individuos portadores del virus. Se han observado focos de alta incidencia en el sur de Japón, Colombia, África, y en las islas Seychelles y de menor incidencia en algunos países de América del Sur como Brasil y Chile [33,108,109]. Cuando la HAM/TSP se presenta en áreas no endémicas, su origen frecuentemente se asocia a individuos inmigrantes de áreas endémicas o descendientes de los mismos [33,110].

La HAM/TSP es un síndrome neurológico desmielinizante caracterizado por destrucción celular y manifestación de un proceso inflamatorio en el sistema nervioso central (SNC) que afecta primariamente la espina dorsal y el cerebro. Se desarrolla en individuos de edad adulta siendo más prevalente en mujeres. El período de incubación es de 15 a 20 años si la vía de transmisión es de madre a hijo o de tipo sexual, y de 3 meses a 3 años si es por transfusión [111]. LA HAM/TSP muestra integración policlonal del provirus en las células T CD4+ (2 a 5%) y alto título de anticuerpos anti-HTLV-1 tanto en suero/ plasma como en líquido céfalo-raquídeo (LCR) y una elevada carga proviral [112]. En sangre periférica, se puede observar las células con núcleo multilobulado y un alto nivel de linfocitos CD4+ activados y linfocitos CD25+ que se caracterizan por su capacidad para proliferar espontáneamente in vitro [113,114]. Se sugiere que el daño en el SNC podría ser causado por un efecto directo de la invasión viral al SNC o bien como producto de la respuesta inmune celular a la infección en un microambiente proinflamatorio [115].

La presentación se caracteriza por una debilidad de miembros inferiores que se incrementa progresivamente hasta llegar a una discapacidad motora invalidante. Con el tiempo, se establece una paraparesia espástica con aumento de reflejos tendinosos de miembros inferiores (hiperreflexia) y vejiga neurogénica. Puede además observarse impotencia en hombres, calambres en miembros inferiores, dolor lumbar, estreñimiento y alteraciones de la sensibilidad. A diferencia de la esclerosis múltiple, los nervios craneales no están involucrados, y la función cognitiva no se encuentra afectada. Los criterios actuales de

diagnóstico de HAM/TSP han sido establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [41]. La confirmación del diagnóstico de pacientes con mielopatía progresiva crónica que no padecen inmunodeficiencia, debe incluir también la detección de anticuerpos específicos anti-HTLV-1 en suero/plasma y LCR, además de excluir cualquier otra patología posible como tumores de médula espinal, lesiones compresivas y otras mielopatías [116]. Las actuales terapias que tienen por objeto reducir la replicación viral y/o la invasión de los tejidos no han producido resultados del todo satisfactorios. Los corticoides y andrógenos sintéticos son frecuentemente utilizados, especialmente en la fase inicial de la enfermedad y por otro lado, el Interferón beta 1a, por sus efectos inmunomoduladores y antivirales, se utiliza para disminuir los efectos del sistema inmune en el daño del SNC [117-119].

Filogenia

Comparando secuencias genómicas de virus de distintas regiones del mundo se demostró cierta variabilidad genética, que aunque escasa comparada con HIV-1, es suficiente para establecer diferentes subtipos virales relacionados geográficamente [120,121]. Se ha observado que aislamientos provirales de diferentes regiones como África, Japón o América del Sur, presentaban más del 97% de identidad nucleotídica. Las cepas aisladas de Melanesia (Mel) muestran la mayor divergencia (5 a 8,5% en env) con respecto a la cepa prototipo, HTLVATK-1; tanto es así, que la secuencia HTLV-1MEL5 presenta un 91,5% de homología con el referido prototipo [122]. En un comienzo se había postulado un origen asiático, pero tiempo después surgieron evidencias de un posible origen africano, siendo hoy en día el origen filogeográfico de los HTLV-1 aún desconocido [26].

El HTLV-1 se divide filogenéticamente en siete subtipos: Cosmopolita (a), África Central (b y d), Melanesia (c), Zaire (e), Gabón (f) y Camerún (g) [7,123,124]. El subtipo Cosmopolita se ha diseminado por todo el mundo y está compuesto por 5 subgrupos: Transcontinental (A), Japonés (B), África del Oeste (C), África del Norte (D), y Peruanos Negros (E) [125]. Ha sido sugerido que la introducción del subtipo Cosmopolita del HTLV-1 en el continente americano, fue el resultado de las repetidas migraciones mongoloides pre-colombinas a través del estrecho de Bering, y también por migraciones post-colombinas asociadas al mercado de esclavos africanos. Más tarde, la caracterización molecular ha demostrado que el subgrupo A

Transcontinental era al más ampliamente distribuido. Por otro lado, el subgrupo B Japonés ha sido detectado en Perú y Brasil en individuos inmigrantes de Japón mientras que el subgrupo E de Negros Peruanos ha sido descrito en individuos de comunidades originarias con ascendencia negra [24,26].

Diagnóstico de infección por HTLV-1/2

Los virus HTLV-1 y HTLV-2 tienen un alto grado de similitud (65%) en sus secuencias nucleotídicas. En consecuencia, existe una fuerte reactividad cruzada de la respuesta inmune. Esto permite que se puedan detectar anticuerpos dirigidos contra proteínas de cualquiera de ellos a partir de lisados de un solo tipo [185]. Actualmente, se cuenta con equipos de nueva generación con formato tipo sándwich que incluyen antígenos de péptidos recombinantes y/o sintéticos para ambos tipos virales, aumentando la sensibilidad y especificidad [16]. En los Estados Unidos y Europa, los ELISAs son los equipos más utilizados para tamizaje, mientras que en Japón el más usado es la aglutinación de partículas (AP). Hay autores que proponen un algoritmo dual de ELISAs para aumentar la sensibilidad del tamizaje [18]. Las muestras repetidamente reactivas deben luego ser confirmadas por una técnica adicional, aún más específica, como el western blood (WB) [18]. El equipo de WB más usado se basa en lisados de virus enteros con el agregado de antígenos recombinantes de la envoltura (GD21) presentes en ambos retrovirus y de péptidos específicos de la envoltura del HTLV-1 (rgp46-1) y del HTLV-2 (rgp46-2), que permiten distinguir los dos tipos virales [189]. Si bien ésta técnica no está aprobada por la administración de alimentos y drogas de Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA) hasta el momento, es la más frecuentemente utilizada. Este análisis puede brindar cinco resultados distintos: negativo (ausencia de bandas específicas de los dos tipos virales); HTLV-1 positivo (reactividad a gag -p19 y/o p24- y env -GD21 y rgp46-1); HTLV-2 positivo (reactividad a gag -p19 y/o p24- y env -GD21 y rgp46-2-); HTLV positivo (reactividad tanto a ambas gag -p19 y p24- y env -GD21-, sin clasificación en tipo viral) e indeterminado (reactividad a proteínas específicas virales que no cumplen con los criterios de positividad antes mencionados con una banda aislada rgp46-II).

En los casos indeterminados o HTLV sin tipificar por WB, se recomienda realizar una PCR con alta sensibilidad para evitar falsos negativos y suficientemente específica para diferenciar entre los distintos tipos virales (HTLV-1 y HTLV-2) [190]. Como mínimo se deben registrar dos fragmentos de genes virales distintos para considerar positivo al resultado [191]. Aquellas muestras que amplifiquen únicamente uno de los fragmentos analizados, seguirán siendo indeterminados. En todos los casos en que no se pueda realizar una PCR, y los que resultaran indeterminados por PCR, se recomienda realizar el diagnóstico serológico cada 4 meses durante 1 año, para verificar la infección.

Resultados indeterminados por WB

Los casos de resultados indeterminados por WB fueron observados con prevalencia considerable entre donantes de sangre y poblaciones africanas. Uno de los patrones de WB indeterminados más frecuentes en estas poblaciones es el llamado “Patrón HTLV-I gag Indeterminado” (HGIP) que presenta las bandas correspondientes a gag (p19, p26, p 28 y p32 y 53) con ausencia de p24 y gp46. En África, Mahieux y colaboradores determinaron la existencia de reactividad cruzada entre proteínas Gag del HTLV-1 y antígenos derivados de *Plasmodium falciparum*, sugiriendo que este tipo de patrón frecuente y particular no es causado siempre por la infección por HTLV-1, sino que en ocasiones estaría asociado a infección por *Plasmodium falciparum* [32]. Sin embargo, en áreas donde este patógeno no se encuentra presente, otros autores sugieren que el patrón indeterminado puede deberse a reacciones cruzadas con retrovirus endógenos [33]. Tanto en Europa como en Estados Unidos, Japón y Brasil se ha demostrado que los patrones indeterminados por WB podrían deberse a reacciones cruzadas con otros STLVs, virus Varicella- Zóster y hasta el virus del dengue [34]. Varios estudios han demostrado la presencia de patrones indeterminados HGIP más frecuentemente entre donantes de sangre de áreas endémicas para la infección por HTLV-1/2, igual a lo reportado en áreas no endémicas como Taiwan y Argentina [92,96]

Linfomagénesis

Es útil considerar a los linfomas como la contrapartida neoplásica de reacciones que normalmente ocurren en el tejido linfoide para comprender su patogenia. La linfomagénesis es considerada un proceso con múltiples pasos durante el cual se produce la acumulación de alteraciones genéticas [1]. Además de las anormalidades genéticas, la estimulación antigénica crónica juega un rol importante en la linfomagénesis. La presencia de un antígeno no sólo estimula la proliferación celular transmitiendo las aberraciones genéticas a las células hijas, sino que también induce los procesos de rearreglo de inmunoglobulinas y por lo tanto, aumenta la probabilidad de que ocurran nuevos rearreglos aberrantes. En la mayoría de los desórdenes linfoproliferativos asociados al VEB la expresión génica viral es limitada y no involucra la replicación lítica del genoma o la producción de nuevos viriones. En las neoplasias asociadas al VEB el genoma viral se encuentra en las células tumorales en su forma episomal latente y se replica durante la división celular utilizando la maquinaria de la célula huésped [2].

La asociación de VEB con varias neoplasias linfoides es bastante contundente, indicando un rol etiopatogénico en su desarrollo. Sin embargo, dado que la infección por VEB está presente en la mayoría de los seres humanos es difícil establecer su rol causal en la linfomagénesis. El concepto de que el VEB es un virus oncogénico está avalado por su capacidad para infectar y transformar células B normales in vivo e in vitro determinando su inmortalización y permitiendo el continuo crecimiento de las células B [26].

Linfoma de Hodgkin

Los linfomas son neoplasias del sistema linfático que forman un grupo diverso de patologías, pero que coinciden en determinados aspectos morfológicos, inmunológicos y genéticos. Tradicionalmente, los linfomas se han clasificado en dos grandes grupos, la enfermedad de Hodgkin, que representa el 15-20% de los casos, y los linfomas de tipo no-Hodgkin. Actualmente, se definen tres categorías de neoplasias linfoides: el linfoma de Hodgkin y, dentro de los linfomas no Hodgkin, los de linfocitos B y T/NK.

El linfoma de Hodgkin es un cáncer infrecuente de hecho, es considerada como una enfermedad rara, que compromete los ganglios linfáticos y el sistema linfático. Tiene una incidencia de alrededor de 1/40.000 en Norteamérica y Europa; donde el número de casos nuevos diagnosticados cada año (incidencia) de linfoma de Hodgkin en diversos países y regiones de Europa es de 2,4 casos por cada 100.000 habitantes (2,5 en varones y 2,1 en mujeres). Extrapolando estos datos a la población española, esto significa que cada año se producen unos 1.150 casos nuevos. La incidencia del linfoma de Hodgkin ha disminuido ligera pero significativamente a lo largo de los 20 últimos años, con una tasa del 0,9% anual. El linfoma de Hodgkin afecta tanto a niños como a adultos. Es más común entre los 25 y 30 años de edad, y a partir de los 55 años. En los países occidentales solo el 10% de los casos tiene lugar en personas menores de 15 años o en mayores de 70 años. La enfermedad es algo más frecuente en hombres que en mujeres y no parece existir una clara asociación de factores familiares y socioeconómicos con la aparición de la enfermedad, aunque en el caso de los adolescentes en países occidentales, la enfermedad afecta más frecuentemente a individuos que pertenecen a familias de mayor nivel socioeconómico (*Rueda, 2013*).

El linfoma de Hodgkin es, en realidad, un grupo heterogéneo de neoplasias linfoides malignas de origen en linfocitos B que se caracteriza histológicamente por la presencia de células de Hodgkin y de Reed-Sternberg (HRS) en la gran mayoría de los casos (*Connors, 2012*). El linfoma se forma a partir de un linfocito B que se encuentra en proceso de maduración/activación en el ganglio linfático; dicho linfocito sufre una mutación en los genes que regulan su capacidad para producir anticuerpos, transformándose en una célula incapaz de llevar a cabo su función fisiológica por lo que habitualmente experimenta un proceso de apoptosis (muerte celular programada). Sin embargo, algunas mutaciones determinan la aparición de resistencia frente a los mecanismos apoptóticos naturales, escapar al control de las células encargadas de la vigilancia inmunológica y proliferar de forma incontrolada. Por lo general, el linfoma de Hodgkin comienza a afectar a los ganglios linfáticos del cuello o del mediastino (entre los pulmones y la zona posterior del esternón). También pueden aparecer en los grupos de ganglios linfáticos que están en las axilas, en la ingle, en el abdomen o en la pelvis. En el caso de que se produzca la diseminación de los linfocitos B mutados, lo más

frecuente es que lo hagan al bazo o al hígado, aunque también pueden diseminarse al pulmón, hueso y medula ósea, pero esto es poco frecuente.

El linfoma de Hodgkin se presenta bajo dos formas principales: el linfoma de Hodgkin clásico (LHc), que representa el 95% de todos los casos, y el linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico nodular o no clásico (NLPHL). A su vez, la forma clásica se divide en 4 subtipos: de tipo esclerosis nodular (40-70% de los casos), de celularidad mixta (30-50%; posiblemente la forma con peor pronóstico), rico en linfocitos (rara, asociada habitualmente al SIDA) y deplecionado de linfocitos. A diferencia del NLPHL, en el que se pueden observar *células popcorn* (con núcleo polilobulado que recuerda a las palomitas de maíz), el tipo clásico se caracteriza por la presencia de la célula de Reed-Sternberg, de mayor tamaño que los linfocitos normales, con dos o más núcleos, cada uno con un nucléolo prominente, que expresan la proteína CD30 en su superficie. Por su parte, el NLPHL no expresa CD30 (CD30-negativo) pero sí CD20 y CD45, mientras que la forma clásica (LHc) es negativo para estas últimas en el 60-80% de los casos.

Se desconoce la causa exacta, pero se cree que están implicados factores inmunológicos, genéticos y ambientales. No obstante, ciertas peculiaridades epidemiológicas sugieren la posibilidad de que exista algún microorganismo implicado en la etiopatogenia de la enfermedad. Uno de los más frecuentemente asociados es el virus de Epstein-Barr (VEB), dado que presenta una tendencia natural a infectar a los linfocitos B. De hecho, cerca del 90% de la población general adquiere una infección por VEB durante su infancia o los primeros años de su vida adulta. Es más, haber padecido una *mononucleosis infecciosa* (producida por el VEB) triplica la probabilidad de padecer un linfoma de Hodgkin. Incluso, se ha detectado material genético del VEB en el interior de los linfocitos B malignos del linfoma de Hodgkin; no obstante, esta observación es más común en los países en vías de desarrollo (más del 90% de los casos) que en los países desarrollados (40%). Según los datos actualmente disponibles, el material genético aportado por el VEB podría colaborar en los mecanismos por los que la célula maligna elude los mecanismos fisiológicos apoptóticos antes de desarrollar el linfoma.

Asimismo, hay datos epidemiológicos que sugieren la posibilidad de una cierta predisposición genética para desarrollar un linfoma de Hodgkin. De hecho, los familiares en primer grado de los pacientes presentan un riesgo hasta cinco veces mayor de sufrir el linfoma y los gemelos monocigóticos de pacientes con linfoma de Hodgkin tienen una probabilidad casi 100 veces mayor de padecer la enfermedad en relación a los gemelos dicigóticos. En cualquier caso, la probabilidad de una agregación familiar hereditaria (linfoma de Hodgkin familiar) es inferior al 5% de todos los casos.

Sintomáticamente, lo más frecuente es el crecimiento de los ganglios linfáticos, con tumoraciones o inflamaciones no dolorosas a nivel del cuello, axilas o, menos frecuentemente, ingle. Cuando el crecimiento ganglionar se produce en el tórax o en el abdomen los síntomas dependen de la compresión que los ganglios provocan sobre otras estructuras anatómicas. Así, puede aparecer tos y dificultad respiratoria (en caso de compresión de la tráquea o los bronquios), o dolor abdominal o de espalda (en caso de afectación de los ganglios del abdomen). Un síntoma clásico, pero poco común, es la aparición de dolor en los ganglios linfáticos después de tomar alcohol (signo de Oster). Alrededor del 25% de los pacientes manifiesta sintomatología general consistente en pérdida de peso importante (mayor del 10% respecto al peso inicial), intensa sudoración nocturna o fiebre persistente. El prurito generalizado es un síntoma infrecuente pero característico del linfoma de Hodgkin y, algunas veces, puede anteceder meses o años al diagnóstico del linfoma.

El sistema de estadificación del linfoma de Hodgkin de Ann Arbor establece diferentes estadios dependiendo del grado de afectación.

- **I:** afectación de una sola región de ganglios linfáticos (I) o de un solo órgano o sitio extra linfático (IE).

- **II:** afectación de 2 o más regiones de ganglios linfáticos en el mismo lado del diafragma (II) o afectación localizada de un solo órgano o sitio asociado extra linfático y sus ganglios linfáticos regionales con otras regiones de ganglios linfáticos en el mismo lado del diafragma o sin ellas (IIE).

- **III:** afectación de ganglios linfáticos en ambos lados del diafragma (III) que también puede ir acompañada de la afectación localizada de un órgano o sitio extra linfático (IIIE), de la complicación del bazo (IIIS), o de ambos, (IIIS + E).

- **IV:** afectación diseminada de uno o más sitios extra linfáticos con asociación de ganglio linfático o sin ella, o con afectación aislada de un órgano extra linfático y complicación ganglionar distante (no regional).

- **Síntomas:** A. Asintomáticos. B. Presencia de fiebre mayor de 38 oC por 3 días consecutivos, sudoración nocturna o pérdida de peso no explicada del 10% o más del peso corporal en los 6 meses previos a la admisión

Por su parte, el *índice pronóstico internacional* (IPI; *international prognostic score, IPS*) utiliza un conjunto de 7 factores de riesgo en el momento del diagnóstico (sexo varón, >45 años de edad, enfermedad en estadio III/IV, albumina sérica <4 g/dl, hemoglobina <10,5 g/l, recuento de leucocitos >15.000/mm³), recuento de linfocitos <600/mm³ o menos del 8% del recuento total de leucocitos. Cada factor puntúa 1 y se considera que un IPS >4 es desfavorable. Las tasas actuales de curación son del 90% para los primeros estadios (I/II) y del 70% para los estadios avanzados (III/IV).

El tratamiento con radioterapia fue el primero que consiguió curar a algunos pacientes con estadios iniciales, pero su uso ha ido decayendo a favor de la quimioterapia. De hecho, actualmente la radioterapia se utiliza casi siempre combinada con quimioterapia, empleando la radioterapia de campo afectado (se irradian exclusivamente las aéreas ganglionares afectadas por la enfermedad). En general, el tratamiento con radioterapia y quimioterapia sistémica es eficaz y conlleva un pronóstico muy bueno, aunque es necesario un seguimiento prolongado con exámenes físicos, test sanguíneos y pruebas de imagen para detectar posibles recaídas y los efectos secundarios a largo plazo de los tratamientos tóxicos utilizados. Los posibles efectos secundarios a largo plazo incluyen cánceres secundarios, infertilidad, inmunidad reducida, problemas de tiroides, enfermedad cardíaca y accidentes cerebrales vasculares.

La quimioterapia más habitualmente utilizada en el linfoma de Hodgkin es el esquema **ABVD** (doxorubicina– *adriamicina* –, bleomicina, vinblastina y dacarbazina), aunque debe adaptarse inicialmente a la tipología del linfoma, según sea la forma clásica o la de predominio linfocítico nodular (NLPHL).

En la forma clásica los esquemas más utilizados, al menos en España, son el citado ABVD y el Stanford V (doxorubicina, vinblastina, mecloretamina, etoposido, bleomicina, vincristina y prednisona), en casos avanzados. Para pacientes de alto riesgo, algunos centros utilizan el esquema **BEACOPP** escalado (bleomicina, etoposido, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazona y prednisona).

No existe un esquema quimioterapéutico estandar para las formas refractarias primarias ni para las recaídas (30-40% de los pacientes con estadios avanzados). En esos casos, se suele emplear quimioterapia agresiva y trasplante de médula ósea. Se estima que en aquellos que no respondan a este último tratamiento su supervivencia media es inferior a tres años.

La forma de predominio linfocítico nodular (NLPHL) expresa la proteína CD20 y, a nivel de tratamiento y evolución, también hay algunas diferencias con la forma clásica (LHc). De hecho, hay datos contrastados que indican que algunos pacientes mejoran con tan solo escisión de la masa tumoral (cuando ello es posible). Además, cuando recaen, las recaídas no suelen ser tan agresivas y las tasas de supervivencia son un poco mayores.

Los regímenes más utilizados son, además de ABVD, CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona), CVP (ciclofosfamida, vincristina y prednisona) y EPOCH (etoposido, prednisona, vincristina, ciclofosfamida y doxorubicina), siempre asociados a radioterapia.

En caso de recaída, se utilizan los siguientes esquemas de rescate previo al **trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos** (TASPE): ICE (ifosfamida, carboplatino, etoposido), C-MOPP (ciclofosfamida, vincristina, procarbazona, prednisona), DHAP (dexametasona, cisplatino, dosis altas de citarabina), ESHAP (etoposido, metilprednisolona, cisplatino y dosis altas de citarabina) y MINE (etoposido, ifosfamida, mesna, mitoxantrona). Entre ellos, el más utilizado en España es el DHAP (*Novelli, 2011*).

En caso de alcanzar una respuesta completa o parcial, el paciente podrá ser sometido a quimioterapia a altas dosis seguida de un TASPE. De lo contrario, deberá recibir algún otro esquema o podrá ser incluido en algún ensayo clínico. Si tras el TASPE recae, se deberá considerar la opción de un trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos (alo-TPH).

Linfoma no Hodgkin

Los linfomas no Hodgkin (LNH) son un grupo heterogéneo de trastornos linfoproliferativos que se originan en los linfocitos B, T y *natural killer* (NK). Se calcula que la incidencia global en España es de 12,3 casos por cada 100.000 varones/año y 10,8 en el caso de las mujeres, diagnosticándose unos 3.100 casos nuevos al año en hombres y 2.400 en mujeres. En cuanto a la mortalidad, representan un 3% del total de muertes por cáncer (*Rueda, 2013*). Los linfomas no Hodgkin de células B representan el 80-85%, los T el 15-20% y los NK el resto.

La clasificación de los linfomas no Hodgkin de la Organización Mundial de la Salud (2008) establece dos grandes grupos, según el origen: linfomas de células B (linfoma y leucemia linfoblástica aguda de células B, leucemia linfocítica de células B, leucemia de células pilosas, plasmocitoma, linfoma de Burkitt, etc.) y linfomas de células T de y células NK (linfoma y leucemia linfoblástica aguda precursora de células T, micosis fungoide, linfoma extranodal de células T, leucemia agresiva de células NK, linfoma anaplásico de células grandes, etc.).

La etiopatogenia de los LNH varía en los distintos tipos, aunque tienen en común ciertos factores de riesgo, como tener un sistema inmune debilitado (ya sea por una enfermedad hereditaria o tras un trasplante de órganos), edad elevada, antecedentes familiares, exposición a agentes tóxicos (herbicidas) e infecciones por algunos virus (virus linfotrópico de células T del ser humano tipo 1 –*HTLV-1*–, virus de la inmunodeficiencia humana –*VIH*–, virus de Epstein-Barr –*VEB*–) y bacterias (*Helicobacte pylori*).

Linfoma anaplásico de células grandes

El linfoma anaplásico de células grandes es una variedad de linfoma no Hodgkin que deriva de linfocitos T, y de la que existen dos formas: la sistémica y la cutánea. Representa entre el 2% y el 8% de todos los linfomas de células T y tiene la peculiaridad de expresar la proteína CD30. Se trata de una forma tumoral muy agresiva. En cualquier caso, la evolución clínica depende en buena medida del estatus *ALK*.

La cinasa del linfoma anaplásico (*Anaplastic Lymphoma Kinase*, *ALK*) es también conocida como receptor de la tirosina cinasa de *ALK* o *CD246*. Se trata de un enzima que en los seres

humanos esta codificada por el gen *ALK* y que desempeña un papel importante en el desarrollo del cerebro y ejerce sus efectos sobre neuronas específicas. Sin embargo, el gen *ALK* puede actuar como un oncogen de tres maneras diferentes: mediante la formación de un gen de fusión con otros genes, mediante la obtención de copias adicionales de genes o con mutaciones del código de ADN para el propio gen. Un determinado trasvase de material genético o *translocación* entre los cromosomas 2 y 5, denominado *t(2;5)(p23;q35)*, está asociada con aproximadamente el 60 % de los casos de linfoma anaplásico de células grandes. La translocación crea un gen de fusión de la cinasa del linfoma anaplásico (*ALK*) y de la nucleofosmina (NPM), de tal manera que la fracción 3' de la *ALK* (proveniente del cromosoma 2 y que codifica para el dominio catalítico), esta fusionada a la porción 5' de NPM, proveniente del cromosoma 5. El producto de fusión formado (*NPM/ALK*) se traduce en una proteína quimérica denominada *p80*, que es oncogénica y característica de este tipo tumoral. El gen de fusión de EML4-*ALK* es responsable de aproximadamente el 2-5 % de los casos cáncer de pulmón no microcítico.

Los pacientes con linfoma anaplásico de células grandes *ALK*-positivos son más jóvenes y tienen mejor pronóstico que los *ALK*-negativos. La quimioterapia con esquemas basados en doxorubicina (particularmente, CHOP) proporciona tasas de respuesta completa del 70%, con una supervivencia a los cinco años del 60% de los pacientes, sin que exista un consenso general sobre cómo tratar a los cuadros resistentes ni a las recidivas, aunque algunos pacientes se benefician con nuevos regímenes quimioterápicos y con TASPE.

Linfoma de Burkitt

El linfoma de Burkitt (LB) es un linfoma particularmente agresivo, cuya marca característica es una translocación cromosómica entre el cromosoma 8 y el cromosoma 14, 2 o 22 [45].

Como consecuencia de esta translocación, el oncogen c-myc en el cromosoma 8 se yuxtapone con el gen de la cadena pesada de la inmunoglobulina (cromosoma 14) o a los genes de la cadena liviana de inmunoglobulinas (cromosoma 2 o 22). Esta translocación aberrante determina la desregulación de la expresión del oncogen c-myc [7].

El VEB está presente aproximadamente en el 95% de los linfomas Burkitt (LB) endémicos con localización habitual en mandíbula, mientras que, en Estados Unidos y Europa, donde se

presenta habitualmente como LB esporádico con localización abdominal su asociación con el VEB es tan sólo del 10 al 20% [46]. La relación entre el VEB, el LB y la translocación del oncogen c-myc es complicada debido a la existencia de dos tipos de LB, endémico con VEB generalmente presente, y esporádico con VEB frecuentemente ausente. A pesar de que ambos tipos de LB exhiben la translocación del oncogen c-myc, los puntos de ruptura dentro de los genes involucrados difieren y probablemente los mecanismos que median la yuxtaposición [3].

El primer indicio de su etiología viral fue la distribución relacionada con las áreas climáticas con alta incidencia en las regiones donde prevalecía la malaria. Ésta última disminuye el control que las células T ejercen sobre las células B facilitando su proliferación. Se postula que la estimulación de las células B causada por las continuas reinfecciones con malaria podrían contribuir a la expansión de células B proliferantes infectadas por el VEB, las cuales tendrían una mayor probabilidad de adquirir alteraciones citogenéticas tales como la t(8; 14) [47]. El paso clave para la transformación maligna, la t(8; 14), que yuxtapone el oncogen c-myc del cromosoma 8 al locus de la cadena pesada de la Ig en el cromosoma 14, con sobre expresión del oncogén cmyc, ocurre en una célula B centro germinal infectada por VEB en su camino a diferenciarse en célula B de memoria. Esta célula debiera normalmente expresar el programa de latencia, pero debido a la sobreexpresión del oncogén c-myc, se detiene en la etapa de proliferación y expresa constitutivamente sólo EBNA 1 (latencia tipo I) [8]. In vitro el VEB, contribuye a la génesis del tumor mediante la inhibición de la apoptosis inducida por el oncogén c-myc a través de al menos dos mecanismos: un modesto aumento en la expresión de bcl-2 lo que mantiene la latencia tipo I [48] y una disminución concomitante en la expresión del oncogén c-myc [49].

Los EBERs (vía EBNA) inducen expresión de IL 10, que permite al virus escapar de la respuesta inmune mediante la supresión de linfocitos T citotóxicos TH 1, y a su vez la utilizan como factor de crecimiento. La expresión de EBERs está positivamente regulada por el oncogen c-myc, tienen actividad antiapoptótica y su expresión sostenida por las células B centro germinales que han adquirido la translocación, puede contrarrestar el efecto proapoptótico del oncogén c-myc [50]

Linfoma difuso de células b grandes

El linfoma B difuso de células grandes (LBDCG) es un linfoma no hodgkiniano (LNH) de fenotipo B y gran agresividad. Representa el 80% de los linfomas agresivos y el 30-35% de todos los LNH en el adulto [1]. Es el linfoma más frecuente en la edad adulta, seguido del linfoma folicular. Es una enfermedad propia de los ancianos, con una edad mediana en el momento del diagnóstico de unos 70 años y con un predominio en el sexo masculino. Se trata de una neoplasia potencialmente curable, aunque con el esquema CHOP-21 (ciclofosfamida, vincristina, adriamicina y prednisona, cada 21 días) sólo se consigue una tasa de curación del 40-50%²; la curación de los pacientes con factores de mal pronóstico constituye un reto.

Un tercio de los pacientes se presentan en estadios localizados (I-II), en forma de una masa ganglionar o extraganglionar con crecimiento rápido, acompañada o no de síntomas B. El 66% restante se presenta en estadios diseminados (III-IV). Hasta un 40% de los casos tiene afectación extraganglionar, principalmente del tubo digestivo (estómago, región ileocecal), anillo de Waldayer, piel, pulmones, testículos, riñones, huesos, timo y tiroides³.

Etiopatogenia

La etiología del LBDCG es desconocida, pero se sabe que la inmunodepresión es un factor de riesgo, sobre todo en los pacientes seropositivos para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (los LNH de alto grado son categoría C del sida). En los casos asociados al VIH, las células neoplásicas suelen expresar el virus de Epstein-Barr⁴.

Los LBDCG se clasifican en 2 grandes grupos: a) primarios, que son los que aparecen de novo, y b) secundarios, que proceden de la transformación de un linfoma de bajo grado de malignidad -leucemia linfática crónica de fenotipo B, linfoma folicular, linfoma de zona marginal ganglionar o extraganglionar (MALT), linfoma de zona marginal esplénico y linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico) o de la conversión de un linfoma T angioinmunoblástico².

Anatomía patológica

El LBDCG se caracteriza por el borramiento parcial o total de la arquitectura normal del ganglio o área extraganglionar debido a una infiltración difusa de células neoplásicas de estirpe linfóide de gran talla (células grandes transformadas) y de distinta morfología: centroblasticas, inmunoblasticas y/o anaplásicas. La variante más frecuente es la centrobástica [3].

Las variantes morfológicas del LBDCG, que se resumen en la tabla 11-3, son las siguientes:

1. Centrobástico. Está formado por células de tamaño mediano o grande (remedan a los centroblastos del centro germinal), de citoplasma más o menos amplio y anfófilo o basófilo, de núcleo con contorno irregular no hendido y cromatina laxa, vesicular, y con 1-3 nucléolos basófilos prominentes. Esta variante tiene a su vez 2 subtipos: a) el monomórfico, formado casi exclusivamente por células centroblasticas, y b) el polimórfico, compuesto por una mezcla de células neoplásicas centroblasticas e inmunoblasticas. Es necesario que las células centroblasticas constituyan al menos un 10% de la población celular y las inmunoblasticas menos de un 90%.
2. Inmunoblastico. Es propio de los casos asociados a la inmunodepresión (sida). Más del 90% de la población celular está formada por inmunoblastos, que son células grandes transformadas de mayor tamaño que las centroblasticas, de citoplasma amplio basófilo, cromatina laxa/vesicular y un nucléolo prominente. Representa el 10% de los LBDCG.
3. Rico en linfocitos T/ histiocitos. Es una variante rara, de peor pronóstico. Cursa con afectación difusa de hígado y bazo. Está formado por una población celular mayoritariamente reactiva (> 90%) de linfocitos T e histiocitos benignos, que se entremezcla con células neoplásicas malignas grandes.
4. Anaplásico. Expresa el antígeno CD30 (Ki-1). No debe confundirse con el linfoma anaplásico de células grandes, que es un LNH de fenotipo T citotóxico, que también expresa el CD30

Los hallazgos inmunofenotípicos característicos del LBDCG se detallan en la tabla 25.

Perfil genético

Las alteraciones genéticas que definen el LBDCG son las siguientes: a) reordenamiento clonal de los genes de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (positividad de la inmunoglobulina H en la reacción en cadena de la polimerasa), lo que indica una monoclonalidad de células B; b) mutaciones hipersomáticas de los genes de las regiones variables (IgHV) de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, lo que indica un origen poscentrogerminal (derivan de células B del centrogerminal o de un paso posterior en la diferenciación celular)⁶; c) otras alteraciones como sobreexpresión de Bcl-2 (potente inhibidor de la apoptosis)⁷, asociado o no a la translocación t(14,18)⁸ en un 30-40%², sobreexpresión de Bcl-6 por translocaciones que afectan al 3q27 en un 30%⁹, expresión de p53(17p), que se asocia a un peor pronóstico¹⁰, y d) translocación t(8,14) con sobreexpresión del oncogén C-myc, presente en raros casos, sobre todo en los casos de linfoma de Burkitt-like.

En función del perfil genético se puede clasificar el LBDCG en 3 grandes subtipos con relevancia tanto pronóstica como terapéutica¹¹ mediante la técnica de micromatrices de ADN (linfocip)¹², que permite el estudio sincrónico de miles de genes expresados por un tumor:

Subtipo 1: similar al de células B del centro germinal. Es el subtipo de mejor pronóstico, con una tasa de supervivencia a los 5 años del 60% y con una buena respuesta al tratamiento. Su perfil genético es similar a las células del centro germinal, con expresión de CD1, t(14,18), bcl-6, HGAL, CD38, el factor nuclear A-myb, la proteína de reparación del ADN 8-oxoguanina ADN glucosilasa y mutaciones somáticas de IgHV¹³.

Subtipo 2: de células B activadas. Es un subtipo de peor pronóstico, con una mala respuesta al tratamiento y supervivencia a los 5 años del 35%. Suele presentar sobreexpresión de bcl-2, sin t(14,18), así como un perfil de expresión génica relacionado con células B activadas como MUM1/IRF4, ciclina D2, FLICE o CD44¹⁴.

Subtipo 3: LBDCG primario de mediastino. Este subtipo es de mal pronóstico, con una supervivencia a los 5 años del 39%. No expresa en alto grado ninguno de los perfiles génicos de los otros 2 grupos anteriores, pero presenta ganancias y amplificaciones de 9p21-ter y 2p14-1615.

Variantes clínicas

Granulomatosis linfomatoide

Es una enfermedad rara, caracterizada por afectación del sistema nervioso, riñones y pulmones, y en menor medida del hígado, piel, tubo digestivo y anillo de Waldayer. Desde el punto de vista histopatológico se caracteriza por un infiltrado angiocéntrico/angioinvasivo de células reactivas T y, en menor medida, de histiocitos, mezclados con células B de gran tamaño que expresan el virus de Epstein-Barr. Por ello, durante mucho tiempo se confundió con el linfoma T/NK extraganglionar. Según la Organización Mundial de la Salud, se distinguen 3 grados de granulomatosis linfomatoide; los grados 1 y 2 son variantes reactivas no malignas, mientras el grado 3 es una variante del LBDCG2,3.

Linfoma B de células grandes mediastínico/tímico (linfoma mediastínico esclerosante primario)

Es una variante del LBDCG que deriva de las células B del timo. Es más frecuente en mujeres y la edad de presentación es a los 20-50 años. Suele cursar en forma de masa voluminosa mediastínica anterior (masa voluminosa, masa con diámetro superior a un tercio del diámetro transversal de la radiografía posteroanterior del tórax o superior a los 7-10 cm en su diámetro transversal mayor), con adenopatías mediastínicas que producen un compromiso respiratorio e infiltración local de los vasos [2].

Linfoma primario de las cavidades (serosas)

Es una variante rara de los LBDCG, que aparece fundamentalmente en el seno de una inmunodepresión, sobre todo el sida (categoría C) [2]. Está causado por el virus del herpes

humano 8 (virus del sarcoma de Kaposi). Clínicamente se caracteriza por serositis (pleuritis/peritonitis), sin presencia de una masa tumoral detectable. En la citología del líquido se puede detectar la presencia de células neoplásicas de estirpe linfoide con un fenotipo aberrante; no hay antígenos B ni inmunoglobulinas de superficie o intracitoplásmicas, pero sí expresión de los marcadores de células B activadas o de células plasmáticas (CD30, CD38, CD138). El pronóstico con o sin tratamiento es infausto, con una supervivencia mediana inferior a los 6 meses [3].

Linfoma intravascular

Es una variante rara del LBDCG que se caracteriza por una afectación casi exclusivamente intravascular, sin que se acompañe generalmente de masas tumorales ni de leucemización en sangre periférica [17,18]. Los órganos o sistemas que se afectan con mayor frecuencia son el sistema nervioso central, la piel, los riñones y el pulmón, siendo mucho más rara la afectación de los órganos hematopoyéticos [19,20]. Su curso clínico suele ser agresivo, con un pronóstico sombrío en muchas ocasiones, aunque hay casos de larga supervivencia y remisiones completas con las distintas posibilidades terapéuticas [21,22]. Debido a la falta de especificidad de las manifestaciones clínicas y a su rareza, muchas veces esta enfermedad se diagnostica en la autopsia [23].

Pronóstico

El pronóstico de los LBDCG viene determinado por el Índice Pronóstico Internacional (IPI)²⁴, que incluye 5 parámetros clínicos de fácil determinación (tabla 3).

Según el número de factores de riesgo existentes (0-5), se clasifica a los pacientes en 4 grupos de riesgo: bajo (0 y 1), bajo-intermedio (2), alto-intermedio (3) y alto (4 y 5). Sin embargo, es más correcto emplear el IPI ajustado a la edad, en el que desaparecen los factores de riesgo edad y número de afectaciones extraganglionares, de manera que puede haber de 0 a 3 factores (riesgo bajo: 0 y 1; riesgo alto: 2 y 3) [24].

Otros linfomas no Hodgkin

El término angiocéntrico fue propuesto por la clasificación REAL debido a la característica invasión y destrucción de vasos sanguíneos que produce necrosis en la mayoría de los casos. El hecho que la invasión vascular pueda identificarse en sólo la mitad a 2/3 de los casos incrementa la posibilidad de que existan otras causas para la necrosis del tumor por ejemplo la expresión aumentada de quimokinas IP 10 y Mig que pueden ser inducidas por VEB. Estas quimokinas median el daño vascular en modelos murinos de enfermedad linfoproliferativa VEB positivo proveyendo las bases de la necrosis y el daño tisular observado [53].

Las células del linfoma no Hodgkin T/NK nasal evidencian características genóticas y fenotípicas únicas. Dichas características incluyen la ausencia de antígenos T, la expresión de CD56, marcador de células NK y la ausencia del rearrreglo de los genes del receptor T54.

La predisposición racial parece tener un rol en la patogénesis de este linfoma. En un estudio realizado con nativos de Guinea se demostró que este grupo racial tiene una alta prevalencia de HLA A11 que se asocia con una mutación del EBNA 4 que lleva a la anulación del reconocimiento del VEB por las células citotóxicas. En contraste el HLA A 11 es raro entre blancos en quienes el reconocimiento del péptido EBNA 4 por células T citotóxicas, domina la respuesta inmune contra VEB. Esta variación en el fenotipo HLA proveería las bases para la mayor frecuencia de tumores VEB positivos como los linfomas de células T/NK nasal en asiáticos [53].

La linfadenopatía angioinmunoblástica es un linfoma de células T en el cual a menudo están presentes clones de células B además de los clones de células T [50]. El VEB puede ser detectado en más del 30% de las linfadenopatías angioinmunoblásticas. Los clones de células B infectadas en la linfadenopatía angioinmunoblástica a menudo muestran hipermutación somática continua sin ninguna selección de funcionalidad para el receptor de células B. Como consecuencia, varios clones adquieren mutaciones destructivas. Se piensa que la proliferación de células B infectadas por VEB es un evento secundario y que el VEB no estaría relacionado causalmente con la patogénesis de estos linfomas. La expansión en red de células foliculares dendríticas que son el sello de estos linfomas simula la proliferación de blastos B infectados por el VEB [8].

La presencia del VEB en sólo una población de las células sugiere que la infección por el VEB es posterior a la neoplasia o que el genoma viral fue perdido por las células malignas. Se observaron células B VEB positivas proliferando en linfomas de células T [55]. Esto hace pensar sobre la posible activación de células B latentemente infectadas con VEB por células T neoplásicas, y/o el rol de las células B VEB positivas en el mantenimiento del proceso T maligno [56].

Síndromes linfoproliferativos en pacientes inmunocromprometidos; enfermedad linfoproliferativa post-trasplante

Las enfermedades linfoproliferativas post-trasplante (LPPT), son un grupo heterogéneo de proliferaciones linfoides anormales, generalmente de células B, que ocurren en el contexto de una función T inefectiva a causa de la inmunosupresión farmacológica luego del trasplante de órganos. Casi todos los LPPT se asocian con infección por VEB, lo que se demuestra por la presencia del VEB dentro del tejido maligno [57]. La incidencia de los LPPT se encuentra dentro de un rango de 0,5 a 30% y varía ampliamente dependiendo del órgano trasplantado, el estatus serológico para el VEB en el donante y el receptor y los tratamientos utilizados para lograr la inmunosupresión [58].

Los LPPT son heterogéneos en cuanto a su derivación celular. Algunos casos muestran hipermutación somática (HMS) continua durante la expansión clonal, mientras que otros casos tienen mutaciones destructivas de los genes de la región variable de las cadenas de inmunoglobulinas (ausencia de receptor B). Lo antedicho indica que pasos importantes de la transformación maligna ocurren en las células B del centro germinal. Los LPPT generalmente expresan todos los genes latentes del VEB [8].

Trastornos Linfoproliferativos asociados a VEB

Latencia y persistencia del VEB

La alta frecuencia de linfomas positivos para el VEB en comparación con la baja frecuencia de células B positivas en portadores sanos y la presencia de virus en todas las células tumorales, con evidencia de infección de la célula madre del clon linfomatoso por el VEB, apoya la relación entre el VEB y la transformación de las células B. En algunos casos se encuentra al VEB únicamente integrado al genoma celular, lo cual indica que el virus podría haber estado presente en más casos de linfomas al inicio y luego haber desaparecido. Para comprender mejor el rol del VEB en la patogénesis de los linfomas es importante conocer en qué estadio del desarrollo de la célula B que origina al linfoma se produce la infección, y si esa infección ocurre antes o después de eventos transformantes [8]. Para ser oncogénico, el VEB debe mantener su genoma dentro de la célula blanco, prevenir la muerte de la célula infectada, y evitar que la misma sea reconocida por la respuesta inmune. Finalmente, el virus debe activar las vías que controlan el crecimiento celular [7].

Como se menciona con anterioridad, el VEB activa a las células B con infección latente e induce su transformación a blastos proliferantes para convertirlas en células B de memoria de larga sobrevivencia. Este mecanismo tiene importancia en la patogénesis de las enfermedades asociadas al VEB. Por un lado, la activación de células recientemente infectadas es peligrosa tanto para el huésped como para el virus, por el riesgo de desarrollar una enfermedad neoplásica potencialmente fatal que limitará el tiempo en que el virus pueda diseminarse a otros huéspedes, pero, por otro lado, el virus se asegura que los linfoblastos proliferantes tengan corta sobrevivencia.

El riesgo para el huésped surge si el VEB infecta a una célula B bajo condiciones en las cuales la célula infectada no puede salir del ciclo celular, quedando bloqueada su maduración en el estadio de centro germinal, determinando la expresión constitutiva de los genes del programa de default (o latencia tipo II), o si las células de memoria accidentalmente expresan los genes del programa de crecimiento. Ambas situaciones podrían llevar al crecimiento desregulado y

al desarrollo de tumores. Lo anterior se evita porque el VEB tiene la propiedad de conservar los blancos virales que las células T citotóxicas reconocen en los linfoblastos infectados. Por lo tanto, el VEB en los linfoblastos proliferantes es un blanco seguro de la respuesta inmune, lo que garantiza que los linfoblastos que expresan el programa de crecimiento pero que no pueden diferenciarse y salir del ciclo celular serán destruidos [36].

Los patrones de latencia del VEB están sujetos a la naturaleza de las células de la neoplasia de la cual derivan, o de la respuesta inmune del huésped como en el caso de las enfermedades linfoproliferativas postrasplante y de los linfomas relacionados al SIDA. Además, se han encontrado patrones de expresión en genes del VEB que codifican para proteínas homólogas a las humanas involucradas en la proliferación, diferenciación, inhibición de la apoptosis y supresión de la respuesta inmune local. Algunos genes latentes pueden ejercer su función predominantemente en la transformación inicial de las células B, como EBNA 2 y EBNA-LP, y luego ser subregulados o aún mejor cambiados por otros.

Otros genes latentes, como el EBNA 1 y LMP2 A, pueden ser más importantes, en el mantenimiento de la sobrevivida a largo plazo del genoma del VEB en las células B latentes, mientras que LMP1 puede mantener el crecimiento temporal de estas células al pasar a través de los ganglios linfáticos. Los efectos provocados por la expresión de LMP1, junto con el crecimiento externo o los estímulos que inducen diferenciación proveen las bases para el crecimiento pre maligno

El mantenimiento de la expresión de LMP1 en bajos niveles, parecería ser crucial para la persistencia de las células B transformadas por el VEB. Cuando éstas células se activan en las capas subepiteliales se expresan genes virales adicionales que proveen funciones de crecimiento y sobrevivida. Los transcritos codificados por BHRF 1 (homólogos funcionales de bcl-2) se encuentran principalmente en linfomas de células B, tanto en pacientes inmunocomprometidos como en inmunocompetentes. Se cree que el efecto de la proteína BHRF 1 se suma al efecto de la proteína bcl-2 inducida por LMP1 para evitar la apoptosis estimulando así la sobrevivida de las células del huésped durante la producción de la progenie viral [2].

La mayoría de los linfomas de células B derivan de las células B del centro germinal o de sus descendientes. Esto se debería principalmente a la extensa proliferación de las células B del centro germinal, lo cual podría aumentar el riesgo de transformación maligna, y a los procesos de remodelación del gen de inmunoglobulinas, hipermutación somática y cambio de clase de las cadenas pesadas que ocurren en el centro germinal y podrían causar lesiones genéticas.

El análisis de los linfomas B asociados a VEB demuestra que, en la mayoría de los casos, estas patologías neoplásicas derivan de las células B del centro germinal o de los sobrevivientes atípicos de las reacciones del centro germinal [8].

Los tres tipos principales de linfomas asociados a VEB difieren marcadamente en su patogénesis y en el probable rol del virus en este proceso. En el linfoma de Burkitt (LB) endémico el rol principal del VEB sería favorecer las propiedades proliferativas sobre las propiedades pro apoptóticas del c-myc, promoviendo de esta manera la expansión clonal no controlada de las células B. El LB se originaría a partir de una célula B del centro germinal en su camino hacia el compartimiento de memoria detenida durante la proliferación por un oncogen c-myc activado. (expresándose solo EBNA-1 o programa de latencia tipo I).

En el Linfoma de Hodgkin (LH) las células de Reed-Sternberg (R-S) probablemente deriven de la célula B pre apoptótica del centro germinal infectada por el VEB y la expresión de LMP1 y LMP2 (programa de default o latencia tipo II) podría tener un rol en el rescate de los precursores de las células R-S de la apoptosis. Tanto en el LH como en el LB, el evento crítico podría ser una mutación durante las alteraciones inmunológicas asociadas con la infección aguda por el VEB [36].

La situación es más diversa en los síndromes linfoproliferativos postrasplante (LPPT). La mayoría de los casos probablemente podrían derivar de las células B del centro germinal, de precursores seleccionados por la expresión del receptor de células B (BCR), o provenir de células B del centro germinal alteradas. En estas patologías la expresión del programa de crecimiento (patrón de latencia III) es necesaria para la expansión de los clones tumorales, aunque en algunos casos, la adquisición de eventos transformantes evita la necesidad de expresar el programa completo de latencia [8].

Linfoma de Hodgkin

Varios tipos de linfomas no Hodgkin se asocian con el VEB [51]. Los dos tipos en los cuales el VEB ha sido directamente más implicado son, el linfoma de células T/NK y la linfadenopatía angioinmunoblástica. La asociación del VEB con el linfoma no Hodgkin tipo T es sorprendente porque las células T normalmente expresan el receptor del VEB (CD 21) en un índice 10 veces menor que la célula B. La asociación depende ampliamente del sitio comprometido. El VEB está especialmente asociado con el linfoma T/ NK tipo nasal. Cuando ocurre en la nariz la asociación es de un 100%, mientras que cuando ocurre en otros sitios como el intestino, la asociación es considerablemente menor. El VEB puede infectar linfocitos T citotóxicos y células NK durante el contacto célula/ célula, con células blancas infectadas por medio del intercambio de material genético viral y subsiguiente transformación de la célula efectora.

Se encontró que el VEB se halla presente entre las células citotóxicas neoplásicas, demostrando que es capaz de persistir en ellas. Se podría especular que los linfocitos T citotóxicos o las células NK se infectarían durante la muerte de la célula blanco-infectada dado que el virus infecta en forma más productiva a las células B y células epiteliales en oro y nasofaringe.

La ubicación preferencial de las células citotóxicas infectadas puede explicar la presentación de los LNH T asociados al VEB en nasofaringe, vías aéreas y tubo digestivo [2] El VEB está consistentemente asociado con estos linfomas sin importar la localización geográfica [52].

Existen varias evidencias que vinculan al VEB con el Linfoma de Hodgkin (LH):

1. Cuatro veces más riesgo de padecer LH en individuos con historia de mononucleosis infecciosa [21].
2. Títulos de anticuerpos anti cápside viral de VEB aumentados en pacientes con LH.
3. Detección de episoma de VEB monoclonal en las células de Hodgkin-Reed-Sternberg [38].

El linfoma de Hodgkin (LH) se asocia a la infección con VEB en aproximadamente 40% de los casos en Europa occidental y Estados Unidos y hasta en un 80% en los países en vías de desarrollo [26]. El porcentaje de positividad para el VEB se asocia con subtipos histológicos particulares, aunque esto no es excluyente. Alrededor del 70% de los casos del LH del tipo celularidad mixta (CM) y cerca del 100% de los casos de la variedad depleción linfocitaria

(DL) son VEB positivos. El tipo esclerosis nodular (EN) tiene una asociación menos frecuente, aproximadamente el 10 al 40% de los casos son VEB positivos, mientras que la mayoría de los casos de la variedad linfoma Hodgkin predominio linfocítico nodular (LHPLN) son negativos [39].

La evidencia definitiva del compromiso del VEB en el LH fue la detección del genoma del VEB en la células R-S, la expresión de antígenos latentes en dichas células y la detección de ARN codificados por VEB [40].

Además, existe asociación con variables epidemiológicas. Es más probable que desarrollen LH VEB positivo los pacientes del sexo masculino, así como también los más jóvenes y los más viejos [41]. La asociación con el VEB en pacientes añosos podría ser atribuida a un aumento de la actividad viral como consecuencia de una inmunidad T deteriorada [7]. Es frecuentemente positivo en hispanos, y la probabilidad es aún mayor en países en vías de desarrollo llegando casi al 100% en algunas poblaciones. Los pacientes inmunosuprimidos tienen alta tasa de infección por VEB sobre todo el subtipo 242.

En adultos jóvenes la presencia de VEB tiene poco impacto sobre el pronóstico cuando el estadio y la histología son favorables. En los extremos de la vida podría asociarse a peor pronóstico [14]. En el LH, las células de Reed Sternberg (RS) a menudo tienen mutaciones deletéreas de la región variable de las Ig y como consecuencia pierden la expresión del BCR. Las células que adquieren dichas mutaciones normalmente son eliminadas por apoptosis en el centro germinal. Las células de (RS) en pacientes VEB positivos probablemente deriven de células B centro germinales mutadas que fueron rescatadas de la apoptosis por algún evento transformante. El genoma del VEB que en dichas células es monoclonal, indicaría que la infección se produce antes que la expansión clonal de las células malignas [36]. El rol del VEB en el LH aún no se halla bien definido. La expresión génica del VEB sigue el patrón de latencia tipo II, con la expresión de EBNA-1, LMP-1, LMP2A, y LMP2B y EBERs. A pesar de que tanto LMP- 1 como LMP2A están expresados no se desencadena una respuesta inmune T contra las células de Hodgkin-Reed Sternberg [43].

El VEB mediante la expresión de LMP 1 y LMP 2 aportaría señales de supervivencia imitando las señales de CD 40 y BCR respectivamente (latencia tipo II). El rol propuesto para el VEB en la patogénesis del LH se basa en el rescate de las células B pre apoptóticas BCR negativas, imitando los procesos de selección normal a través de LMP-1 y LMP-2^a[18] Estas proteínas podrían evocar una respuesta inmune mediada por células T citotóxicas aunque in vivo podría existir una inhibición de la respuesta inmune local en el tumor, donde LMP 1 tendría un rol activo directa o indirectamente a través del aumento de IL 10 humana [2].

La Interleuquina (IL) 10 suprime la respuesta inmune T mediada por Interferón γ y la producción de IL 2 por las células T- cooperadoras Th1, además las células productoras de IL 10 pueden escapar de la inmunovigilancia [44].

Los síndromes linfoproliferativos asociados al VEB pueden ocurrir de forma endémica, en determinadas áreas geográficas, debido a influencias genéticas (HLA), factores ambientales y tolerancia inmunológicas propias de cada individuo.

El virus ha desarrollado estrategias para minimizar o eliminar su potencial rol patogénico en un intento de mantener por un lado una infección persistente y por el otro, la sobrevivencia del huésped en el cual subsiste.

A pesar de conocerse al menos en forma parcial, las estrategias que utiliza el virus durante la infección y el rol de éste en la patogénesis de los linfomas, muchos puntos quedan aún por dilucidar.

La convergencia de distintas disciplinas ha permitido reconocer caminos probables en la génesis de estas neoplasias, que podrían generar en el futuro importantes avances terapéuticos

METODOS Y TECNICAS

4.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional, prospectivo de corte transversal, y de fuente secundaria, donde se recolectó, la información necesaria para determinar si existe una relación entre el virus Epstein barr y virus linfotropo de células T humano tipo 1 en pacientes con neoplasias linfoides diagnosticados por el departamento de hematología en el período julio 2016-Julio 2017

4.2 Universo o población

El universo estuvo constituido por todos aquellos pacientes que fueron atendidos en el departamento de hematología del Instituto Oncológico del Cibao, con diagnóstico de neoplasias linfoides, en el periodo de estudio.

4.3 Muestra

Se realizó un muestreo probabilístico, aleatorio, randomizado, donde se escogieron 48 pacientes que cumplieron con las características exigidas en el estudio y que accedan a participar en el mismo.

4.4 Criterios de inclusión y exclusión

Luego de una extensa revisión bibliográfica, se resumieron las condiciones que deberían reunir los participantes de la investigación; las cuales fueron delimitadas en un conjunto de criterios de inclusión y exclusión, que se exponen a continuación:

4.4.1 Criterios de inclusión

- Ser mayor de 18 años.
- Acceder a participar en el estudio validado mediante la firma del consentimiento informado
- Diagnóstico de neoplasia linfoide

- Recibir seguimiento del departamento de hematología

4.4.2 Criterios de exclusión

- Pacientes pediátricos
- Pacientes que no accedan a participar

4.5 Variables y su operacionalización

Producto de los objetivos planteados en esta investigación, se obtuvieron las siguientes variables:

1. Tipo de linfoma
2. Sexo
3. Edad
4. Virus de Epstein Bar
5. HTLV-1
6. Estadio de la neoplasia

Cada una de las variables fue definida de acuerdo a los objetivos del estudio y a la literatura correspondiente, luego se delimitaron las dimensiones y su escala de medición. Finalmente fue señalado el indicador que servirá para medir cada variable.

4.6 Procesamiento de datos

Se utilizó el sistema operativo Microsoft Office 2016, para Windows Xp Home Edition y Windows Vista Home Edition, junto al paquete estadístico SPSS versión 22.0 para redactar el trabajo y procesar los datos, respectivamente. Los gráficos y tablas también se realizaron en dichos programas

La base de datos que se usó para analizar los datos consta de 20 columnas; en la primera fila se escribieran CE, que es el código del entrevistado/a; también se escribieron las palabras, siglas o abreviaturas que permitirían reconocer las variables de estudio.

4.7 Plan de análisis

Finalizada la recolección, los datos se procesaron de manera electrónica en el programa SPSS versión 22.0, y se integrara la información obtenida en distintos esquemas (cuadros y gráficos). En los cuadros se esquematizaron los datos arrojados por las entrevistas y los gráficos representaron la información tabulada en los cuadros. Las variables cualitativas fueron expresadas en frecuencia y porcentajes, se graficaron por medio de distribución de frecuencia y analizadas mediante la prueba estadística de Chi². Los análisis de las variables cuantitativas se realizaron mediante los estadísticos descriptivos de lugar: moda, media, mediana, rango y desviación estándar.

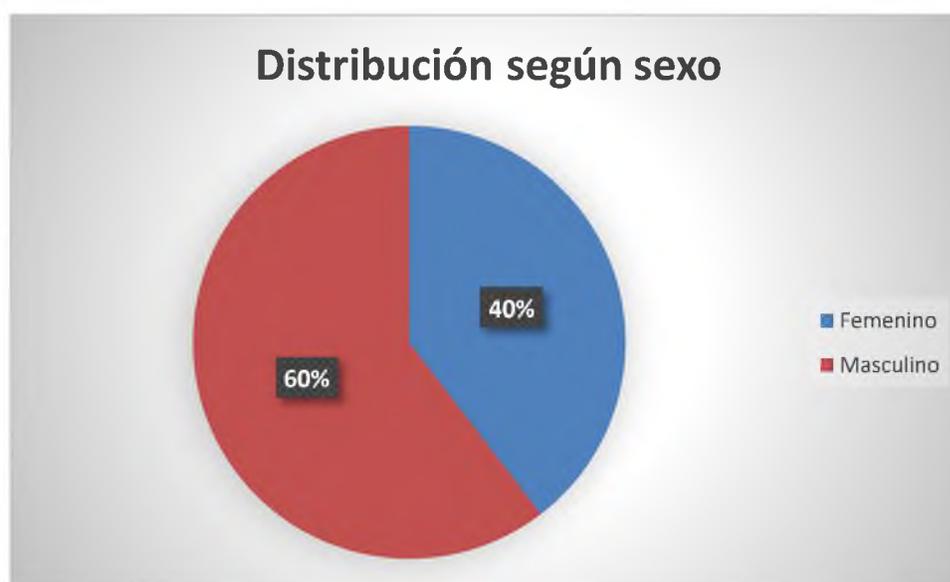
4.8 Consideraciones éticas

Todos los participantes fueron tratados respeto y dignidad, bajo los estándares de valores éticos y morales. Sus datos personales que los pueda identificar quedaron en el anonimato. Además de confidencialidad y la voluntariedad primó en el estudio. Igualmente se aplicaron los principios bioéticos del informe de Belmont vigilando la autonomía, la beneficencia y la justicia.

PRESENTACION DE LOS RESULTADOS

Distribución de frecuencia según sexo.

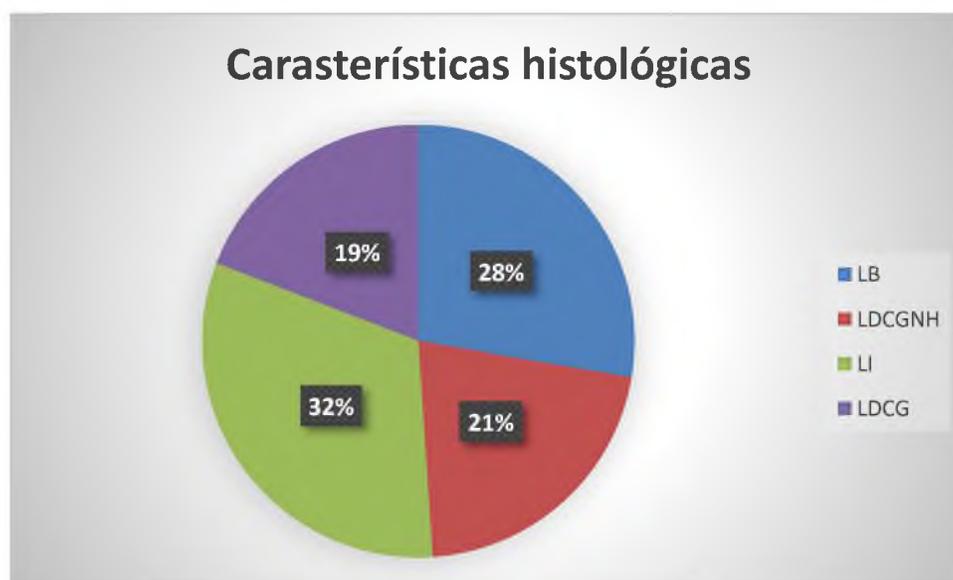
Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Femenino	19	40
Masculino	29	60
Total	48	100



Diecinueve pacientes fueron mujeres y 29 hombres, con una mediana de edad, al momento del diagnóstico de la neoplasia, de 35 años (rango 29 a 87 años). De acuerdo con los criterios morfológicos e inmunohistoquímicos aceptados por la OMS, los 48 linfomas estudiados se clasificaron como se detalla a continuación.

Características histológicas.

<i>Linfoma</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
<i>LB</i>	13	26.5
<i>LDCGNH</i>	10	20.5
<i>LI</i>	15	30.3
<i>LDCG</i>	9	18.3

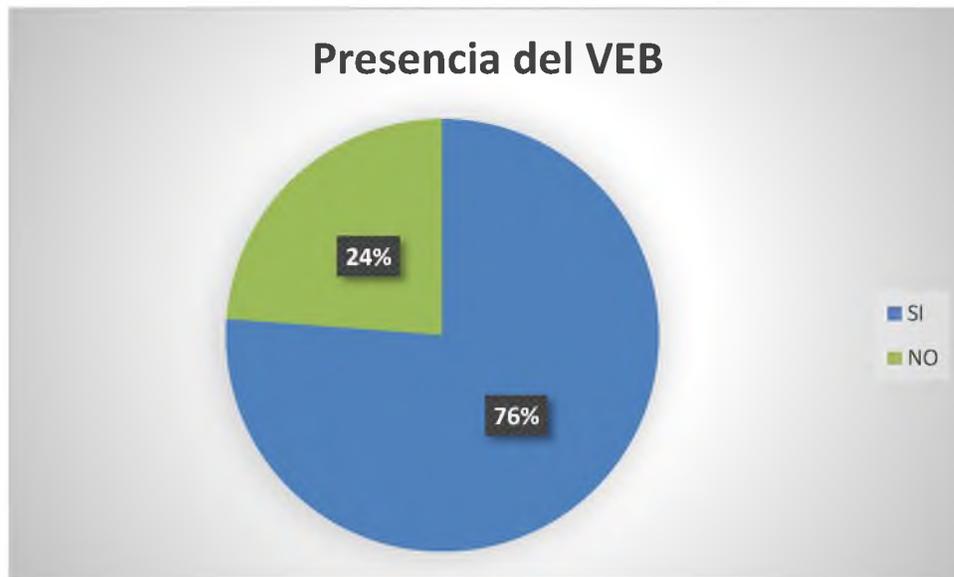


La agrupación de los 49 linfomas sistémicos por tipos histológicos es la siguiente:

13 casos (26,5%) eran LB 10 casos (20,5%) eran LDCGNH, 15 casos (30, 6%) eran LI (Figuras 4 y 5). 9 casos (18,3%) eran LDCG CD-30 +. Dentro de este grupo eran linfomas de células grandes no hendidas, 2 casos linfomas inmunoblásticos y el caso restante era un LDCGA CD-30 + (1,6% del total de todos los linfomas estudiados en nuestra serie). Estos 3 últimos grupos de linfomas denominados en conjunto LDCG comprendían 34 casos (69,3%).

Linfomas difusos de grandes B células (LDBGC)

<i>Presencia de VEB</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
<i>SI</i>	16	76
<i>NO</i>	5	24
<i>Total</i>	21	100



El genoma del VEB se detectó en 16/21 casos (76%). Los 7 casos (33%) correspondientes a la variante morfológica centroblástica se presentaron en hombres con una mediana de edad de 35 años al momento del diagnóstico de la neoplasia (rango 28 a 42 años). Todos presentaban enfermedad neoplásica avanzada (estadio IV de la clasificación de Ann Arbor) al momento del diagnóstico.

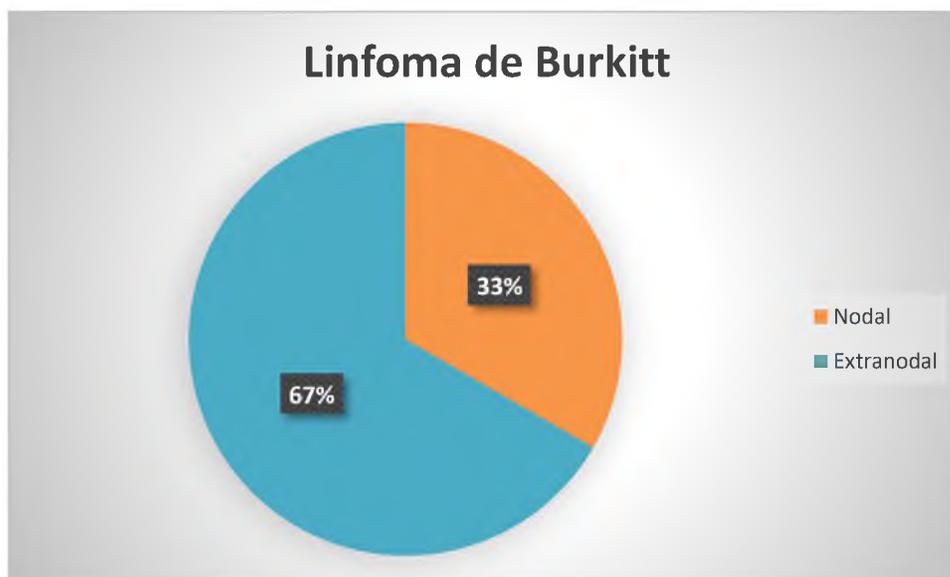
El examen histológico mostró histoarquitectura tisular reemplazada por una proliferación celular difusa, constituida por elementos de mediano y gran tamaño con núcleos vesiculosos, redondos a ovales, de contorno discretamente irregular y, en algunos casos, presencia de formas multilobuladas. Algunos presentaban de 2 a 4 nucléolos lateralizados hacia la membrana nuclear y con escaso citoplasma (centroblastos), y otros un nucléolo central único

y citoplasma amplio y basófilo (immunoblastos). Estos hallazgos coexistían con numerosas mitosis. Mediante técnicas de IHQ la proliferación celular descripta fue: ACL (antígeno común leucocitario) (+), CD20 (+), Bcl-6 (\pm), Bcl-2 (-/+), CD3, CD138, ALK y EMA negativos. El índice de proliferación valorado mediante el anticuerpo primario Ki-67 fue mayor al 50% en todos los casos. La búsqueda del VEB mediante técnica de IHQ (LMP-1) fue positiva en 1/7 casos estudiados. La misma se observó como marcación citoplasmática en células aisladas. La detección del genoma del VEB mediante técnica de HIS fue positiva en 5/7 casos (71%). En todos ellos la positividad se evidenció como señal nuclear intensa en la población celular neoplásica.

Once fueron hombres y 3 mujeres con una mediana de edad de 37 años (rango 32 a 52 años). Todos estaban en etapa avanzada de la infección por el retrovirus, con recuentos de linfocitos T CD4+ inferiores a 200 células/ μ l y enfermedad neoplásica avanzada (estadios III y IV de Ann Arbor) al diagnóstico. Se observaron núcleos vesiculosos de disposición excéntrica y nucléolos prominentes. La búsqueda del VEB mediante técnica de IHQ (LMP-1) fue positiva en 1/14 casos estudiados, y se observó como marcación citoplasmática en células aisladas. La búsqueda del VEB mediante técnica de HIS fue positiva en 11/14 casos (78%). En todos ellos la positividad se evidenció como señal nuclear en un alto número de la población celular neoplásica. La búsqueda del HHV-8 mediante técnica de IHQ (LANA) e HIS fue negativa en todos los casos.

Linfoma de Burkitt

<i>Linfoma de Burkitt</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
<i>Nodal</i>	1	34
<i>Extranodal</i>	2	66
<i>Total</i>	3	100

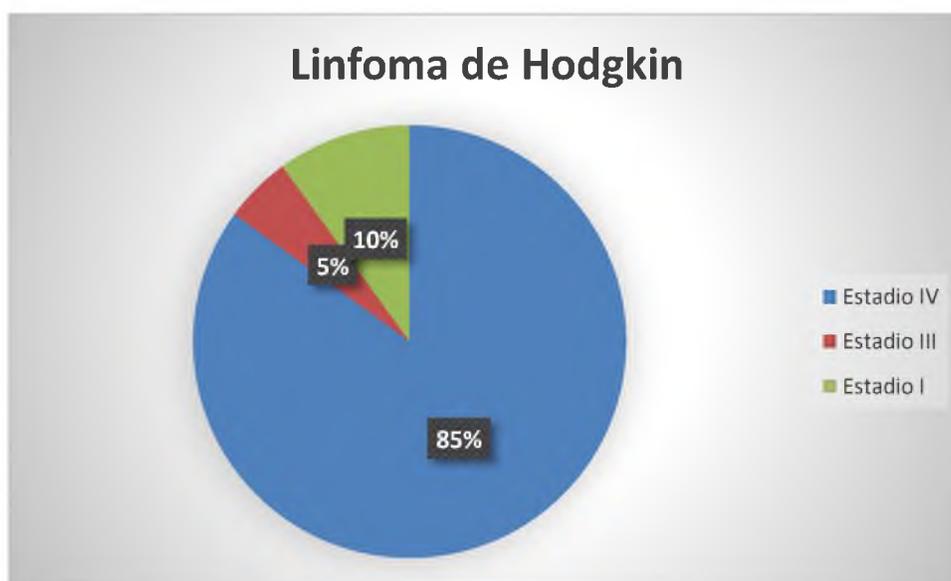


Los 3 casos evaluados correspondieron a hombres con una mediana de edad de 42 años (rango 40 a 44 años) en etapa avanzada de la infección por HTLV1 con recuentos de linfocitos T CD4+ inferiores a 100 células/ μ l y enfermedad neoplásica en estadio IV al momento del diagnóstico. Uno fue nodal y los otros 2 extranodales, localizados en el duodeno y la mucosa oral. En el examen histológico la arquitectura tisular se hallaba reemplazada por una proliferación difusa monomorfa constituida por células atípicas de mediano tamaño, con núcleos redondos de contorno regular, con 2 a 5 pequeños nucléolos centrales evidentes y escaso citoplasma basófilo. Coexistían numerosas mitosis y células apoptóticas e histiocitos con fagocitosis de restos celulares que configuraban la imagen "en cielo estrellado". Mediante técnicas de inmunohistoquímica la proliferación descrita mostró reactividad frente a los anticuerpos primarios CD20, Bcl-6 y CD10, en tanto fue negativa frente a CD3, Bcl-2 y TdT. El índice de proliferación, evaluado con el anticuerpo primario Ki 67 fue de casi el 100% en todos los casos. La búsqueda del VEB mediante técnica de HIS fue positiva en 1/3 casos (33%)

evidenciada como señal nuclear en un alto número de la población celular neoplásica. No se efectuó la búsqueda del VEB mediante técnica de inmunohistoquímica (LMP-1) dado que el VEB, por el patrón de infección latente que establece en este tipo de linfomas, no expresa LMP-1.

Linfoma de Hodgkin clásico

<i>Linfoma de Hodgkin</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
<i>Estadio IV</i>	17	85
<i>Estadio III</i>	1	5
<i>Estadio I</i>	2	10
<i>Total</i>	20	100



Los 20 casos evaluados correspondieron a 18 hombres y 2 mujeres, con una mediana de edad de 37 años (rango 26 a 61 años), en etapa menos avanzada de la infección por HTLV1 en comparación con los LNH antes descritos. enfermedad neoplásica avanzada al diagnóstico: estadio IV en 17 casos; estadio III en 1 caso y estadio II en 2 caso. De acuerdo con los criterios morfológicos internacionalmente aceptados, los subtipos histológicos identificados incluyeron celularidad mixta (CM 17 casos), esclerosis nodular (EN 2 casos) y depleción linfocitaria (DL 1 caso). El examen histológico de los 17 casos clasificados como CM mostró parénquima

ganglionar con histoarquitectura reemplazada por una proliferación celular polimorfa conteniendo numerosas células de Reed Sternberg (RS) y sus variantes (células de Hodgkin y células momificadas) y un componente de células inflamatorias que incluía linfocitos, plasmocitos, eosinófilos y numerosos fibroblastos e histiocitos. En los 2 casos de EN se comprobó la presencia de bandas de colágeno que circunscribían nódulos constituidos por numerosas células de RS entre las que destacaban un número predominante de la variante lacunar, alternando con una población de células inflamatorias similar a la ya descrita en la variante CM. En el único caso clasificado como DL el parénquima ganglionar se hallaba reemplazado por células de RS, algunas de ellas de gran tamaño y aspecto bizarro, inmersas en un fondo de aspecto fibroso. Mediante técnicas de IHQ las células de RS resultaron ACL (-); CD 20 (±); CD3 (-); CD15 (±); CD30 (+). La búsqueda del VEB mediante técnica de IHQ (LMP-1) fue positiva en 18/20 casos estudiados (90%). En todos ellos la positividad se evidenció exclusivamente en las células de RS y mostró una patente citoplasmática difusa. Además, la detección del VEB mediante técnica de HIS fue positiva en 17/20 casos (85%). En todos ellos la positividad se observó exclusivamente en las células neoplásicas de RS como señal nuclear en un alto número de las mismas.

DISCUSIÓN

La leucemia/linfoma de células T del adulto fue descrita originalmente en 1977 en una serie de casos de 16 pacientes nativos de una isla japonesa llamada Kyushu. La enfermedad fue definida como una leucemia de células T maduras del adulto (1). Varios años después, algunas partículas de retrovirus de tipo C fueron detectadas y aisladas de pacientes con linfomas cutáneos de células T y se denominaron HTLV-1 (2). En 1982, el mismo virus se aisló en líneas celulares obtenidas de pacientes fallecidos por leucemia/linfoma de células T del adulto en Japón (7). Por otra parte, en 1985 en Japón, se describieron asociaciones entre HTLV-1 y una enfermedad neurológica conocida como paraparesia espástica tropical (TSP) y mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM) (8). Actualmente se sabe que estas dos enfermedades son mielopatías idénticas conocidas como HAM/TSP (9).

El HTLV es un virus oncogénico con un genoma compuesto por una cadena sencilla de ARN que es capaz de infectar linfocitos T y B, monocitos y células dendríticas y endoteliales. Sin embargo, la transformación maligna sólo se ha descrito en linfocitos T, originando la leucemia/linfoma de células T del adulto (10). A la fecha se han descrito cuatro tipos de HTLV (desde HTLV-1 hasta HTLV-4). Aunque HTLV-2 no ha sido asociado con ATLL, este virus se ha encontrado en casos aislados de ciertas condiciones neurológicas (13).

En Colombia la presencia de HTLV-1/2 se demostró en tejidos incluidos en bloques de parafina de pacientes con linfomas no Hodgkin en Cali, una ciudad de la región del Pacífico, usando una técnica de amplificación por PCR (cinco de 75 casos); en el mismo estudio se encontró serología positiva en 5,1 % de la población afro-colombiana de la localidad costera de Tumaco (14). En un estudio reciente en Bogotá, entre 8.913 donantes de sangre, se encontró una seroprevalencia de 0,07 % (15).

Hay cuatro formas bien definidas de leucemia/linfoma de células T del adulto: 1) leucemia aguda agresiva con presencia de células T circulantes, maduras y pleomórficas, caracterizada además por hipercalcemia, visceromegalia y lesiones cutáneas (caso 2); 2) linfoma agresivo sin características de leucemia (caso 1); 3) enfermedad crónica, caracterizada por lesiones

cutáneas y linfocitosis de células T, la cual con frecuencia puede permanecer estable por meses o años, y 4) asintomática o de lenta evolución, con algunas manifestaciones pulmonares o cutáneas (4). En general, estas neoplasias se desarrollan en aproximadamente el 5 % de todos los individuos infectados, con una latencia de cerca de 30 años desde la primoinfección viral. Esta enfermedad se ha descrito predominantemente en adultos mayores, con un promedio de 58 años, lo cual se relaciona con el mencionado largo periodo de latencia de la infección viral (4)

La infección por HTLV1 representa un importante factor de riesgo para el desarrollo de linfomas tanto de tipo Hodgkin como no Hodgkin. Además, los pacientes con sida presentan un riesgo relativo para el desarrollo de linfomas 165 veces mayor dentro de los 3 años del diagnóstico en comparación con aquellos que no han progresado al sida²⁷. En la serie que se presenta, el 92% de los pacientes se encontraban en estadios avanzados de la enfermedad HTLV1/sida con recuentos de linfocitos T CD4+ de < de 200 cél/μl. En relación con el género, y en forma similar a la población seronegativa para el retrovirus, la incidencia de linfomas en los pacientes con sida es más común en los varones. En la serie que se presenta, 89% de los casos ocurrieron en hombres (25/28) [28, 29]. Otra de las características de los LNH en pacientes con sida es su frecuente compromiso extranglionar como forma de presentación, con el tracto digestivo, el sistema nervioso central, la piel y el pulmón como sitios comprometidos con mayor frecuencia [14, 18, 30-32]. En nuestra serie, 89% de los casos tuvieron presentación extranodal, con el tubo digestivo como sitio más frecuente de diagnóstico de la neoplasia en 18 de 28 pacientes (64%). En 15 de estos 18 casos (83%) el sitio inicial de presentación de la neoplasia, fue la cavidad oral.

Todos los pacientes de esta serie presentaron tumores de alto grado, de curso clínico agresivo y con enfermedad avanzada (estadios III y IV) al momento del diagnóstico de la neoplasia de acuerdo con la clasificación de Ann Arbor [25]. La clasificación de Kiel [33] subdivide a los LDGC de fenotipo B de acuerdo con su morfología en centroblásticos e inmunoblásticos. Los linfomas asociados con la infección por el HTLV1 incluyen aquellos de grandes células de fenotipo B, con los subtipos inmunoblástico, centroblástico y Burkitt, que representan la gran mayoría; y dos subtipos menos comunes que ocurren casi exclusivamente en pacientes HTLV1 positivos y son el PEL

y LP de la cavidad bucal. De los 2 subtipos más comunes, centroblástico e inmunoblástico, el primero presenta características similares a la población general; en cambio, el inmunoblástico es más característico de la población HTLV1 positiva. En este sentido, la relación patogénica con el VEB se comprueba en el 90% de los tumores pertenecientes al subtipo inmunoblástico en comparación con sólo el 30% del subtipo centroblástico [34]. Sin embargo, en la serie que se presenta, de los 7 pacientes con LDGC variante centroblástica, el genoma del VEB se detectó en 5 casos (71%).

El LB, descrito inicialmente por Denis Persons Burkitt en 1958, tiene dos variantes: la forma endémica o africana con predominio en niños y compromiso predominantemente óseo y la esporádica o no endémica con predominio en adultos inmunodeprimidos. Esta es una neoplasia frecuente en los pacientes HTLV1 positivos, pero no es común en otras inmunodeficiencias, razón por la cual, en la actualidad, se lo denomina LB asociado al sida. En estos pacientes, el LB se caracteriza por su evolución sumamente agresiva y representa entre el 15% al 40% de los linfomas asociados con el sida [35,36]. Datos recientes sugieren que la disminución en la incidencia de LB en pacientes con sida bajo TARGA es menos marcada que para otros subtipos histológicos de linfomas [37,38]. El pronóstico es habitualmente malo, con tasas de remisión completa de sólo 40% a 50% y una mediana de supervivencia de 4 a 8 meses. [35,39]

Los LP combinaron el aspecto morfológico de una neoplasia linfoide de alto grado con rasgos plasmoblásticos constantes y acentuados, y un perfil inmunofenotípico que se acerca más a una neoplasia de células plasmáticas que a un LNH. La expresión de CD 138 y MUM1 y la ausencia de Bcl-6 y CD10 sostiene la hipótesis de que el origen de esta neoplasia sería una célula linfoide B post-centrogerminal. En concordancia con la bibliografía internacional los casos diagnosticados en pacientes con enfermedad HTLV1/sida de esta serie mostraron una clara asociación con el VEB (78%), el cual parecería jugar un rol importante en la patogenia de estos linfomas. En cambio, contrariamente a lo que se describe en la literatura, no se detectó coinfección VEB/HHV- 8 en ninguno de estos pacientes [42]. Los datos obtenidos permiten suponer que los LP y el PEL podrían ser entidades biológicamente relacionadas, considerando la frecuente observación de PEL extracavitarios, la similar heterogenicidad inmunofenotípica

mostrada por las células tumorales de ambas neoplasias y su observación más frecuente en individuos HTLV1+.

En esta serie comprobamos la frecuente asociación patogénica del VEB con los LDGC que incluyó en forma global a 20 de 28 de estos tumores (71%). La frecuencia de esta asociación varió según los distintos subtipos histológicos: 16/21 (76%) LDCG con 5/7 (71%) para la variante centroblastica, 11/14 (78%) para el LP; 1/3 LB (33%) y 3/4 LPSNC (75%). Otra característica remarcable de esta serie, a diferencia de los hallazgos de otros autores, es la ausencia de detección del genoma del HHV-8 en los 14 casos de LP analizados. Los LH asociados con el sida se caracterizaron también por ser más frecuentes en varones 18/20 (90%) y por su curso clínico agresivo. El diagnóstico se efectuó en estadios avanzados de la neoplasia en 19 de 20 casos (95%) con un marcado predominio de los 2 subtipos histológicos de peor pronóstico: CM y DL que incluyeron 18/20 pacientes (90%). En este grupo de pacientes comprobamos un menor deterioro inmunológico al momento de desarrollo de la neoplasia en comparación con los LNH, con recuentos de linfocitos T CD4+ iguales o menores a 300 cél/μl. La mayoría de estos casos se asociaron en su patogenia con el VEB y esta asociación resultó aún más marcada para la variedad CM (18/20 casos por IHQ y 17/20 por HIS). En la serie que se describe el VEB (LMP-1 y EBERs) se detectó exclusivamente en las células de Reed-Sternberg, a diferencia de lo señalado por otros autores que también lo han identificado en el resto de las células linfoides atípicas [43,44].

La asociación patogénica con el VEB es muy marcada para los subtipos histológicos más frecuentes de los pacientes HTLV1+ (CM y DL). La frecuencia de expresión del VEB en los LH varía ampliamente según el área geográfica considerada, desde 94% en Perú a 27% en Suecia [45,47]. En nuestro país, Corti y col. [24] detectaron el genoma del VEB por HIS e IHQ en el 100% de los pacientes HTLV1 seropositivos con LH en los que esta prueba estuvo disponible.

En conclusión, los linfomas en pacientes con enfermedad HTLV1/sida pueden presentarse en cualquier estadio de la enfermedad. En esta serie pudimos comprobar que el desarrollo de los LNH se asocia con mayor deterioro inmunológico en comparación con la enfermedad de Hodgkin. El subtipo histológico y el estadio clínico al momento del diagnóstico son

marcadores de valor pronóstico. Globalmente, la asociación patogénica con el VEB para ambos tipos de linfomas superó el 70% en los pacientes incluidos en esta evaluación.

El diagnóstico definitivo de leucemia/linfoma de células T del adulto requiere la demostración de la integración monoclonal de HTLV-1 [5]; sin embargo, la prueba confirmatoria de clonalidad viral no está disponible en el país y es difícil practicarla en tejido incluido en bloques de parafina; esta prueba en sangre solo se hace con fines de investigación [6]. En otros laboratorios de referencia, el diagnóstico hematopatológico de Estados Unidos y Europa, la prueba de clonalidad viral no se practica de forma rutinaria y a pesar de esto se hacen diagnósticos de leucemia/linfoma de células T del adulto, basados usualmente en las características morfológicas y fenotípicas de la enfermedad, y en la presencia de anticuerpos para HTLV-1/2 mediante la técnica ELISA.

A pesar del aspecto morfológico característico en ambos pacientes y teniendo en cuenta que los dos casos procedían de zonas geográficas con conocida circulación del virus, el diagnóstico de leucemia/linfoma de células T del adulto no se sospechó clínicamente. Lo anterior nos permite inferir que la prevalencia real de esta enfermedad en nuestro país esta subestimada, sumado a la muerte temprana de estos pacientes sin estudios de histopatología. Se sabe que la epidemiología del HTLV-1 se caracteriza por un agrupamiento geográfico; la infección es endémica en la Costa del Pacífico en Colombia, en el sur de Japón, en África y algunas áreas del Caribe [18].

El conocimiento preciso de la naturaleza y etiología de este tipo de neoplasias tiene implicaciones tanto para el pronóstico como para el tipo de tratamiento que se debe suministrar al paciente; de igual forma, es importante hallar la prevalencia de la infección con el fin de diseñar estrategias que favorezcan la prevención de la transmisión viral en la población, incluyendo medidas como impedir la lactancia materna en mujeres infectadas con el HTLV-1, hacer pruebas de tamización a todos los donantes de sangre, al igual que en donantes de órganos para trasplantes, entre otras. Con este propósito, también, se debería incluir la prueba de tamización para HTLV-1 entre las pruebas de control prenatal en áreas endémicas.

Aunque en nuestro medio existen limitaciones diagnósticas al carecer de pruebas específicas, la sospecha termina siendo la principal herramienta del personal clínico que se enfrenta a casos

como los descritos en este reporte; entonces, es esencial conocer la epidemiología de la infección porque puede ser el eslabón determinante para el diagnóstico.

El primer indicio de una asociación entre VEB y la enfermedad de Hodgkin proviene de la observación de que la mononucleosis infecciosa es un factor de riesgo para esta forma de linfoma. Posteriormente, en algunos casos de mononucleosis infecciosa se hallaron células de Reed-Sternberg mientras que en aproximadamente el 40% de los tumores de Hodgkin se comprobó la presencia de VEB clonal (hasta el 80% en los países en desarrollo). Aunque no existen diferencias obvias que indiquen que la enfermedad de Hodgkin con positividad o negatividad para el VEB sean entidades diferentes, hay datos que indican que la mononucleosis infecciosa es un factor de riesgo solo para la enfermedad de Hodgkin VEB positiva.

Los tumores VEB positivos expresan los genes virales EBNA-1, LMP-1 y LMP-2 del programa de transcripción por omisión, programa que es usado por las células B de los centros germinales infectadas en forma latente. Los genes de las inmunoglobulinas de las células de Reed-Sternberg son hipermutados en la misma medida que las células B de los centros germinales. Por lo tanto, sostienen los autores, las mutaciones de las inmunoglobulinas y los datos sobre la expresión genética viral avalan en forma independiente la idea de que la enfermedad de Hodgkin surge de las células B de los centros germinales que están infectadas con el VEB.

La presencia de VEB en cerca del 40% de los tumores descartaría la posibilidad de una asociación del virus con la enfermedad de Hodgkin, pero este concepto no tiene en cuenta el hecho de que el número de células infectadas con el VEB es extremadamente elevado en la mononucleosis infecciosa (están infectadas hasta el 50% de todas las células B de memoria). Por lo tanto, dicen, más que el mismo VEB, el factor de riesgo para la enfermedad de Hodgkin es la alteración inmunológica de la mononucleosis infecciosa y existe una alta probabilidad de que las células premalignas de los centros germinales tengan VEB ocasional.

Una situación razonable para la asociación del VEB con la enfermedad de Hodgkin es que las células B de los centros germinales sufren una mutación durante la mononucleosis infecciosa que bloquea su diferenciación. Si coincide que esas células también contienen VEB, se

convertirán en células de los centros germinales que constitutivamente expresen LMP-1 y LMP-2. Luego, el virus puede ser transportado por un pasajero ocasional o, lo que es más probable, la expresión constitutiva de LMP-1 y LMP-2 mostrará señales de crecimiento y supervivencia que favorecen el crecimiento tumoral.

El VEB fue descubierto hace 40 años en las células tumorales de los pacientes con linfoma de Burkitt, pero su participación en el desarrollo de este tumor sigue siendo un enigma. La lesión genética que se halla en el linfoma de Burkitt es la activación desequilibrada del oncogen c-myc debido a la traslocación recíproca con un gen de inmunoglobulina. El linfoma de Burkitt tiene el mismo patrón de hipermutación del gen de inmunoglobulina que las células B de los centros germinales y las células B de memoria, pero tiene el fenotipo celular de una célula del centro germinal.

La evidencia más importante de la participación del VEB en el linfoma de Burkitt es la alta frecuencia de tumores que contienen el virus en las áreas endémicas (98%) y la presencia de VEB clonal en todas las células tumorales. No hay una explicación satisfactoria de cómo el VEB participa en la patogenia del linfoma de Burkitt. No se expresa ninguno de los genes latentes promotores del crecimiento y la única proteína latente del virus presente es la EBNA-1. De acuerdo con los conocimientos actuales, los autores sostienen que el fenotipo EBNA-1 solo está presente en las células no tumorales cuando una célula de memoria con infección latente que expresa el programa de latencia se divide. Este mecanismo muestra la posibilidad de que el linfoma de Burkitt aparezca en el caso de que la traslocación del gen c-myc ocurra en una célula del centro germinal infectada con el VEB y que está en vías de convertirse en una célula de memoria. Esta célula expresaría normalmente el programa de latencia pero, dependiendo del gen c-myc activado, lo que hace es detenerse en el modo proliferativo y por lo tanto expresar constitutivamente solo la EBNA-1. El mantenimiento del fenotipo del centro germinal en este tumor presunto de células de memoria puede explicarse por el hecho que un gen c-myc activado aportará a la célula infectada con el VEB un fenotipo del centro germinal si no se expresan los genes promotores del crecimiento viral. Esta explicación implica que el virus esté presente en las células tumorales solo por azar, como un pasajero. Sin embargo, es difícil descifrar el origen de los tumores sobre la base del fenotipo del tumor en su estadio final.

Dado que la formación de un tumor es un proceso de pasos múltiples que ocurre durante lapsos prolongados, es prácticamente imposible saber cómo se relaciona en forma directa el fenotipo celular final o viral del linfoma de Burkitt con el precursor infectado original.

CONCLUSIONES

- ✓ La expresión diferencial de genes y antígenos virales permitió establecer un valor de corte en el porcentaje de células tumorales EBERs+ para determinar un caso como LDGCB VEB+, y refleja la necesidad de establecer un consenso definitivo sobre este valor para poder precisar la prevalencia de dicha entidad en diferentes poblaciones a nivel internacional.
- ✓ La frecuencia del VEB en nuestra serie de LDGCB en pacientes mayores de 50 años fue similar a la descrita en algunas poblaciones de Asia y Latinoamérica, y diferente a lo observado en poblaciones de Europa y Estados Unidos, lo cual coincide con una potencial variación geográfica observada en otras neoplasias VEB+.
- ✓ El perfil de latencia II y/o III presente en los 3 grupos etarios coincide con lo descrito previamente en los estudios basados exclusivamente en adultos mayores de 50 años, y refleja un déficit similar en los 3 grupos en el control del VEB por parte del sistema inmune.
- ✓ Se describió por primera vez en LDGCB VEB+ la expresión conjunta de genes y antígenos líticos y de latencia, lo cual sugiere que en estos casos el VEB posee un rol muy activo en el desarrollo tumoral.
- ✓ La presencia del VEB y la expresión de sus genes estuvo asociada a un microambiente citotóxico activado, que sin embargo, no sería eficiente en controlar la infección.
- ✓ A pesar de ciertas particularidades observadas entre los extremos de la vida para algunos marcadores específicos, la ausencia de diferencias en la composición y funcionalidad del microambiente tumoral en relación con la edad cuestiona la teoría de la inmunosenescencia y su rol en la patogénesis del LDGCB VEB+.
- ✓ En todos los casos de LDGCB, VEB+ y VEB- prevaleció el marcador PD-1, que refleja en cierta medida el entorno inhibitorio predominante en el microambiente tumoral.
- ✓ Se observó una tendencia a una menor SLE en los casos VEB+, que requeriría ser confirmada en un estudio multicéntrico para corroborar si el virus tiene implicancias en la evolución clínica de los pacientes con LDGCB.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hofmann Ronald et al. "Hematology Basic Principles and Practice" 3rd edition, Philadelphia United States 2000; 1214-1217.
2. Middeldorpp JM et al; Pathogenic roles for VEB gene products in VEB- associated proliferative disorders. Critical reviews in **Oncology Hematology** 2003; 45 (1): 1-36.
3. Baumforth KRN, et al. The Epstein-Barr virus end its association with human cancers. **Mol Pathol** 1999; 52: 307-322.
4. Mandell Douglas y Benett. "Enfermedades infecciosas Principios y práctica" 5a Edición, Editorial Panamericana, Buenos Aires Argentina, Mayo 2002.Voll Parte III Sección A,1954-1966.
5. Sampla J. et al. Epstein-Barr virus type 1 and 2 differ in the EBNA-3A, EBNA 3B, and EBNA-3C genes. **J Virol** 1990; 64: 4084-4092.
6. Baumforth KRN et al, The VEB and its association whit human cancers; **J Clin Pathol Molec Pathol** 1999; 52: 307-322.
7. Thompson MP et al. Epstein-Barr virus and Cancer. **Clinical Cancer Research** 2004; 10: 803-821.
8. Ralf Kùppers; B Cells Under Influence: Transformation of B Cells by Epstein-Barr Virus. **Nature Reviews Immunology** 3: (October 2003); 801-810.
9. Rowe D. Epstein-Barr virus immortalization and latency. **Front Biosci** 1999; 4: 346-371.
10. Takada K and Nambo N. The role of the EBERs in oncogenesis. **Semin. Cancer Biol** 2001; 11: 461-467.
11. MiddletonT and Sdgen B. Retention of plasmid DNA in mammalian cells is enhanced by binding of the Epstein-Barr virus replication protein EBNA 1. **J Virol** 1994; 68: 4067-4071.
12. Young LS and Murray PG. Ebstein-Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumors. **Oncogene** 2003; 22: 5108-5121.
13. Gahn T and Scildkraut C. The Epstein-Barr virus origin of plasmid replication, ori P, contains both the initiation and termination sites of DAN replication. **Call** 1989; 58: 527-535.
14. Ambinder R. Epstein- Barr virus associated lymphoproliferative disorders. **Rev Clin Exp Hematol** (December 20053); 74: 362-374.

15. Sharon L. Silins et al; Asymptomatic primary Epstein-Barr virus infection occurs in the absence of blood T-cell repertoire perturbations despite high levels of systemic viral load. **Blood** 2001; 98(13): 3739-3744.
16. Nonkwelo C, Ruf I and Sample J. Interferon independent and induced regulation of Epstein-Barr virus EBNA 1 gene transcription in Burkitt's lymphoma. **J Virol** 1997; 71: 6887-6897.
17. Ambinder R et al. Definitions of the sequence requirements for binding of the EBNA 1 protein to its palindromic target sites in Epstein-Barr virus DNA. **J Virol** 1990; 54: 2369-2379.
18. Kaiser C. et al. The proto-oncogene c-myc is a direct target gene of Epstein-Barr virus nuclear antigen 2, **J Virol** 1999; 73: 4481-4484.
19. Wensing B and Farrell P.J. Regulation of cell growth and death by Epstein-Barr virus. **Microb Infect** 2000; 2: 77-84.
20. Szekely L et al. EBNA-5, Epstein-Barr encoded nuclear antigen, binds to the retinoblastoma and proteins. **Proc Natl Acad Sci USA** 1993; 90: 5455-5459.
21. Niedobitek G., Meru N. and Delecluse H.J.; Epstein-Barr infection and human malignancies. **J Exp Path** (2001); 82: 149-170.
22. Allday MJ and Farrell PJ. Epstein-Barr virus nuclear antigen EBNA 3C/6 expression maintains the level of latent membrane protein 1 in G1-arrested cells. **J Virol** 1994; 68: 3491-3498.
23. Farrell, P.J. Signal transduction from the Epstein-Barr virus LMP1 transforming protein. **Trends Microbiol** 1998; 6:175-177.
24. Gire O. et al. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus mimics a constitutively active receptor molecule. **EMBO J** 1997; 16: 6131-6140.
25. Etiopoulus, A., et al; CD 40 induced growth inhibition in epithelial cells is mimicked by Epstein-Barr virus –encoded LMP1: involvement of TRAF3 as a common mediator. **Oncogene** 1996; 13: 2243-2254.
26. Cesarman E, Mesri EA; Virus-associated lymphomas; **Curr Opin Oncol** (September 1999); 11(5): 322-32.
27. Izumi K and Kieff E. The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis associated death domain protein to mediate B lymphocyte growth transformation and NF- κ B activation. **Proc Natl Acad Sci USA** 1997; 94:12592-12597.

28. Thompson, M.P.; et al; Autocrine lymphotoxin production in Epstein-Barr virus-immortalized B cells: induction via NF- κ B activation mediated by VEB-derived latent membrane protein 1. *Leukemia (Baltimore)*. 2003; 17: 2196.
29. Fries K. et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 blocks p53-mediated apoptosis through the induction of A20 gene. *J Virol* 1996; 70: 8653-8659.
30. Reth M. Antigen receptor tail clue. *Nature (London)* 1989; 338: 383-384.
31. Sixbey JW et al. Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. *NEJM* 1984; 310: 1225-1230.
32. Babcock GJ. Epstein-Barr virus in memory B cells In vivo. *Immunity* 1998; 395-404.
33. Nemerow G. et al; Identification and characterization of Epstein-Barr virus receptor on human B lymphocytes and its relationship to Cd3 complement receptor(CR2). *J Virol* 1985; 55: 347-351.
34. Sung N. et al. EBNA 2 transactivate a lymphoid-specific enhancer in the Bam HI C promoter of Epstein-Barr virus. *J Virol* 1991; 65: 2164-2169.
35. Allday M, Crawford D. and Griffin B. Epstein-Barr virus latent gene expression during the initiation of B cell immortalization. *J Gen Virol* 1989; 70: 1755-1764.
36. David A. Thorley-Lawson and Andrew Gross; Persistence of the Epstein-Barr Virus and the Origins of Associated Lymphomas. *NEJM* (25 March 2004). 350; 13: 1328-1335.
37. Shouichi Ogha; Immunological aspects of VEB infection. *Critical reviews in Oncology Hematology* (December 2002). 44; 3: 203-215.
38. Herbst, H. et al. Epstein-Barr virus in CD30 malignant lymphomas. *Crit Rev Oncol* 1993; 4:191-239.
39. Gledhill S. et al. Viral involvement in Hodgkin's disease: detection of clonal type A Epstein-Barr virus genomes in tumor samples. *Br J Cancer* 1991; 64: 227-232.
40. L. N. Chapman and A. B. Rickinson; Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease. *Annals of Oncology* 1998; 9 suppl 5: S5-S16.
41. Jarrett R. et al. Detection of VEB genomes in Hodgkin's disease: relation to age. *J Clin Pathol (London)* 1991; 44:844-848.
42. Boyle M. et al. Subtypes of Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease: association between B type VEB and immunocompromise. *Blood* 1993; 81: 468-474.

43. Lee S. et al. Conserved CLT epitopes within VEB latent membrane protein 2: a potential target for CTL-based tumor therapy. **J Immunol** 1997; 158: 3325-3328.
44. Matsuda M. et al. IL-10 pre-treatment protect target cells from tumor-specific and allo-specific cytotoxic T cells and downregulates HLA class I molecules. **J Exp Med** 1994; 180: 2371-2377.
45. Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. **J Mol Diagn** 2001; 3: 1-10.
46. Cohen J.I; Epstein-barr infection. **NEJM** 2000; 343: 481-492.
47. Lyons S. and Liebowitz D. The role of human viruses in the pathogenesis of lymphoma. **Semin Oncol** 1998; 25: 461-475.
48. Ruf, I.; et al, Epstein-Barr virus regulates c-myc , apoptosis and tumorigenicity in Burkitt's lymphoma. **Mol Cell Biol** 1999; 19: 1651-1660.
49. Ingrid K. Ruf et al; Epstein-Barr Virus Regulates c-MYC, Apoptosis; and Tumorigenicity in Burkitt Lymphoma. *Molecular and Cellular Biology* (March 1999); 19 (3): 1651-1660.
50. Norihiko Kitagawa et al; Epstein-Barr virus-encoded poly(A)- RNA supports Burkitt's lymphoma growth through interleukin- 10 induction. **The EMBO Journal** 2000; 19; 24: 6742-6750.
51. Weis L. et al. Detection and localization of Epstein-Barr viral genomes in angioimmunoblastic lymphadenopathy-like lymphomas. **Blood** 1992; 79: 1789-1795.
52. d'Amore F. et al. Epstein-Barr virus genome in non-Hodgkin's lymphomas occurring in immunocompetent patients: highest prevalence in non lymphoblastic T cell lymphoma and correlation with a poor prognosis. **Blood** 1996; 87: 1045-1055.
53. Elaine S. Jaffe et al; Extranodal Peripheral T-Cell and NK-Cell Neoplasms. **Am J Clin Pathol** 1999; 111; suppl 1: S46-S55.
54. Tao Q. et al. Epstein-Barr virus is localized in the tumor cells of nasal lymphomas of NK, T or B cell type. **Int J Cancer** 1995; 60: 315-320.
55. Ho J. et al. Frequent detection of Epstein-Barr virus-infected B cell in peripheral T-cell lymphomas. **J Patol** 1998; 185: 79- 85.
56. Ho J. et al. Differential cytokine expression in VEB positive peripheral T-cell lymphomas. **J Clin Pathol** (Lond.) 1999; 52: 269-274.

57. A W Loren et al; Post-transplant lymphoproliferative disorder: a review. **Bone Marrow Transplantation** 2003; 31: 145-155.
58. Knowles DM. The molecular genetics of post-transplantation lymphoproliferative disorders. Springer Semin. **Immunopathol** 1998; 20: 357-373.
59. Tanner J, Weis J, Fearon D, Whang Y, Kieff E. Epstein-Barr virus gp350/220 binding to the B lymphocyte C3d receptor mediates absorption, capping, and endocytosis. **Cell** 1987; 50: 203-213.
60. RF Ambinder. Epstein-Barr virus associated lymphoproliferations in the AIDS setting European **Journal of Cancer** 2001; 37: 1209-1216.
61. Jutta K. Preiksaitis and Susan Keay; Diagnosis and Management of Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid- Organ Transplant Recipients. **Clinical Infectious Diseases** 2001; 33; suppl 1: S38-S46.
62. Larocca L. et al. The molecular and phenotypic profile of primary central nervous system lymphoma identifies distinct categories of the diseases and is consistent with histogenetic derivation from germinal center- related B cells. **Blood** 1998; 92: 1011-1019.
63. Carbone A. et al. Human immunodeficiency virus associated systemic lymphomas may be subdivided into two main types according to Epstein-Barr virus gene expression. **J Clin Oncol** 1993; 11:1674-1681.
64. Shigeru T, Diagnosis of VEB-associated diseases; Critical reviews in **Oncology Hematology** 2002; 44 (3): 227-238.
65. Brengel-Pesce K et al. Routine use of real-time PCR for laboratory diagnosis of Epstein-Barr virus infection. **J of Medical Virology** 2002; 66: 360-369. 54 **HEMATOLOGIA • Volumen 9 - N° 2, 2005**
66. Fafi-Kremer S. et al. Assessment of automated DNA extraction coupled with real-time PCR for measuring Epstein-Barr virus load in whole blood, peripheral mononuclear cells and plasma. **J Clin Virology** 2004; 30: 157-164.
67. Kanegane H; Nomura K; Miyawaki T et al. Biological aspects of Epstein-Barr virus-infected lymphocytes in chronic active VEB and associated malignancies. Critical reviews in **Oncology Hematology** 2002; 44 (3): 239-249.

68. Marco Herling et al; Absence of Epstein-Barr Virus in Anaplastic Large Cell Lymphoma: A study of 64 Cases Classified According to World Health Organization Criteria. **Human Pathology** 2004; 35(4): 455-459.

69. G- Jeffrey I. Cohen; Benign and Malignant Epstein-Barr Virus- Associated B-Cell Lymphoproliferative Diseases. **Seminars in Hematology** 2003; 40 (2):116-123.

70. Rifat Hamoudi et al. Distinct cellular origins of primary effusion lymphoma with and without VEB infection. **Leukemia Research** 2004; 28: 333-338.

-71 **Connors J.** Linfoma de Hodgkin. [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=13310&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Linfoma-de-Hodgkin&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedade(s)/grupo_de_enfermedades=Linfoma-de-Hodgkin&title=Linfoma-d)

[Disease_Search.php?lng=ES&data_id=13310&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Linfoma-de-Hodgkin&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedade\(s\)/grupo_de_enfermedades=Linfoma-de-Hodgkin&title=Linfoma-d](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=13310&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Linfoma-de-Hodgkin&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedade(s)/grupo_de_enfermedades=Linfoma-de-Hodgkin&title=Linfoma-d)
Hodgkin&search=Disease_Search_Simple (octubre 2012)

- 72 **Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.** *Bot PLUS WEB.* <https://botplusweb.portalfarma.com/> 1 El medicamento MabcampathR fue retirado de la Union Europea en 2012, por motivos comerciales (EMA, 2012).

- 73 **European Medicines Agency (EMA).** AdcetrisR. European Public Assessment Report (EPAR). EMA/495929/2012; EMEA/H/C/002455.

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002455/WC500135054.pdf

- 74 **Horwitz SM, Advani RH, Bartlett NL, Jacobsen ED, Sharman JP, O'Connor OA, Siddiqi T, Kennedy DA, Oki Y.** Objective responses in relapsed T-cell lymphomas with single-agent brentuximab vedotin. *Blood.* 2014; 123(20): 3095-100. doi: 10.1182/blood-2013-12-542142.

- 75 **Novelli Canales S, García Cadenas I.** Terapeutica farmacologica de los canceres hematologicos. En: *Terapéutica farmacológica de los trastornos neoplásicos e inmunológicos.* Consejo General de Colegios Oficiales de Farmaceuticos. Madrid; 2011. p. 189-220.

- 76 **Perini GF, Pro B.** Brentuximab Vedotin in CD30+ Lymphomas. *Biol Ther.* 2013; 3: 15-23.

ANEXOS

Evaluación

Sustentantes

Dra. Jandery Espinal Aquino

Asesores:

Dra. Esmedalys Romero (clínico)

Dra. Claridania Rodríguez (Metodológico)

Jurados

Autoridades

Dr. Cesar Augusto Matos Moronta

Jefe Departamento

Dr. Pedro Sing

Coordinador Residencia

Dr. John González

Jefe de enseñanza e investigaciones científicas

Dr. José Javier Asilis Záiter

Decano Facultad Ciencias de la Salud

Fecha de presentación: _____

Calificación: _____