



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

**INFECCIÓN POR VIRUS LINFOTRÓPICOS EN PACIENTES CON LINFOMA DE
BURKITT DEL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS,
PERÍODO 2009- 2018.**

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

Autor:

Casas Goñas, Jhoysi Maria del Carmen

Asesor interno:

Salas Asencios, Ramsés

ORCID: 0009-0002-3635-7354

Asesor externo:

Cancino Maldonado, Karina

ORCID: 0000-0002-6343-8785

Jurados:

Rodrigo Rojas, María Elena

Murrugarra Bringas, Victoria Ysabel

Mayanga Herrera, Ana Lucía

Lima- Perú

2023

DEDICATORIA

A mi familia, A mis padres Lina y Luis.

A mis hermanos Jamila y Jeremy.

AGRADECIMIENTOS

Al equipo de Banco de Tejidos Tumorales. Al Dr. Sandro Casavilca por introducirme y orientarme en la oncología. A mi asesora Mg. Karina Cancino por guiarme en el desarrollo de este trabajo. Al Mg. Ruddy Liendo por el apoyo en la estandarización de los procesos. Al PhD Juan Pablo Cerapio por la contribución de esta tesis y un agradecimiento especial a Mauricio Ramal y Brayan Félix por su compañía y amistad.

Agradezco al profesor Ramsés Salas por el apoyo durante mi formación académica y desarrollo de la presente tesis.

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1 Descripción y formulación del problema	9
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo General.....	12
1.3.2 Objetivos específicos.....	12
1.4 Justificación	12
1.5 Hipótesis	13
II. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1 Linfoma de Burkitt.....	14
2.1.1 Epidemiología.....	14
2.1.2 Histopatología	15
2.1.3 Inmunofenotipo.....	16
2.1.4 Genética	16
2.1.5 Características clínicas y pronóstico.....	17
2.2 Virus linfotrópicos.....	18
2.2.1 Virus Epstein Barr (EBV).....	19
2.2.2 Virus del Sarcoma de Kapossi (HHV-8).....	23
2.2.3 Virus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1).....	26
III.MÉTODO.....	29
3.1 Tipo de Investigación	29
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	29
3.3 Variables	29
3.4 Población y muestra	30
3.5 Instrumentos	30
3.6 Procedimientos	31
3.7 Análisis de datos	34
3.8 Consideraciones éticas	34

IV. RESULTADOS	36
4.1 Base de datos	36
4.2 Estandarización de la PCR convencional para la detección de genes virales	39
4.3 Verificación del diagnóstico y selección del tejido tumoral	40
4.4 Extracción del ADN a partir de muestras de tejido en parafina.	42
4.5 Aplicación de la PCR convencional en muestras clínicas	42
V. DISCUSIÓN	44
VI. CONCLUSIONES	49
VII. RECOMENDACIONES	50
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS	51
IX. ANEXOS	65
Anexo A: Ficha de recolección de datos.	65
Anexo B: Carta de aprobación del comité revisor de INEN	66
Anexo C: Carta de aprobación del comité de ética de INEN	67
Anexo D: Porcentaje tumoral en la evaluación histológica.	68
Anexo E: Cuantificación de ADN.	69

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo determinar la presencia de infección por virus linfotrópicos en pacientes con Linfoma de Burkitt, así como describir las características epidemiológicas y patológicas de los pacientes con Linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) durante el 2009-2018. La población del estudio estuvo conformada por 88 casos retrospectivos con diagnóstico de Linfoma de Burkitt que presentaron características epidemiológicas y patológicas similares a lo reportado en la literatura. Se realizó la prueba de detección de virus linfotrópicos: virus de Epstein-Barr (EBV), Virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1) y Herpesvirus humano 8 (HHV-8) en una muestra de 20 casos, de los cuales se pudo detectar la infección del EBV en 9 casos (45%) mediante PCR convencional. No se encontró la infección de HTLV-1 ni HHV-8 en los casos evaluados.

Palabras clave: Infección, EBV, HTLV-1, HHV-8, Linfoma de Burkitt, INEN.

ABSTRACT

The aim of this thesis was to determine the presence of lymphotropic virus infection in patients with Burkitt's lymphoma, as well as to describe the epidemiological and pathological characteristics of patients with Burkitt's lymphoma treated at the National Institute of Neoplastic Diseases during 2009-2018. A total of 88 retrospective Burkitt's lymphoma cases with epidemiological and pathological characteristics similar to those reported in the literature were included in our study. EBV was detected by conventional PCR in nine of 20 (45%) cases tested for lymphotropic viruses (Epstein-Barr virus, human T-cell lymphotropic virus type 1 and human herpesvirus 8). There was no evidence of HTLV-1 or HHV-8 infection in the evaluated cases.

Keywords: Infection, EBV, HTLV-1, HHV-8, Burkitt's lymphoma, INEN.

I. INTRODUCCIÓN

Se conoce como Linfoma No-Hodgkin (LNH) a un conjunto de enfermedades que afectan el sistema linfático, el origen exacto no se ha determinado, sin embargo; está asociado a cambios genéticos adquiridos y factores de riesgo como las infecciones virales. Una de estas enfermedades es el Linfoma de Burkitt (LB), que afecta a las células B de centro germinal y es altamente agresivo (Aldoss et al., 2008). Según el tipo histológico, el LB representa el 1.8% de los LNH en población peruana (Alegria Valdivia et al., 2012).

En la actualidad, son escasos los estudios que describen de manera detallada el LB en el Perú. Algunos estudios retrospectivos consideran únicamente factores de riesgo y pronósticos, así como algunas variables clínicas. Por ejemplo, Padilla et al. (2011), reportan únicamente 5 pacientes con LB de un total de 433 pacientes con Linfoma en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, entre los años 1998-2008. El estudio más reciente en donde se describe las características clínicas de 2 casos de pacientes con LB ha sido reportado en el año 2012 (Alegria et al., 2012), y ha evaluado un total de 114 casos de linfomas No-Hodgkin en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza entre los años 2005 y 2009.

Los virus linfotrópicos, son aquellos que presentan una afinidad (tropismo) hacia las células linfoides. Se ha planteado el rol de los virus linfotrópicos en la génesis de linfomas (Beltramino et al., 2005). El rol de los virus linfotrópicos en el desarrollo de linfomas ha sido establecido hace varios años, como por ejemplo la asociación del EBV con el linfoma de Burkitt y sus variantes (Magrath, 2012; Bornkamm, 2009; Molyneux, et al. 2012). Así mismo, el HHV-8 es considerado agente causal del Sarcoma de Kaposi,

y asociado a la Enfermedad de Castleman multicéntrica y Linfoma de Efusión Primario (Evia, 2012). HTLV-1 es el agente etiológico de la leucemia/linfoma de células T del adulto (Medina et al., 2013; Ponce, E., & Asunción, 2021); a pesar de infectar a las células T, el virus ha sido asociado a los Linfomas no Hodgkin de células B (Beltran et al., 2012).

1.1 Descripción y formulación del problema

A nivel nacional, existen escasos reportes sobre la prevalencia de virus linfotrópicos en linfomas. Uno de ellos reporta la infección por HTLV-1 y EBV en casos de linfoma B difuso de células grande, y sugieren que ambos podrían promover la disfunción de células T y B, así como la señalización anti-apoptótica, proliferación celular, y favorecer la linfomagénesis (Beltran et al., 2012). Sin embargo, no se ha reportado algún estudio en el Linfoma de Burkitt. Tomando en consideración lo mencionado anteriormente, se deriva la siguiente pregunta:

¿Existe infección por virus linfotrópicos en pacientes con linfoma de Burkitt del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, años 2009-2018?

1.2 Antecedentes

Pannone et al. (2014) reportaron la asociación entre el (EBV) y el desarrollo de LB en Italia, evaluaron las características clínico-patológicas de 48 casos de LB entre el 2003 al 2013. Encontraron 40 casos pediátricos (de 3 a 12 años) y 8 adultos (de 18 a 87 años). En el grupo de pacientes pediátricos, la proporción masculino: femenino (M: F) fue de 4:1, mientras que en el grupo adultos de 1:1.67. En su estudio la detección de EBV se realizó mediante la expresión de la proteína latente de membrana 1 (LMP1) por inmunohistoquímica e hibridación *in situ* (EBER). LMP-1 se encontró expresado en 18 de

38 pacientes evaluados, mientras que los análisis de hibridación *in situ* demostraron 16 positivos de 26 casos evaluados. En la población adulta, la detección se realizó únicamente en 4 casos y solo 1 expresó LMP-1, este caso en particular era el de un paciente peruano masculino de 37 años que presentó además la desregulación del oncogén MYC (translocación 8q24) (Pannone et al., 2014).

Stefan y Lutchman (2014) realizaron un estudio epidemiológico en el cual describieron a 51 pacientes pediátricos de 2 a 14 años con LB entre los años 1995 y 2010 en la Unidad de Oncología del Hospital Tygerberg en la Ciudad del Cabo, Sudáfrica Central. La población estaba conformada por 40 pacientes masculinos y 11 femeninos, en una proporción M: F de 3.6 a 1. Además, reportaron que la región más común del tumor primario es la abdominal con un 76.4%, mientras que el 11.7% se presentó en la región cabeza/cuello (mandíbula) y el 3.9% en la región pélvica. Dicho estudio también determinó el estadio de la enfermedad utilizando el sistema de estadificación de Murphy, para Linfoma No-Hodgkin (LNH) en población infantil, los estadios más frecuentes resultaron ser el III y IV. Los autores también determinaron la infección por el virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) en 15 pacientes, donde 6 tuvieron un resultado positivo (11% del total de pacientes) y fueron clasificados como enfermedad por VIH en estadio 4, según lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Adicionalmente, mencionan que el 50.9% de los pacientes residía en un entorno urbano y el 47.1% en un entorno rural.

Los resultados de estas dos investigaciones motivan analizar las mismas variables en la población peruana.

En 1964, el Virus de Epstein Barr (EBV) fue identificado a partir de una línea celular derivada a partir de linfoma de Burkitt, mediante el uso de microscopía electrónica

(Bornkamm, 2009). Existen tres variantes o formas de LB: endémica (eLB), esporádica (sLB) y asociada a la inmunodeficiencia, que se diferencian por sus características clínicas y epidemiológicas (Stefan y Lutchman, 2014). La presencia constante del virus en pacientes con eLB de África, reveló por primera vez el rol de un virus en la etiología de un cáncer humano. A partir de ese momento se ha estimado que el EBV se encuentra en hasta el 95% de células neoplásicas eLB, el cual se presenta generalmente en niños más pequeños con masas tumorales a nivel mandibular y a menudo se extiende al sistema nervioso central. También se conoce la asociación del EBV a las otras dos variantes de linfoma de Burkitt, con la variante esporádica (alrededor del 20%) y con la asociada a la inmunodeficiencia (40 - 50%). (Stefan y Lutchman, 2014; Kovrigina, 2018) Además, el EBV tipo A (cepa sin delección de 30 pb en el gen LMP1) se ha asociado con el Linfoma extranodal de células NK / T, tipo nasal en población latinoamericana (Montes et al., 2020). Sugieren que EBV podría tener un rol indirecto en el desarrollo del LB, debido a que las proteínas de latencia que produce podrían immortalizar los linfocitos B y evitando su destrucción por apoptosis, o favoreciendo la aparición de eventos transformantes en las células (Schmitz et al., 2014).

En África, lugar donde se origina el linfoma de Burkitt endémico (eLB), se reporta un estudio cuyo objetivo fue investigar el papel de la coinfección EBV-HHV-8 en los casos de eLB en la población pediátrica. En este estudio el HHV-8 se presenta en el 13.3% de pacientes pediátricos con eLB, los niños con doble viremia de EBV-HHV8 tenían copias de ADN de HHV-8 significativamente más bajas en comparación con los niños sin ADN de EBV detectable, se propuso un modelo de interacción de convergencia que respalda la supresión de la reactivación viral cruzada, pues el EBV parece suprimir la reactivación de HHV-8, pues la observación sugiere que, durante la replicación viral, las respuestas mediadas por células, pero no por anticuerpos, juegan un papel importante en el control de

las infecciones persistentes por gammaherpesvirus (Oluoch et al., 2020). Estos resultados muestran la asociación de la coinfección del EBV-HHV8 con el linfoma de Burkitt, que será uno de los objetivos de esta investigación en la población peruana.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

-Determinar la presencia de infección por virus linfotrópicos pacientes con Linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el 2009-2018.

1.3.2 Objetivos específicos

-Describir las características epidemiológicas, patológicas de los pacientes diagnosticados con Linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el 2009-2018.

- Determinar la infección de EBV, HTLV-1 y HHV-8 mediante la estandarización y validación de un protocolo de PCR convencional en pacientes con diagnóstico de Linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el 2009-2018.

1.4 Justificación

De acuerdo al reporte de GLOBOCAN (2018), la incidencia y mortalidad de Linfoma No Hodgkin (LNH) en el Perú es de 5% y 4%, respectivamente. Además, se ha registrado que entre los años 2013 y 2015 el LNH fue la sexta causa de muerte por cáncer en Lima Metropolitana (Payet Meza et al., 2021). Existen alrededor de 30 subtipos de LNH, de los

cuales alrededor de 90% pertenecen al grupo de linfomas y procesos linfoproliferativos de células B donde se encuentra situado el Linfoma de Burkitt.

Hasta el momento, diferentes estudios internacionales han reportado la asociación de diferentes virus con los linfomas humanos, así como la potencial participación de sus genes virales en el proceso neoplásico, No obstante, a nivel nacional existen escasos reportes similares, uno de ellos es el de Beltrán et al. quienes en el 2012 determinaron la asociación de HTLV-1 y EBV con el linfoma difuso de células grande B. Sin embargo, no se ha reportado en el linfoma de Burkitt. EBV se encuentra presente en el 90% de la población mundial y, además, se ha asociado en la población peruana con el 10% de cáncer gástrico (Heslop, 2005; Chumpitaz, 2018). HTLV-1 es un virus endémico para el Perú (Gotuzzo et al., 2004), puesto que entre el 2% y 10% de la población adulta se encuentra infectada, y la infección por el HHV-8 es hiperendémica en donantes de sangre peruanos (56.25%) (Mohanna et al., 2007). Por estas razones, es necesario determinar la infección por virus linfotrópicos en el Linfoma de Burkitt de la población peruana.

1.5 Hipótesis

Existe infección por virus linfotrópicos en pacientes con Linfoma de Burkitt del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, años 2009-2018.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Linfoma de Burkitt

El Linfoma de Burkitt (LB) es un subtipo de LNH, y es considerado una neoplasia de células B provenientes del centro germinal y con una alta tasa de proliferación (Molyneux et al., 2012; Plata S et al., 2018).

2.1.1 Epidemiología

Existen tres variantes o formas de LB: endémica (eLB), esporádica (sLB) y asociada a la inmunodeficiencia, que se diferencian por sus características clínicas y epidemiológicas (Stefan y Lutchman, 2014).

A. Linfoma de Burkitt endémico. eLB representa del 30 al 50% de todos los cánceres infantiles en África ecuatorial con una incidencia estimada de 3 a 6 casos por 100.000 niños por año. (Magrath, 2012; Stefan y Lutchman, 2014) La incidencia máxima ocurre en niños de 4 a 7 años (Pone et al., 2014).

Epidemiológicamente, el LB es originario de África Ecuatorial y Nueva Guinea, regiones palúdicas holoendémicas (donde esencialmente toda la población padece la enfermedad) por lo cual se describe que la variante endémica presenta una incidencia del 95% del EBV y a la vez coincide con la distribución geográfica de la malaria endémica (*Plasmodium falciparum*), Generalmente, se encuentra asociada a la región mandibular y en muchas ocasiones con diseminación al sistema nervioso central y/o médula ósea (Magrath, 2012).

B. Linfoma de Burkitt esporádico. El sLB se diagnostica en países desarrollados, es la tercera neoplasia linfoide infantil común en niños menores de 15 años en Europa y América

del Norte. En Estados Unidos presenta una incidencia anual de 2.5 casos por millón de personas (Mbulaiteye et al., 2009). La incidencia máxima durante la edad pediátrica ocurre en niños de 11 años, mientras en adultos, se observa en pacientes menores de 35 años, con una mediana de edad en el momento del diagnóstico de 30 años (Pannone et al., 2014). sLB presenta una asociación del 20% con el EBV (Bornkamm, 2009). Se encuentran representados por masas intraabdominales y los tumores de la mandíbula son raros en la variante esporádica (Pannone et al., 2014).

C. Linfoma de Burkitt asociado al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

La variante de LB asociada a inmunodeficiencia se encuentra frecuentemente en pacientes infectados con el VIH y en menor frecuencia con otras causas de inmunodeficiencia, como en pacientes post-trasplante o aquellos con terapia inmunosupresora. Esta variante afecta principalmente a los ganglios linfáticos periféricos y a la médula ósea (Molyneux et al., 2012). Casi la mitad de los pacientes (40 - 50%) de LB asociado al VIH son positivos para el EBV (Stefan y Lutchman, 2014).

2.1.2 Histopatología

El linfoma de Burkitt, presenta células neoplásicas uniformes y de tamaño pequeño a mediano con núcleos redondos, similares o más pequeños a los de los histiocitos, y nucléolos múltiples, el citoplasma es profundamente basófilo, moderadamente abundante; puede mostrar una ligera retracción después de la fijación con formalina y contiene vacuolas lipídicas. Además, las células neoplásicas muestran un patrón de crecimiento monótono difuso, un recuento mitótico elevado y una fracción apoptótica elevada. Hay numerosos macrófagos corporales hormigueantes mezclados, que fagocitan abundantes desechos apoptóticos y crean un patrón de “cielo estrellado” (Pannone et al., 2014).

2.1.3 Inmunofenotipo

Independientemente del subtipo o variante de LB, en todos los casos sus células expresan inmunoglobulina M (IgM) de superficie monotípica; antígeno de células B, por ejemplo; cluster de diferenciación 10, 19, 20, 22 y 79a (CD10, CD19, CD20, CD22 y CD79a), y la proteína 6 del Linfoma de células B (Bcl-6), pero es negativo para CD5, CD23, CD138, transferasa desoxirribonucleotídica terminal (Tdt) y la proteína 2 del Linfoma de células B (Bcl2), en este último se muestra débilmente positivo en casi el 20% de los casos, generalmente pacientes adultos (McClure et al., 2005; Pannone et al., 2014). Generalmente, presentan un alto índice de crecimiento (>95%), evidenciado mediante el marcador inmunohistoquímico Ki-67 (Aldoss et al., 2008). Se puede diferenciar por sus características fenotípicas y moleculares, así como por un índice de proliferación más alto en comparación a lo que se observa generalmente en LDCBG (Braziel et al., 2001).

2.1.4 Genética

La desregulación de la expresión del gen *MYC* juega un rol clave a nivel molecular en el desarrollo del Linfoma de Burkitt, se encuentra asociada a una translocación recíproca t(8:14) que se produce entre el oncogén *MYC* y el gen de la cadena pesada de la inmunoglobulina H (IgH), y se encuentra en aproximadamente en casi todos los casos de LB. (S. M. Smith et al., 2010). A la vez se han reportado translocaciones t(2; 8) o t(8; 22), que involucran cadenas ligeras kappa y lambda, respectivamente, sin embargo, son menos comunes (Grimm y O'Malley, 2019).

C-MYC codifica una transcripción básica de hélice-bucle-hélice (bHLH) factor que se une al ADN de una manera específica de secuencia. *C-MYC* es considerado como un protooncogén debido a que promueve un crecimiento celular descontrolado de las células cancerosas, pero en un contexto normal el gen codifica un factor de transcripción que participa

en diferentes procesos, como la proliferación, crecimiento y diferenciación celular, así como en la apoptosis (Hecht y Aster, 2000).

En la 4ª edición de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de los tumores de los tejidos hematopoyéticos y linfoides, proponen una entidad provisional allinfoma tipo Burkitt con aberración 11q, se identifica como casos que histológicamente y inmunofenotípicamente se asemeja al linfoma de Burkitt, pero carece de la característica del reordenamiento de C-MYC y en su lugar muestran un cariotipo complejo que incluye aberraciones de 11q (Grimm y O'Malley, 2019; Kovrigina, 2018). Sin embargo, en la 5ª edición de la Clasificación de la OMS de tumores hematolinfoides: neoplasias linfoides, el linfoma tipo Burkitt con aberración 11q está incluido como una variante del linfoma de células B grandes (Alaggio et al., 2022)

Entre los linfomas de Burkitt, MYC se expresa en todas las variantes del LB (endémico, esporádico y relacionado con la inmunodeficiencia), y generalmente ocurre como resultado de translocaciones equilibradas, como se discutió en detalle anteriormente. La presencia del marcador C-myc es fundamental para el diagnóstico, pero no es específico para el linfoma de Burkitt, debido a que también se encuentra asociado con el linfoma difuso de células grandes B (LDCGB), Linfoma Folicular (FL), linfoma de células del manto, células T linfoma, linfoma plasmablastico y leucemia linfocítica crónica (S. M. Smith et al., 2010).

2.1.5 Características clínicas y pronóstico

El estadio clínico representa un factor pronóstico, que es estadísticamente significativo y se realiza utilizando el sistema de estadificación de Ann Arbor o, más a menudo, el sistema de estadificación de St Jude / Murphy (Pannone et al., 2014). El estadio I de Ann Arbor es la afectación de una única región ganglionar (I) y cuando involucra a un sitio extraganglionar se añade E (I-E). El estadio II, es la afectación de dos o más regiones ganglionares en el mismo

lado del diafragma (II); el estadio III, cuando hay afectación de regiones linfáticas ganglionares a ambos lados del diafragma (III), que pueden estar acompañadas por afectación extraganglionar (III-E) o esplénica (III-S) o de ambas (III-ES), y estadio IV, si la afectación es difusa o diseminada de uno o más órganos extraganglionares distantes, con o sin afectación asociada de los ganglios linfáticos, por ejemplo: hígado, médula ósea, pulmón (Manuel Pérez-Zúñiga et al., 2018; Valiero, 2013). Se estima que el 30% de los pacientes presentan enfermedad en estadio limitado (I o II), mientras que el 70% presenta enfermedad diseminada (estadio III o IV). Los pacientes suelen presentar una enfermedad voluminosa, una alta carga tumoral debido a su breve tiempo de duplicación y un alto riesgo de diseminación al sistema nervioso central (SNC) y la médula ósea. El linfoma de Burkitt, históricamente se clasificó como un linfoma de células pequeñas no hendidas en pacientes con un tumor sólido o una masa ganglionar y una minoría de pacientes presenta enfermedad leucémica, previamente clasificada como Leucemia Linfocítica Aguda (Blum et al., 2004).

Los linfomas de Burkitt esporádicos y asociados a inmunodeficiencia no comparten la sensibilidad exquisita de los linfomas de Burkitt endémicos a la quimioterapia, por lo que se considera que el pronóstico ha sido malo, particularmente entre los pacientes adultos. Existen ciertos factores clínicos asociados con un peor resultado en adultos y niños, como, por ejemplo, edad avanzada; un peor pronóstico se asocia con la edad mayor de 15 años en pacientes pediátricos, estadio avanzado, estado funcional deficiente, enfermedad voluminosa, lactato deshidrogenasa (LDH) alta y afectación del sistema nervioso central o de la médula ósea. Por otro lado, un buen pronóstico se asocia con enfermedad abdominal resecable (Pannone et al., 2014).

2.2 Virus linfotrópicos

Los virus linfotrópicos, son aquellos que presentan una afinidad (tropismo) hacia las células linfoides. Se ha planteado el rol de los virus linfotrópicos como agentes etiológicos en

el desarrollo de LNH, siendo los más representativos el virus de Epstein–Barr (EBV), el Herpesvirus Humano tipo 8 (HHV-8), y el virus Linfotrópico Humano de células T–tipo 1 (HTLV-1) (Beltramino et al., 2005).

2.2.1 Virus Epstein Barr (EBV)

En 1958 el EBV fue descrito por primera vez en África a partir de masas tumorales del linfoma de Burkitt y en 1964 el EBV fue aislado a partir de un cultivo de células del LB mediante microscopía electrónica, dando a entender la asociación del virus con la neoplasia (Epstein et al., 1967). Años más adelante, se demostró que EBV es considerado como el agente causal de la enfermedad de la mononucleosis infecciosa. Estudios posteriores han demostrado que el EBV está asociado con una variedad de tumores humanos, incluidas las neoplasias malignas de células B como la enfermedad de Hodgkin y la enfermedad linfoproliferativa que surge en pacientes inmunosuprimidos, algunos linfomas de células T y tumores epiteliales como el cáncer gástrico. Todos estos tumores se caracterizan por la presencia de múltiples copias extracromosómicas del genoma viral circular en las células tumorales y la expresión de los genes latentes codificados por EBV, que parecen contribuir al fenotipo maligno (Young y Rickinson, 2004).

2.2.1.1 Biología y estructura del EBV

El EBV o también conocido como Herpesvirus Humano 4 (HHV-4), según la nomenclatura tradicional para los herpesvirus, pertenece al género *Lymphocryptoviridae*, subfamilia *Gammaherpesvirinae* subtipo gamma 1; y es caracterizado por un tropismo hacia los linfocitos B y por su capacidad de transformarlos (Young y Rickinson, 2004).

El EBV es un virus con ADN lineal de aproximadamente 172 kb, que codifica aproximadamente 100 proteínas virales (Terranova et al., 2020).

2.2.1.2 Mecanismo y fases de la infección del EBV

La entrada del virus a las células B requiere del proceso de endocitosis antes de la fusión de la membrana para escapar de la endosoma. La envoltura de virión EBV presenta las glicoproteínas gp350 y gp220 que se unen al receptor del complemento tipo 2 (CD21) de las células B (Tanner et al., 1996) y recientemente se ha identificado la capacidad de una segunda cepa del virus, EBV tipo 2, para infectar células T periféricas maduras. (N. A. Smith et al., 2020). Tras la fijación del virus a las células B, una segunda molécula, gp42, es escindido en su dominio transmembrana, generando una proteína soluble (parte de un complejo trimolecular con las proteínas de fusión gp85 / gp25 y gp110) que se une con su receptor, el Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II (MHC-II), siendo este un paso determinante para la entrada del virus a las células B (Li et al., 1997; Plata et al., 2018)

Uno de los mecanismos de infección de células epiteliales, es a través de una ronda intermedia de replicación en las células B, para que luego el virus pueda acceder a sus objetivos epiteliales permisivos. Por otro lado, otro mecanismo estudiado demuestra que después de la unión del EBV a las células B primarias, la mayoría de los viriones permanece en la superficie de las células B y desde allí pueden transferirse eficientemente a las células epiteliales negativas para CD21, aumentando la infección epitelial. Esta transferencia se asocia con la formación de conjugados epiteliales de células B con complejos gp350 / CD21 enfocados en la sinapsis intercelular; la transferencia involucra las glicoproteínas virales gp85 y gp110, pero es independiente de gp42 (Shannon-Lowe et al., 2006).

En su ciclo lítico, la mayoría de las proteínas virales se expresan, pero la respuesta inmune del huésped las mantiene bajo control. El ciclo lítico suele ocurrir durante la primoinfección o la reactivación de la infección y se caracteriza por la expresión de todos los marcos de lectura abiertos del genoma viral. Durante esta fase, el material genético es transportado al núcleo y se replica gracias a la ADN polimerasa viral (Plata et al., 2018).

Existen tres tipos de productos génicos líticos:

- Los genes inmediatos *BZLF1* y *BRLF1*, codifican para Zta y Rta, respectivamente. Son los responsables del cambio del ciclo de latencia al ciclo lítico, su activación desencadena una cascada de eventos que conllevan a la expresión secuencial de proteínas virales tempranas y tardías del ciclo lítico (Lorenzetti, 2012; Nakayama et al., 2009; Plata et al., 2018).
- La transcripción de los genes tempranos es inducida por los transactivadores inmediatos, lo cual lleva a la producción de diversas enzimas, que en su mayoría participan en el proceso de replicación viral (Lorenzetti, 2012; Plata et al., 2018; Rivailler et al., 2002). Uno de estos genes es *BHRF1* codifica una proteína homóloga al protooncogén humano Bcl-2 linfocitario, que se encarga de prevenir la muerte celular por apoptosis en la fase lítica, estabilizando el potencial de la membrana mitocondrial (Desbien et al., 2009).
- Los productos génicos tardíos codifican proteínas requeridas para el ensamblaje, maduración y liberación del virus del ciclo lítico (Aubry et al., 2014). Un gen tardío importante para la evasión de la respuesta inmune del hospedador es *BCRF1*, que codifica a una proteína homóloga a la IL-10 humana, capaz de inhibir la función de las células T, la activación de macrófagos, la síntesis de IFN- γ , y de interferir con la lisis mediada por células NK (Hsu et al., 1990; Plata et al., 2018).

En cuanto al ciclo de latencia, hasta el momento se conocen 3 tipos de latencia en función del patrón de expresión génica:

- La latencia tipo I, en la que se expresa el antígeno nuclear de Epstein-Barr I (EBNA-1), se le atribuye su función durante la replicación, así como el mantenimiento del episoma y dos pequeños ARN poliadenilados (EBER), se encuentran en alta concentración (hasta 10^7 copias por célula) (Howe y Steitz, 1986), generalmente este tipo de latencia se asocia con el Linfoma de Burkitt y el linfoma de células B grande difuso (Medina-Ortega et al., 2017).
- La latencia tipo II, el virus expresa EBNA-1, EBER y las proteínas de membrana latente (LMP), LMP-1, proteína integrada en la membrana plasmática considerada como oncoproteína por su capacidad de transformar a las células B y epiteliales al reducir la respuesta a las señales de diferenciación normal e incrementando su capacidad invasiva en la matriz colágena (Dantuma y Masucci, 2003; Middeldorp et al., 2003; Santiago Puertas, 2010).
- LMP-2A y LMP-2B, son codificados por dos ARN mensajeros diferentes, pero transcritos a partir del mismo gen. Las estructuras de LMP2A y LMP2B son similares; ambos tienen 12 dominios transmembrana y un extremo C citoplásmico de 27 aminoácidos; además, LMP2A tiene un dominio amino terminal citoplásmico (Longnecker, 2000; Lorenzetti, 2012). Contiene un inmunoreceptor activador de tirosina similar al de la célula B (BCR) para la supervivencia celular mas no para la proliferación (Fruehling y Longnecker, 1997) LMP-2B está involucrada de la regulación de LMP-2A (Rechsteiner *et al.*, 2008). Este patrón de latencia tipo II se ha asociado con el linfoma de Hodgkin, los Linfoma No-Hodgkin de células T/NK y con el carcinoma nasofaríngeo (Medina-Ortega et al., 2017).

- La latencia tipo III da como resultado la expresión de todo el repertorio de EBV, incluidos EBNA, EBER y LMP, y se observa en personas inmunocomprometidas que sufren trastornos linfoproliferativos posteriores al trasplante y trastornos linfoproliferativos asociados con el VIH/SIDA (Medina-Ortega et al., 2017).

2.2.1.3 Epidemiología de la infección del EBV

Se estima que en países en vías de desarrollo más del 90 % de los niños se infectan con EBV (generalmente ocurre durante la primera infancia y es asintomática.); mientras que, en países desarrollados, la infección primaria se presenta en más del 50 % de los casos a edades más tardías (adolescencia y adultez) (Medina-Ortega et al., 2017). Cuando ocurre en la adolescencia o más tarde, puede asociarse con el síndrome clínico de la mononucleosis infecciosa, dicha enfermedad suele durar unos días, aunque la recuperación completa puede llevar varias semanas. Las manifestaciones clínicas típicas son fiebre, faringitis, linfadenopatía y fatiga (Vetsika y Callan, 2004). El mecanismo de transmisión del EBV se lleva a cabo por la saliva, la sangre, el contacto sexual, los trasplantes o de manera vertical.

2.2.2 Virus del Sarcoma de Kaposi (HHV-8)

El virus del herpes humano 8 (HHV-8) es la causa infecciosa relacionada sarcoma de Kaposi (KS) y otras enfermedades proliferativas, como por ejemplo; linfoma de efusión primaria y enfermedad multicéntrica de Castleman (Martínez Rodríguez y Kourí Cardellá, 2008; Rohner et al., 2014).

2.2.2.1 Biología y estructura del HHV-8

El HHV-8, es un herpesvirus de la subfamilia *Gammaherpesvirinae* y es considerado como el único Radinovirus humano identificado hasta la actualidad (Martínez

Rodríguez y Kourí Cardellá, 2008). Es un virus envuelto, que presenta un arreglo icosaédrico en la cápside, con un diámetro aproximado de 110nm. Su genoma está formado por una molécula de ADN de doble cadena de 160 a 170 kb, formado por una región única grande en la que se han identificado hasta el momento 100 marcos de lectura abiertos (Martínez Rodríguez y Kourí Cardellá, 2008; Pyakurel et al., 2007).

2.2.2.2 Mecanismo y fases de la infección del HHV-8

HHV-8, infecta a células endoteliales, linfocitos T y, principalmente, linfocitos B. En las lesiones del sarcoma de Kaposi se observa proliferación de células endoteliales, angiogénesis que estaría inducida por citocinas y factores de crecimiento (Gabriel et al., 2019). El ADN de HHV-8 se detecta en células B de los tipos CD19+/CD20+ y CD14+ y, con menor frecuencia, en células endoteliales CD34+ de derrames pleurales asociados al SK, se conoce que en los pacientes inmunocompetentes infectados, dicha detección es más difícil e infrecuente (Ortiz De Lejarazu et al., 2004). Persisten en sus huéspedes por medio de una combinación de replicación lítica limitada y células infectadas de manera latente, desde las que el virus, puede reactivarse periódicamente para asegurar la transmisión y el mantenimiento del santuario de latencia (Martínez Rodríguez & Kourí Cardellá, 2008; Ortiz De Lejarazu et al., 2004).

El HHV-8 presenta ADN circular durante la infección latente y lineal durante la fase lítica (Ortiz De Lejarazu et al., 2004).

- El HHV-8 puede permanecer en fase latente como una estructura episómica nuclear, en algunas células se encuentra en niveles indetectables, como, por ejemplo; en los linfocitos B y monocitos circulantes que sirven de reservorio para el virus generalmente se encuentra en forma latente (Martínez Rodríguez y Kourí Cardellá, 2008; Ortiz De Lejarazu et al., 2004). Los genes específicos virales

latentes bien demostrados en pacientes con sarcoma de kaposi infectados por HHV-8 son el antígeno nuclear latente (LANA-1), la ciclina viral (v-ciclina), la v-FLIP y la kaposina, una pequeña proteína de membrana de utilidad como herramienta de diagnóstico debido a la abundante transcripción y expresión (Martínez Rodríguez y Kourí Cardellá, 2008; Ortiz De Lejarazu et al., 2004; Pyakurel et al., 2007)

- La fase lítica del virus puede llevarse a cabo en el 10 a 15% de las células infectadas como, por ejemplo; en las células de sangre periférica, en las células de los tejidos de sarcoma de Kaposi, así como, los monocitos circulantes pueden llevar el virus a los tejidos y, después de la exposición a las citoquinas proinflamatorias, pasan al proceso de infección lítica y transmiten el virus a otras células (Martínez Rodríguez y Kourí Cardellá, 2008; Ortiz De Lejarazu et al., 2004).

Los genes virales comunes que se encuentran durante la expresión lítica incluyen la proteína transmembrana K1, v-GCR, v-IRF, v-IL-6 y v-MIP (Pyakurel et al., 2007; Schulz, 2000).

2.2.2.3 Epidemiología de la infección del HHV-8

Según los estudios de seroprevalencia de HHV-8, existe una variación entre diferentes regiones geográficas y subpoblaciones. En Uganda, país donde el sarcoma de Kaposi es endémico, se han reportado tasas de seroprevalencia del HHV-8 del 50% para la población general (Biryahwaho et al., 2010; Rohner et al., 2014) . Por otro lado, se ha reportado tasas de seroprevalencia del 6% o menos para los EE. UU (Engels et al., 2007).

En Perú, se ha determinado la seroprevalencia del 56%, por lo cual indican que la infección por HHV-8 es hiperendémica en los donantes de sangre peruanos (Mohanna et al., 2007).

El mecanismo de infección viral se lleva a cabo por transmisión sexual en varones homosexuales y bisexuales, donde los mayores factores de riesgo para adquirir el virus son: la coinfección del VIH y múltiples parejas sexuales. Por otro lado, se ha reportado la infección viral se puede llevar a cabo de manera no sexual, por vía vertical, registrándose el contacto de persona a persona, por ejemplo, por saliva, por transfusión sanguínea y también el uso compartido de drogas intravenosas (Roberto y Evia, 2012).

2.2.3 Virus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1)

El virus linfotrópico de células T del humano (HTLV) es considerado como el primer retrovirus asociado a enfermedad en humanos en ser descubierto, aislado por primera vez en 1979 por Poiesz y colaboradores en una línea de células T derivada de un paciente con linfoma cutáneo de células T, (Poiesz et al., 1980) y posteriormente en 1981, Yoshida y colaboradores (1982) detectaron al virus en un paciente con leucemia de células T del adulto.

2.2.3.1 Biología y estructura del HTLV-1

HTLV-1 es un retrovirus que se encuentra en el género *Deltaretrovirus*, en la subfamilia *Orthoretrovirinae* (Vásquez T., 2003) y cuenta con una estructura redondeada, envuelta por una bicapa proteolipídica (Rivera-Caldón et al., 2017). Presenta una cápside con forma icosaédrica y su nucleocápside tiene aproximadamente 100 nm de diámetro; que contiene integrasas, transcriptasa inversa y proteasas. HTLV-1 tiene su genoma compuesto por dos cadenas simples de ARN con polaridad positiva, formadas por aproximadamente 9032 nucleótidos, que incluyen genes como gag, pro, pol y env, que codifican para diversas proteínas esenciales para el funcionamiento viral (Rivera-Caldón et al., 2017).

2.2.3.2 Mecanismo y fases de la infección del HTLV-1

HTLV-1 infecta una amplia variedad de células, como linfocitos, monocitos y fibroblastos. (Afonso *et al.*, 2019) HTLV-1 se transmite a través del contacto célula-célula con incubación a largo plazo (Igakura *et al.*, 2003). La entrada de HTLV-1 a las células, depende de las interacciones, como, por ejemplo; la envoltura viral del HTLV-1 interactúa inicialmente con los proteoglicanos de sulfato de heparina, seguido de la formación de un complejo con neuropilina-1 y el transportador de glucosa-1, lo que da como resultado la fusión (Jones *et al.*, 2005; Mohanty y Harhaj, 2020).

- La oncoproteína TAX de HTLV-1, es considerada una de las más relevantes, debido a que desempeña funciones claves en la persistencia y latencia viral, pues interactúa con las proteínas celulares del huésped para poder regular la expresión de genes virales y también promueve la activación de las vías de señalización como NF- κ B y así impulsar la proliferación clonal y la supervivencia de las células T portadoras del provirus HTLV-1. Se describe que en las células cancerosas, existe una pérdida de equilibrio entre la división celular y la muerte celular debido a vías de señalización desreguladas (Mohanty y Harhaj, 2020).
- Se considera que HTLV-1 casi siempre se encuentra dentro de las células hospederas humanas, siendo un motivo por el cual la carga viral del HTLV-1 en plasma es indetectable; no obstante; la carga proviral es considerada la proporción de células mononucleares de sangre periférica contiene el ADN del HTLV-1 (Gotuzzo Herencia *et al.*, 2010; Rivera-Caldón *et al.*, 2017).

2.2.3.3 Epidemiología de la infección del HTLV-1

HTLV-1 es endémico en Japón, el sur de los Estados Unidos, el centro de Australia, el Caribe, Jamaica, América del Sur y África ecuatorial. Se considera que alrededor de 5 a 10 millones de personas están infectadas con HTLV-1 en todo el mundo. Aunque la

mayoría de las personas infectadas son asintomáticas (portadoras), HTLV-1 es causante de enfermedades relacionadas después de una infección latente persistente, como leucemia de células T adultas, mielopatía/paraparesia espástica tropical asociada a HTLV-1 y uveítis en humanos (Tezuka et al., 2020).

El principal mecanismo de transmisión de HTLV-1 se lleva a cabo de manera vertical (Uchuya Trocones, R. R., y Zavaleta Carranza, 2022), a través de la leche materna. También se reporta la transmisión por las relaciones sexuales y las transfusiones sanguíneas (Gotuzzo *et al.*, 2004). Según estudios japoneses, resaltan que los portadores de HTLV-1 que presentan la infección durante la infancia es considerado como un factor de riesgo potencial para el desarrollo de la leucemia de células T adultas (Hino, 2011).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de Investigación

Estudio descriptivo, observacional de una serie de casos retrospectivos.

3.2 Ámbito temporal y espacial

El desarrollo de la investigación se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del Banco de Tejidos Tumorales del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el período 2020-2021.

3.3 Variables

Tabla 1

Variables de estudio

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipos de variables	Escala de medición	Valores finales	Instrumento de medición
Linfoma de Burkitt	Subtipo de linfoma, que afecta a las células B.	Se considera al subtipo de Linfoma de células B.	Cualitativa	Nominal	-	Ficha de recolección de datos
Detección de EBV	Infección de células por EBV	Se considera la infección por EBV a la presencia en el tejido en parafina	Cualitativa	Nominal	1. presencia 2. ausencia	termociclador
Detección de HTLV-1	Infección de células por HTLV-1	Se considera la infección por HTLV-1 a la presencia en el tejido en parafina	Cualitativa	Nominal	1. presencia 2. ausencia	termociclador
Detección de HHV-8	Infección de células por HHV-8	Se considera la infección por HHV-8 a la presencia en el tejido en parafina	Cualitativa	Nominal	1. presencia 2. ausencia	termociclador
Edad	Edad en años que tiene el paciente al momento del diagnóstico.	Registro de la edad en años	cuantitativo	De razón	0 - 90 años	Ficha de recolección de datos

Sexo	Condición orgánica que diferencia al hombre y mujer	Registro del sexo	Cualitativa	nominal	1. masculino 2. femenino	Ficha de recolección de datos
Lugar de nacimiento	Lugar de nacimiento del paciente	Registro del departamento de nacimiento	Cualitativa	nominal	Departamentos del Perú	Ficha de recolección de datos
lugar de residencia	Lugar de vivienda del paciente	Registro del departamento de procedencia	Cualitativa	nominal	Departamentos del Perú	Ficha de recolección de datos
Localización tumoral	Lugar donde se desarrolla inicialmente el linfoma	Lugar del cáncer	Cualitativa	nominal	1. cabeza y cuello, 2. abdominal, 3. tórax, 4. inguinal	Ficha de recolección de datos
Estadio clínico	describe el grado de diseminación del tumor	Se considera el estadio Ann Arbor (en número romanos)	Cualitativa	ordinal	1. I, 2. II, 3. III, 4. IV	Ficha de recolección de datos
compromiso nodal	Extensión de la enfermedad	Compromiso nodal aquella que afecta al tejido linfoide, y enfermedad extranodal a cualquier otro compromiso fuera de estas localizaciones	Cualitativa	nominal	1. nodal 2. Extranodal	Ficha de recolección de datos
Marcadores inmunohistoquímicos	Reacción de anticuerpos a fin de determinar si hay ciertos antígenos en una muestra de tejido.	CD20, CD3, BLC6, BCL2, CMYC	Cualitativa	nominal	1. reactivo 2. no reactivo	Ficha de recolección de datos

3.4 Población y muestra

La base de datos estuvo constituida por una población de 85 pacientes con diagnóstico anatomopatológico de linfoma de Burkitt del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas del periodo 2009-2018. La muestra estuvo conformada por 20 bloques de tejido parafinado obtenidas del archivo de INEN.

3.5 Instrumentos

- Microscopio óptico de campo claro

- Espectrofotómetro UV-VIS (Nanodrop 2000c)
- Termociclador (Biorad CFX96)

Reactivos

- Kit de Extracción de ADN a partir de muestras parafinadas (kit blackPREP FFPE Analytc Jena)
- Master Mix (GoTaq® Colorless Master Mix- Promega Corporation)
- Etanol absoluto (Merck)
- Agua Ultra Pura (Invitrogen)
- TAE 10X (Invitrogen)
- Agarosa (Invitrogen)
- Colorante de ácidos nucleicos (SYBR Safe DNA Gel Stain (Thermo Fisher Scientific))

3.6 Procedimientos

A. *Generación de la base de datos.* Se recolectó en una base de datos las características epidemiológicas, patológicas de pacientes con diagnóstico de Linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, durante el periodo 2009-2018. (Anexo 1)

· *Características epidemiológicas:* la edad (al momento del diagnóstico), sexo, lugar de nacimiento, lugar de procedencia.

Características patológicas: la localización del tumor y si este presenta compromiso nodal, estadio clínico según clasificación Ann Arbor y los marcadores inmunohistoquímicos CD20, CD3, B1-6, CD10, Tdt y Ki-67. Adicionalmente, se considerará el marcador inmunohistoquímico c-Myc, utilizado en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas a partir del 2014

B. Selección de los cebadores. Para determinar la calidad de la extracción de ADN y ausencia de inhibidores, se utilizaron los cebadores para la amplificación del gen constitutivo humano ACTG. Para la determinación de cada uno de los virus, se utilizaron los cebadores específicos previamente reportados utilizando los siguientes genes diana: *EBNA-1* y *BHRF1* para EBV, el gen *TAX* para HTLV-1 y *ORF73* para HHV-8, pero con diferente protocolo y reactivos (Tabla 2), por lo que fue necesaria la siguiente etapa.

Tabla 2

Secuencias de los genes virales

Virus	gen	sentido	Secuencia	Producto	Referencia
EBV	<i>EBNA-1</i>	Forward	GCCGGTGTGTTTCGTATATGG	213 pb	(Brink et al., 1998)
		Reverse	CAAAACCTCAGCAAATATATGAG		
	<i>BHRF1</i>	Forward	GGAGATACTGTTAGCCCTG	208 pb	(Jourdan et al., 2012)
		Reverse	GTGTGTTATAAATCTGTTCCAAG		
HHV-8	<i>ORF73</i>	Forward	GGTGATGTTCTGAGTACATAGCG	143 pb	(Moens et al., 2009)
Reverse	CCGAGGACGAAATGGAAGTG				
HTLV-1	<i>TAX</i>	Forward	CTCCTTCCCCACCCAGAGA	148 pb	(Lallemand et al., 2000)
Reverse	GGGTGGGTTCCATGTATCCATT				

C. Verificación del diagnóstico y selección del tejido tumoral. Se colectaron los bloques de parafina de pacientes con linfoma de Burkitt (biopsias y piezas operatorias) desde el 2009 al 2018, del archivo de patología del INEN. Para la verificación del diagnóstico se realizaron cortes de 3 μ m en el micrótopo, y se fijaron en láminas porta objetos de vidrio. Luego, se realizó una tinción de Hematoxilina-Eosina. Las muestras fueron revisadas por el médico patólogo del INEN y se seleccionaron aquellas con porcentaje no menor a 70% de células neoplásicas.

D. Estandarización de la PCR convencional para la detección de genes virales. Para la estandarización de la PCR convencional se usó el kit comercial GoTaq® Colorless Master Mix (Promega Corporation) que sugiere el programa de amplificación: una denaturación inicial a 95°C por 2 minutos, una denaturación posterior entre 30 y 60 segundos. Sugiere optimizar las condiciones de hibridación realizando la reacción comenzando aproximadamente 5°C por debajo de la temperatura de fusión calculada de los cebadores y aumentando la temperatura en incrementos de 1°C hasta la temperatura de hibridación. Una extensión entre 72-74°C y una extensión final por 5 minutos.

Se usó como control positivo ADN a partir de muestras clínicas infectadas confirmadas previamente por ensayo de hibridación *in situ* y ensayos serológicos. Como control negativo se usó ADN humano sin infección. Como blanco se usó agua libre de nucleasas.

- *Temperatura de hibridación.* - Se realizó una PCR de gradiente de temperaturas para determinar la temperatura óptima de hibridación de cada par de cebadores.
- *Concentración de cebadores.* - Se evaluó las siguientes concentraciones 100nM, 150nM, 200nM y 250nM para cada par de cebadores.
- *Concentración de ADN.* – Tomando en consideración que la recuperación de ADN a partir de muestras de bloques de parafina fue compleja, se evaluó las concentraciones desde los 50 nanogramos hasta los 600 nanogramos de ADN.

Los productos de PCR se evidenciaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% en tampón TAE 1X a 80 V durante 1 hora.

E. Extracción del ADN a partir de muestras de tejido en parafina. Se tomaron 10 cortes de 10 µm de grosor del tejido previamente seleccionado. Para el proceso de extracción de ADN se utilizó el kit comercial blackPREP FFPE DNA de Analytik Jena. Los cortes se colocaron en tubos de 1.5 mL. Se siguió el protocolo según el fabricante. La concentración y la pureza de ADN total de las muestras previamente purificadas se determinó por lectura de densidad óptica a 260/280 nm en espectrofotómetro (Nanodrop 2000c).

F. Aplicación de la PCR convencional estandarizada en muestras clínicas. -Luego de la estandarización se procedió a la aplicación de la PCR convencional en las muestras clínicas colectadas y seleccionadas. En cada PCR se consideró un control positivo, control negativo y un blanco. Los productos de PCR se evidenciaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% en tampón TAE 1X a 80 V durante 1 hora. Las muestras infectadas con virus fueron enviadas a secuenciar por el método de Sanger. Se analizaron los electroferogramas en el programa BioEdit (v7.0) en donde se alinearon con la secuencia de referencia descargada del *National Center for Biotechnology Information*.

3.7 Análisis de datos

La base de datos fue evaluada en el programa estadístico SPSS (v22.0). Se describieron las variables mediante frecuencia, medias y medianas. Para la distribución de pacientes con Linfoma de Burkitt por departamentos del Perú se elaboró un mapa en el software Arcgis (v10.5).

3.8 Consideraciones éticas

El presente estudio involucró la participación de información de las pacientes obtenidas a partir de las historias clínicas y muestras biológicas de seres humanos almacenadas en el archivo del Departamento de Patología de INEN.

Este estudio forma parte del proyecto titulado "PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR VIRUS LINFOTRÓPICOS EN LINFOMAS DE CÉLULAS B AGRESIVOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS, 2009-2018" el cual cuenta con aprobación del comité revisor del departamento de investigación (CARTA N° 077-2020-CRPI-DI-DICON/INEN, Anexo 1), y del comité de ética del INEN.

La información clínica se codificó y guardó de manera anónima en una base de datos de uso exclusivo para la presente investigación.

IV. RESULTADOS

4.1 Base de datos

Entre los años 2009 y 2018, se identificaron 88 pacientes con diagnóstico de linfoma de Burkitt en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) de acuerdo al diagnóstico anatomopatológico. Los pacientes se encontraban en un rango de edad de 2 a 75 años (Tabla 3), la relación hombre: mujer en la población fue de 3.2:1.

En la tabla 4 se observa que la localización del tumor fue principalmente en la región abdominal (39/88), seguido de la localización cabeza y cuello (33/88) con mayor afección al compromiso nodal (48/88). El estadio clínico con mayor frecuencia fue el III con 38.6% seguido del IV con 35.2% del total de la población.

Tabla 3

Características sociodemográficas en pacientes con Linfoma de Burkitt.

Sexo (%)	
Masculino	67 (76.2%)
Femenino	21 (23.8%)
Edad	
Mediana	23
Media \pm d.s.	26 \pm 19.4
Rango	[2 - 75]

d.s.: desviación estándar

Los marcadores usados por inmunohistoquímica para el diagnóstico patológico fueron CD3, CD10, CD20, bcl-2, bcl-6 y Tdt. En todos los casos CD20, CD10, bcl-6 se observó positivo, mientras que CD3 y Tdt, negativos. Se observaron variaciones en los marcadores bcl-2 descritos en la tabla 5. El marcador inmunohistoquímico c-Myc ha sido incorporado como herramienta de diagnóstico en el INEN a partir del 2014, y por esta

razón únicamente 22 pacientes han sido evaluados, de los cuales 19 presentaron la proteína.

Tabla 4

Características clínico-patológicas en pacientes con Linfoma de Burkitt.

Localización del tumor (%)	
Abdomen	39 (44.3%)
Cabeza y cuello	33 (37.4%)
Pelvis	7 (8%)
Tórax	7 (8%)
Múltiples regiones	2 (2.3%)
Compromiso Nodal (%)	
Nodal	48 (54.5%)
Extranodal	38 (43.2%)
No especificado	2(2.3%)
Estadio clínico (%)	
I	2 (2.3%)
II	8 (9.1%)
III	34 (38.6%)
IV	31 (35.2%)
No especificado	13 (14.8%)

Tabla 5

Marcadores de inmunohistoquímica en pacientes con Linfoma de Burkitt.

Marcadores Inmunohistoquímicos	positivo	negativo
CD20	80/80	0/80
CD3	0/75	75/75
CD10	56/56	0/56
bcl-6	67/67	0/67
bcl-2	4/56	52/56
Tdt	0/27	27/27

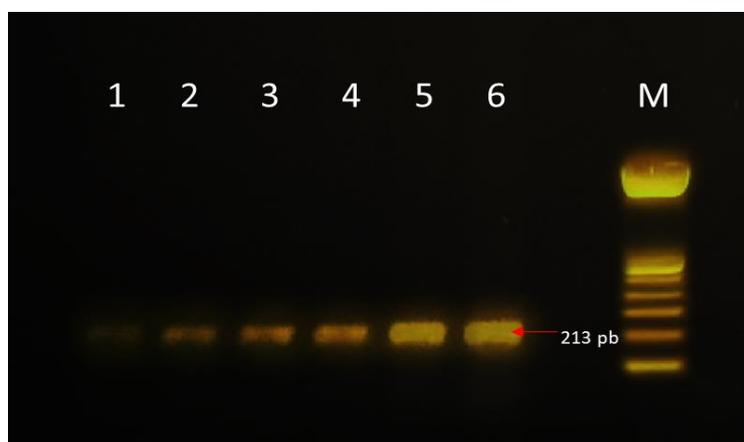
En la figura 1 se observa que los departamentos con mayor frecuencia de casos con linfoma de Burkitt son: Lima con 29 casos (33%) seguido de Piura con 11 (13%). Asimismo, se observa que los otros departamentos del Perú presentan de 1 a 5 casos.

4.2 Estandarización de la PCR convencional para la detección de genes virales

A partir de las diluciones seriadas del ADN para la amplificación del gen *EBNA-1* (Figura 2), se optó por usar concentración de 250ng/μL. Las mismas diluciones se aplicó todos los genes virales.

Figura 2

Fotografía de gel de agarosa 1.5% TAE 1X.

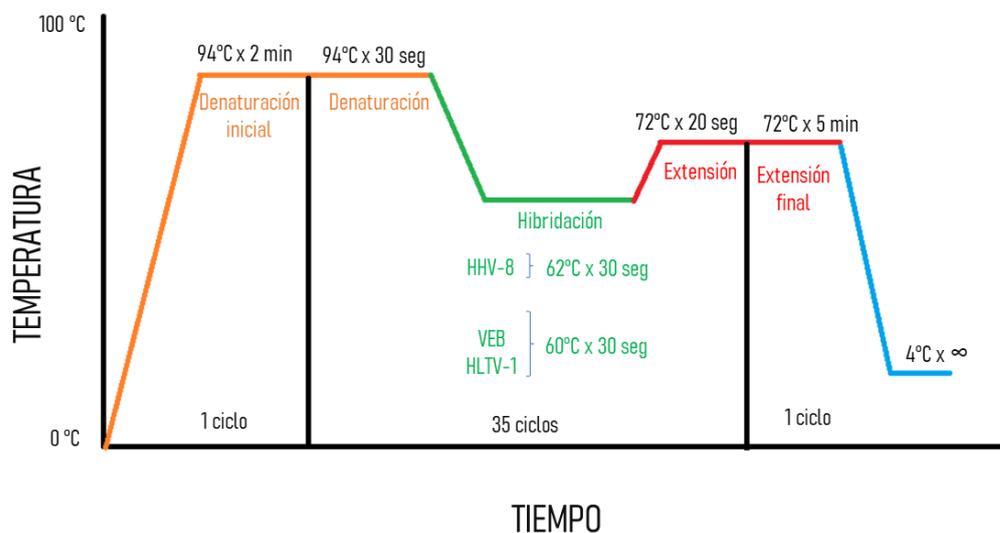


Nota. Selección de la concentración de ADN para la amplificación del gen EBNA-1. carril 1: 31,25ng/μL, carril 2: 62,5ng/μL, carril 3: 125ng/μL, carril 4: 250ng/μL, carril 5: 500ng/μL, carril 6: 1000ng/μL, M: marcador de 100 pb.

Luego de los ensayos de gradiente de temperatura las temperaturas que permiten la amplificación óptima fueron: 60°C para los genes *EBNA-1*, *BHR1-e* (EBV) y el gen *TAX* (HTLV-1) y 62°C para *ORF73* (HHV-8), resumido en la Figura 3.

Figura 3

Esquema de estandarización de temperaturas de hibridación. Selección de temperaturas de amplificación para los genes virales.



Luego de los ensayos la concentración de cebadores, se determinó que 250 nM logra amplificar para la detección de los genes virales se usaron las concentraciones por reacción de PCR descritas la Tabla 6.

Tabla 6

Componentes del Master Mix

Componentes (concentración inicial)	x1 reacción	Concentración final
2X Master mix	12,5 µl	1x
F (10uM)	0,625 µl	250 nM
R (10uM)	0,625 µl	250 nM
H ₂ O PCR	7,25 µl	-
ADN	4 µl	250 ng
Volumen final	25 µl	-

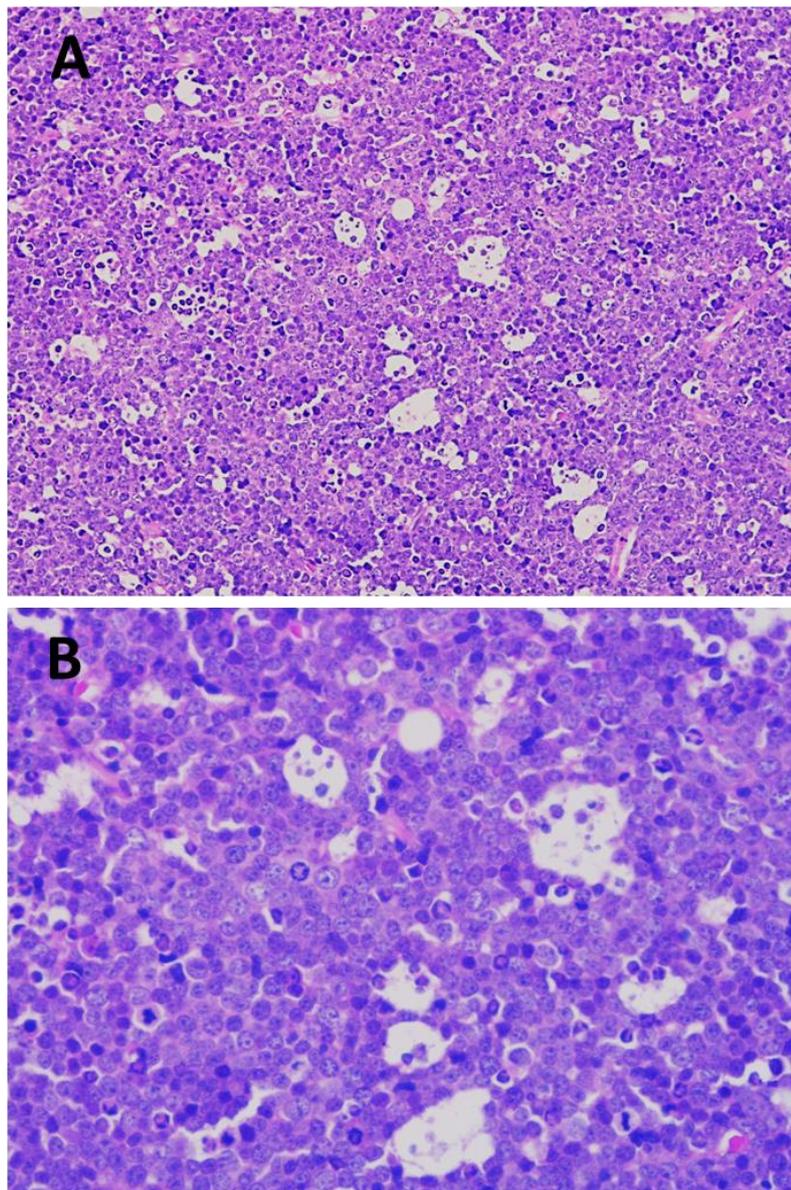
4.3 Verificación del diagnóstico y selección del tejido tumoral

La evaluación histológica de las láminas de cada muestra en Hematoxilina-Eosina (HE) se realizaron con el apoyo del médico patólogo del departamento de patología del

Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (Anexo D). Se observa en el microscopio el patrón cielo estrellado (denominado también noche de estrellas), debido a los macrófagos con detritos en su interior. Las células presentan un tamaño mediano y tienen una pequeña cantidad de citoplasma que se tiñe con características de un basófilo.

Figura 4

Fotografía con microscopio bicabezal.



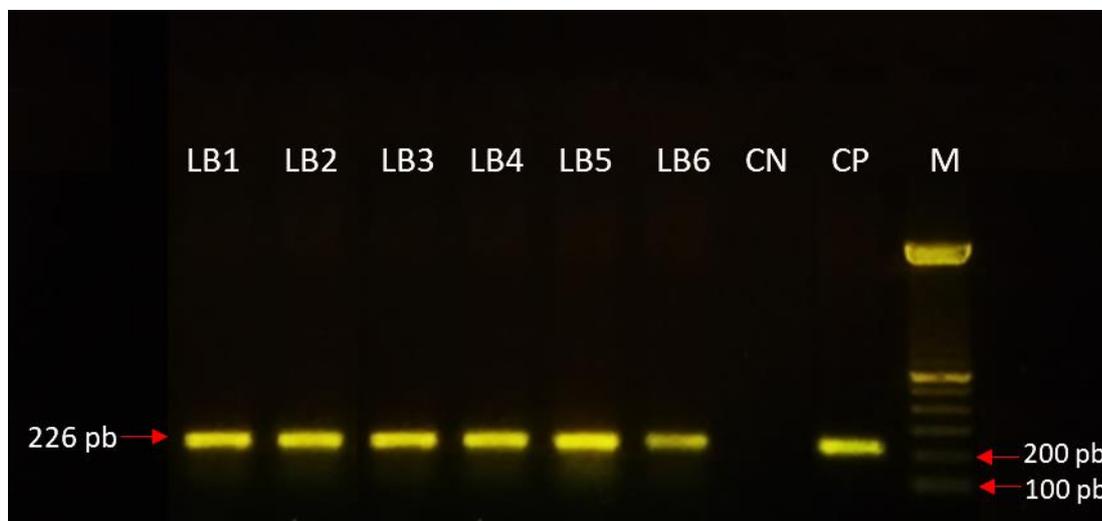
Nota. Verificación del diagnóstico patológico de Linfoma de Burkitt por tinción eosina y hematoxilina. Donde A: aumento de 20x, B: aumento a 40x.

4.4 Extracción del ADN a partir de muestras de tejido en parafina.

La concentración de ADN mínima recuperada a partir de muestras parafina fue de 25 ng/ μ l y máxima fue de 1300 ng/ μ l. la ratio de absorbancia 260/280 presento un promedio 1.95, mientras la ratio de absorbancia 260/230 fue promedio 1.90 (Anexo 3). En la figura 4 se observa los productos de amplificación del gen constitutivo ACTG.

Figura 5

Fotografía de gel de agarosa 1.5% en TAE 1X.



Nota. Amplificación del gen constitutivo ACTG (226 pb). LB1-LB6: muestra de estudio; CN:Control negativo, CP: Control positivo, M: Marcador 100 pb.

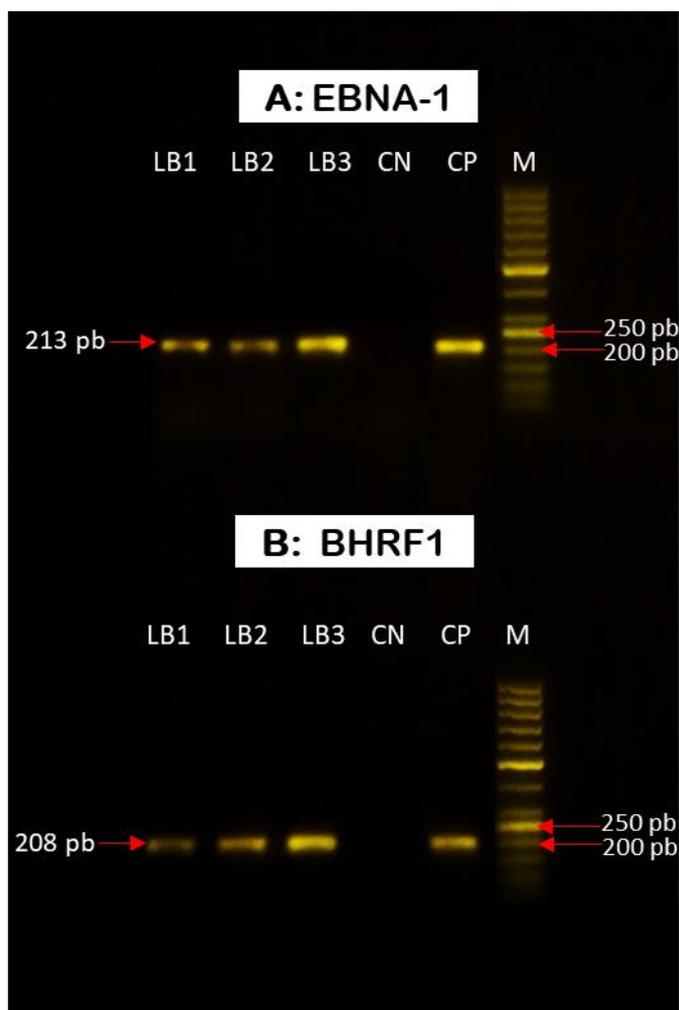
4.5 Aplicación de la PCR convencional en muestras clínicas

Después de la estandarización, se logró detectar la infección del EBV en 9 de 20 casos con Linfoma de Burkitt (Figura 5), de los cuales 7 correspondientes a casos pediátricos y 2 casos en adultos . Los casos positivos para EBV, presentaron ambos genes virales: *EBNA-1* y *BHRF-1* (Figura 4). Por otro lado, no se detectaron los virus HTLV-1 ni HHV-8 .

Se confirmó la identidad del virus mediante secuenciamiento de los genes de EBV, y los casos presentaron una identidad entre el 96% al 98% en el gen *EBNA-1* y del 98% al 99% en el gen *BHRF-1* respecto a las secuencias reportadas en el NCBI.

Figura 6

Fotografía de gel de agarosa 1.5% en TAE 1X.



Nota. amplificación del A: gen *EBNA-1* (213 pb). y B: gen *BHRF1* (208 pb). LB1, LB2, LB3: casos en estudio; CN:Control negativo, CP: Control positivo, M: Marcador 50 pb).

V. DISCUSIÓN

Epidemiológicamente, el Linfoma de Burkitt es frecuente en niños (Pannone et al., 2014), sin embargo; nuestra población esta conformada por 33 casos pediátricos y 55 casos adultos atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). Esta diferencia de proporciones podría deberse a que en nuestro país existen otras instituciones especializadas en pacientes pediátricos, cómo el Instituto Nacional del Niño.

Respecto a las características sociodemográficas, se presentan 20 pacientes procedentes de la capital y 55 pacientes de los demás departamentos del Perú (Figura 1), pues se conoce que INEN atiende a pacientes procedentes de todo el país. Es de esperarse que el principal lugar de procedencia de estos pacientes sea Lima ya que en este departamento se ubica la mayor población peruana. Asimismo, se observa que hay mayor frecuencia de casos de la costa norte, como lo es en Piura, ciudad que ocupa el quinto lugar más poblada en Perú.

Existe un mayor número de pacientes hombres que desarrollan el linfoma de Burkitt; por ejemplo, la población africana presenta una relación de hombre/mujer de 3.6/1 (Stefan y Lutchman, 2014), la población estadounidense de 3.9/1.1 (Mbulaiteye et al., 2009). La población en estudio presenta la relación de 3.2/1, mostrando resultados similares a la literatura.

Respecto a las características patológicas, Stefan y Lutchman (2014) describen a la variante del Linfoma de Burkitt esporádica (sLB) con localización tumoral del 76.4% a nivel abdominal, el 11.7% en cabeza y cuello y el 3.9% en la región pélvica. Nuestros resultados presentan similitud con lo reportado con la localización tumoral a región abdominal, en la región de cabeza/cuello y pélvica con 44.3%, 37.4% y 2.8%

respectivamente. El linfoma de Burkitt se presenta de manera habitual a nivel nodal por lo que nuestra población coincide con la literatura debido a que presenta 55.2% de compromiso nodal, estos resultados son muy semejantes a lo reportado de la población de Estados Unidos (presenta el 56% de la afección) (Mbulaiteye et al., 2009). Las variación de proporciones pueden ser debido a la etnia, ubicación geográfica y/o acceso a la atención médica, según lo reportado por Rendón et al., (2017). La enfermedad de Burkitt se evidencia con frecuencia en casos diagnosticados en estadio avanzados (estadios III y IV) (Rendón-Macías et al., 2017), lo cual coincide con lo observado en nuestros resultados, el 38.6% se presentó en el estadio III y el 35.2% de la población se encontró en estadio IV. Esta alta proporción de pacientes diagnosticados en estadio avanzando podría deberse a que el linfoma de Burkitt es un tipo de cáncer que se manifiesta de manera intempestiva y con una alta agresividad (McClure et al., 2005), además que en el INEN un porcentaje de los casos son referidos de otras instituciones y/o departamentos del Perú, lo cual podría involucrar un mayor tiempo desde la detección de la enfermedad hasta el diagnóstico.

Generalmente, los pacientes con LB presentan el perfil inmunohistoquímico positivo para CD20, CD10, bcl-6 y negativo para los marcadores CD3, bcl-2 y Tdt (Pannone et al., 2014). Los resultados obtenidos en el presente trabajo coincide con lo reportado en la literatura . No obstante, se conoce que la proteína bcl-2 también puede expresarse entre el 10-20% de los casos (Kelemen et al., 2010). En nuestros resultados se ha observado 4 casos positivos para esta proteína. Asimismo, la población en estudio mostró un porcentaje entre 95-100% en el marcador ki67, lo cual es característico del LB al presentar un elevado índice de proliferación celular (Santos et al., 2003).

Hace más de una década, estudios moleculares permitieron determinar la importancia del gen *MYC* para el diagnóstico de linfoma de Burkitt. *MYC* es considerado un oncogen debido a que su expresión de manera aberrante causa alteraciones, que trae

como consecuencia la regulación positiva de la división celular y mantenimiento un metabolismo activo, lo que conjuntamente deriva en una proliferación sostenida o inmortalización de las células afectadas (Dang, 2012; Molina Hoyo, 2019; Schaub et al., 2018). Como se ha mencionado anteriormente respecto a nuestro estudio, el INEN incluyó la evaluación inmunohistoquímica de c-Myc a partir del 2014, por lo que únicamente se cuenta con 22 casos evaluados, de los cuales 19 presentaron la expresión positiva de la proteína MYC. En diferentes estudios se encontró que pacientes con LB presentan la alteración de MYC, con frecuencia en más del 90% de los casos evaluados, generalmente translocado, lo que produce que se sobreexpresen (Molina Hoyo, 2019).

Otro de los objetivos de esta investigación fue la estandarización de los parámetros de la PCR, debido a que se trabajó con tejidos tumorales fijados en formol o formaldehído e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés) para su almacenamiento a largo plazo, muchas veces el uso del fijador en condiciones no óptimas produce daño del material genético, debido al entrecruzamiento entre ácidos nucleicos y proteínas, hidroliza puentes fosfodiéster del ADN y modifica covalentemente el ARN por adición de grupos mono metilos en las bases, generando problemas en la obtención de material y los posteriores análisis (García et al., 2006). Considerando que en nuestro estudio retrospectivo se han usado muestras fijadas en formol y embebidas en parafina con más de diez años de antigüedad, no se observaron inconvenientes al momento de la recuperación de los ácidos nucleicos, después de la estandarización de un protocolo de extracción de ADN de muestras parafinadas utilizando un kit comercial

Nuestra población está conformada por 88 casos retrospectivos con diagnóstico clínico de linfoma de Burkitt y confirmados con patología, realizándose la prueba de detección de virus linfotrópicos (EBV, HTLV-1 y HHV-8) en una muestra de 20 casos, de los cuales se pudo detectar la infección del EBV en 9 casos (45%) evaluados por PCR

convencional. Existen diferentes estudios sobre la asociación entre EBV con el LB, por ejemplo en la población taiwanesa (Chuang et al., 2008) reportan el 23% de la infección (7 de 31 casos), en la población italiana (Pannone et al., 2014) reportan el 61% (16 de 26 casos) y en la población brasilera (Hassan et al., 2008) reportan el 61% (33 de 53 casos) de la infección por EBV. Sin embargo, los estudios citados anteriormente han sido basados en la detección EBERs del EBV mediante (hibridación in situ), que son dos pequeñas transcripciones de latencia viral (EBER-1 de 166 bases y EBER-2 de 172 bases) que están presentes en todas las formas de latencia de la infección por EBV, por lo cual son dianas detectables en ISH (Gulley, 2001). No obstante, el uso de la técnica ISH presume un incremento respecto a los costos en comparación a la detección por PCR convencional.

También, es necesario resaltar que nuestro estudio presentó 7 casos pediátricos y 2 adultos con infección de EBV, datos similares a la población italiana que presentó 15 casos pediátricos y 1 caso adulto con infección de EBV (Pannone et al., 2014), lo que lleva a corroborar que hay una mayor infección del virus a una edad temprana.

En este estudio, la detección del EBV se encuentra enfocada en el gen de latencia *EBNA-1*, gen que se expresa en todas las líneas celulares linfocíticas transformadas además guarda relación con la formación tumoral, (Raab-Traub, 2002) y también está enfocada en el gen *BHRF1* que se expresa abundantemente al principio de la fase lítica (Marchini et al., 1991). Mediante el análisis bioinformático del secuenciamiento de ambos genes se logró confirmar la identidad del EBV en las 9 muestras estudiadas, lo cual evidencia un alto grado de similitud de secuencias reportadas en la base de datos del NCBI (*BHRF-1* con ID de secuencia: KY454075.1 y *EBNA-1* con ID de secuencia: MK185441.1, consultado en agosto del 2022).

Un estudio similar reportado en Brasil (Queiroga et al., 2008), determinaron la

asociación del 45% de EBV con el LB, pero al igual que en nuestro estudio no encontraron asociación del HHV-8 con el LB, cabe resaltar que utilizaron el análisis inmunohistoquímico, ISH y PCR.

Asimismo, Perú es considerado un país endémico de HTLV-1 (Gotuzzo et al., 2004) y es uno de los países pioneros en encontrar la relación de este virus en linfomas B (como por ejemplo en el linfoma difuso de linfocitos B grandes, que comparte características patológicas con el LB), por este antecedente el presente estudio buscó detectar la infección de este virus en los pacientes con LB; no obstante; al no encontrar el retrovirus en la población en estudio, se sugiere seguir con la indagación en una cohorte de mayor número de muestras.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó la infección del virus Epstein Barr (EBV) en pacientes con linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) durante el periodo 2009-2018. No se encontró la infección del virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1) ni del Herpesvirus humano 8 (HHV-8).
- El análisis de las características epidemiológicas, patológicas de los pacientes diagnosticados con Linfoma de Burkitt atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el 2009-2018 coinciden con las reportadas en la literatura hasta la fecha.
- Se estandarizó y validó un protocolo de extracción de ADN a partir de un kit comercial y se estandarizó los parámetros de PCR convencional para determinar la presencia de los virus linfotrópicos en las muestras de los pacientes con Linfoma de Burkitt.

VII. RECOMENDACIONES

- Con la finalidad de ampliar en número muestras de casos de Linfoma de Burkitt, se recomienda realizar un estudio inter-institucional con los Institutos Nacionales del Niño (Breña y San Borja), Institutos Regionales de Enfermedades Neoplásicas (IREN; Norte, Centro y Sur), para poder determinar la Prevalencia de Infección por Virus Linfotrópicos en Linfoma de Burkitt en el Perú.
- También se propone que los futuros proyectos prospectivos que puedan determinar la infección de los virus linfotópicos en otros linfomas de células B, como en el linfoma de células B grandes difuso, que es el tipo más común de los linfomas No Hodking.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS

- Afonso, P. V., Cassar, O., & Gessain, A. (2019). Molecular epidemiology, genetic variability and evolution of HTLV-1 with special emphasis on African genotypes. *Retrovirology*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/S12977-019-0504-Z>
- Alaggio, R., Amador, C., Anagnostopoulos, I., Attygalle, A. D., Araujo, I. B. de O., Berti, E., Bhagat, G., Borges, A. M., Boyer, D., Calaminici, M., Chadburn, A., Chan, J. K. C., Cheuk, W., Chng, W. J., Choi, J. K., Chuang, S. S., Coupland, S. E., Czader, M., Dave, S. S., ... Xiao, W. (2022). The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* *2022* *36*:7, *36*(7), 1720–1748. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>
- Aldoss, I. T., Weisenburger, D. D., Fu, K., Chan, W. C., Vose, J. M., Bierman, P. J., Bociek, R. G., & Armitage, J. O. (2008). Adult Burkitt lymphoma: Advances in diagnosis and treatment. *ONCOLOGY*, *22*(13), 1508–1517.
- Alegria Valdivia, E. R., Grados Doroteo, J., & Rodriguez Hurtado, D. (2012). Características clínicas de los linfomas no Hodgkin en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Revista de La Sociedad Peruana de Medicina Interna*, *25*(1), 26–30.
- Aubry, V., Mure, F., Mariame, B., Deschamps, T., Wyrwicz, L. S., Manet, E., & Gruffat, H. (2014). Epstein-Barr Virus Late Gene Transcription Depends on the Assembly of a Virus-Specific Preinitiation Complex. *Journal of Virology*, *88*(21), 12825–12838. <https://doi.org/10.1128/JVI.02139-14>
- Beltramino, M., Calmet, R., & Gatica Valdes, M. (2005). Virus de Epstein-Barr y su relación con el desarrollo de enfermedades linfoproliferativas. *Hematología (B. Aires)*, *8*, 39–54.

- Beltran, B. E., Quiñones, P., Morales, D., Revilla, J. C., Alva, J. C., & Castillo, J. J. (2012). Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Carriers. *Leukemia Research and Treatment*, 2012(December 2010), 1–4. <https://doi.org/10.1155/2012/262363>
- Biryahwaho, B., Dollard, S. C., Pfeiffer, R. M., Shebl, F. M., Munuo, S., Amin, M. M., Hladik, W., Parsons, R., & Mbulaiteye, S. M. (2010). Sex and Geographic Patterns of Human Herpesvirus 8 Infection in a Nationally Representative Population-Based Sample in Uganda. *The Journal of Infectious Diseases*, 202(9), 1347–1353. <https://doi.org/10.1086/656525>
- Blum, K. A., Lozanski, G., & Byrd, J. C. (2004). *Adult Burkitt leukemia and lymphoma*. 104, 3009–3020. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-02-0405>
- Bornkamm, G. W. (2009). Epstein-Barr virus and the pathogenesis of Burkitt's lymphoma: More questions than answers. In *International Journal of Cancer* (Vol. 124, Issue 8, pp. 1745–1755). <https://doi.org/10.1002/ijc.24223>
- Braziel, R. M., Arber, D. A., Slovak, M. L., Gulley, M. L., Spier, C., Kjeldsberg, C., Unger, J., Miller, T. P., Tubbs, R., Leith, C., Fisher, R. I., & Grogan, T. M. (2001). The Burkitt-like lymphomas: A Southwest Oncology Group study delineating phenotypic, genotypic, and clinical features. *Blood*, 97(12), 3713–3720. <https://doi.org/10.1182/blood.V97.12.3713>
- Brink, A. A. T. P., Vervoort, M. B. H. J., Middeldorp, J. M., Meijer, C. J. L. M., & Van Den Brule, A. J. C. (1998). Nucleic acid sequence-based amplification, a new method for analysis of spliced and unspliced Epstein-Barr virus latent transcripts, and its comparison with reverse transcriptase PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(11), 3164–3169. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.11.3164-3169.1998/ASSET/95707363->

45E1-4E5C-961F-A4366EE5B0FD/ASSETS/GRAPHIC/JM1180405004.JPEG

- Chuang, S.-S., Huang, W.-T., Hsieh, P.-P., Jung, Y.-C., Ye, H., Du, M.-Q., Lu, C.-L., Cho, C.-Y., Hsiao, S.-C., Hsu, Y.-H., & Lin, K.-J. (2008). Sporadic paediatric and adult Burkitt lymphomas share similar phenotypic and genotypic features. *Histopathology*, 52(4), 427–435. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2008.02974.x>
- Dang, C. V. (2012). MYC on the Path to Cancer. *Cell*, 149(1), 22–35. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.03.003>
- Dantuma, N. P., & Masucci, M. G. (2003). The ubiquitin/proteasome system in Epstein–Barr virus latency and associated malignancies. *Seminars in Cancer Biology*, 13(1), 69–76. [https://doi.org/10.1016/S1044-579X\(02\)00101-3](https://doi.org/10.1016/S1044-579X(02)00101-3)
- Desbien, A. L., Kappler, J. W., & Marrack, P. (2009). The Epstein–Barr virus Bcl-2 homolog, BHRF1, blocks apoptosis by binding to a limited amount of Bim. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(14), 5663–5668. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0901036106>
- Engels, E. A., Atkinson, J. O., Graubard, B. I., McQuillan, G. M., Gamache, C., Mbisa, G., Cohn, S., Whitby, D., & Goedert, J. J. (2007). Risk Factors for Human Herpesvirus 8 Infection among Adults in the United States and Evidence for Sexual Transmission. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(2), 199–207. <https://doi.org/10.1086/518791>
- Epstein, M. A., Achong, B. G., & Pope, J. H. (1967). Virus in Cultured Lymphoblasts from a New Guinea Burkitt Lymphoma. *British Medical Journal*, 2(5547), 290–291. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5547.290>
- Fruehling, S., & Longnecker, R. (1997). The Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motif of Epstein–Barr Virus LMP2A Is Essential for Blocking BCR-Mediated Signal

Transduction. *Virology*, 235(2), 241–251. <https://doi.org/10.1006/VIRO.1997.8690>

Gabriel, C., Bernal, G., Cabral, C. T., Morales Martínez, J., Guerra, A. G., Andrade, L. H.,

Bernal, J. G., Isidro, I., & Cañaveral, H. (2019). Herpesvirus: relación con la enfermedad periodontal e implicaciones orales Revisión bibliográfica. *REVista MEXicana de PERIODONTOlogía*, 3–58. <https://doi.org/10.35366/92124>

García, P., M, F. B., A, A. M., E, I. R., & S, J. C. R. (2006). *Efecto de la fijación en la calidad del ADN : estudio controlado con cinco fijadores Effect of fixation on DNA quality : controlled study with five fixatives*. 39, 175–179.

Gotuzzo, E., Verdonck, K., González, E., Cabada, M., & Resumen, S. 1. (2004). VIRUS LINFOTRÓPICO HUMANO DE CÉLULAS T TIPO 1 (HTLV-1): UNA INFECCIÓN ENDÉMICA EN EL PERÚ. In *Rev Peru Med Exp Salud Publica* (Vol. 21, Issue 4).

Gotuzzo Herencia, E., González Lagos, E., Verdonck Bosteels, K., Mayer Arispe, E., Ita Nagy, F., & Clark Leza, D. (2010). Veinte años de investigación sobre HTLV-1 y sus complicaciones médicas en el Perú: Perspectivas generales. *Acta Médica Peruana*, 27(3), 196–203. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172010000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Grimm, K. E., & O'Malley, D. P. (2019). Aggressive B cell lymphomas in the 2017 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. *Annals of Diagnostic Pathology*, 38, 6–10. <https://doi.org/10.1016/J.ANNDIAGPATH.2018.09.014>

Gulley, M. L. (2001). Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *The Journal of Molecular Diagnostics : JMD*, 3(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60642-3](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60642-3)

- Hassan, R., Klumb, C. E., Felisbino, F. E., Guiretti, D. M., White, L. R., Stefanoff, C. G., Barros, M. H. M., Seuánez, H. N., & Zalcborg, I. R. (2008). Clinical and demographic characteristics of Epstein-Barr virus-associated childhood Burkitt's lymphoma in Southeastern Brazil: Epidemiological insights from an intermediate risk region. *Haematologica*, *93*(5), 780–783. <https://doi.org/10.3324/haematol.12424>
- Hecht, J. L., & Aster, J. C. (2000). BIOLOGY OF NEOPLASIA Molecular Biology of Burkitt's Lymphoma. In *J Clin Oncol* (Vol. 18).
- Hino, S. (2011). Establishment of the milk-borne transmission as a key factor for the peculiar endemicity of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1): the ATL Prevention Program Nagasaki. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, *87*(4), 152–166. <https://doi.org/10.2183/PJAB.87.152>
- Howe, J. G., & Steitz, J. A. (1986). Localization of Epstein-Barr virus-encoded small RNAs by in situ hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *83*(23), 9006–9010. <https://doi.org/10.1073/PNAS.83.23.9006>
- Hsu, D., Malefyt, R. de W., Fiorentino, D., Dang, M., Vieira, P., Vries, J. de, Spits, H., Mosmann, T., & Moore, K. (1990). Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Science*, *250*(4982), 830–832. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2173142>
- Igakura, T., Stinchcombe, J. C., Goon, P. K. C., Taylor, G. P., Weber, J. N., Griffiths, G. M., Tanaka, Y., Osame, M., & Bangham, C. R. M. (2003). Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science (New York, N.Y.)*, *299*(5613), 1713–1716. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1080115>
- Jones, K. S., Petrow-Sadowski, C., Bertolette, D. C., Huang, Y., & Ruscetti, F. W. (2005). Heparan Sulfate Proteoglycans Mediate Attachment and Entry of Human T-Cell

Leukemia Virus Type 1 Virions into CD4 + T Cells . *Journal of Virology*, 79(20), 12692–12702. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.20.12692-12702.2005/ASSET/3DE96EE6-7637-4EC3-800A-A73B220299A2/ASSETS/GRAPHIC/ZJV0200569270009.JPEG>

Jourdan, N., Jobart-Malfait, A., Dos Reis, G., Quignon, F., Piolot, T., Klein, C., Tramier, M., Coppey-Moisan, M., & Marechal, V. (2012). Live-Cell Imaging Reveals Multiple Interactions between Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 and Cellular Chromatin during Interphase and Mitosis. *Journal of Virology*, 86(9), 5314–5329. <https://doi.org/10.1128/JVI.06303-11/ASSET/E47639EA-68AB-439E-9F2F-441EA1FB6E63/ASSETS/GRAPHIC/ZJV9990959220013.JPEG>

Kelemen, K., Braziel, R. M., Gatter, K., Bakke, T. C., Olson, S., & Fan, G. (2010). Immunophenotypic Variations of Burkitt Lymphoma. *American Journal of Clinical Pathology*, 134(1), 127–138. <https://doi.org/10.1309/AJCP93LJPTRQPDKR>

Kovrigina, A. M. (2018). [A revised 4 edition WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues, 2017: myeloid neoplasms]. *Arkhiv Patologii*, 80(6), 43–49. <https://doi.org/10.17116/PATOL20188006143>

Lallemand, F., Desire, N., Rozenbaum, W., Nicolas, J. C., & Marechal, V. (2000). Quantitative analysis of human herpesvirus 8 viral load using a real- time PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(4), 1404–1408. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.4.1404-1408.2000>

Li, Q., Spriggs, M. K., Kovats, S., Turk, S. M., Comeau, M. R., Nepom, B., & Hutt-Fletcher, L. M. (1997). Epstein-Barr virus uses HLA class II as a cofactor for infection of B lymphocytes. *Journal of Virology*, 71(6), 4657–4662. <https://doi.org/10.1128/JVI.71.6.4657-4662.1997>

- Longnecker, R. (2000). Epstein-barr virus latency: LMP2, a regulator or means for Epstein-barr virus persistence? *Advances in Cancer Research*, 79, 175–200.
[https://doi.org/10.1016/S0065-230X\(00\)79006-3](https://doi.org/10.1016/S0065-230X(00)79006-3)
- Lorenzetti, M. A. (2012). *Caracterización de variantes del virus de Epstein Barr en la infección aguda en pacientes pediátricos y su comparación con linfomas pediátricos EBV +*.
https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/tesis/document/tesis_n5040_Lorenzetti
- Magrath, I. (2012). Epidemiology: Clues to the pathogenesis of Burkitt lymphoma. In *British Journal of Haematology* (Vol. 156, Issue 6, pp. 744–756).
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.09013.x>
- Manuel Pérez-Zúñiga, J., Aguilar-Andrade, C., Luis Álvarez-Vera, J., Augusto-Pacheco, M., Elena Báez-Islas, P., Alberto Bates-Martín, R., Cervantes-Sánchez, I., Eugenia Espitia-Ríos, M., Estrada-Domínguez, P., Jiménez-Alvarado, R., Jocelyn Fermín-Caminero, D., Socorro García-Camacho, A., Gómez-Rosas, P., Adrián Grimaldo-Gómez, F., Guzmán-Mera, P., Herrera-Olivares, W., Alberto Martínez-Ramírez, M., Medina-Meza, C., Mena-Zepeda, V., ... Martha Alvarado Ibarra, C. (2018). Generalidades sobre linfomas. *Rev Hematol Mex. 2018 Octubre-Diciembre*, 19(4), 174–188.
- Marchini, A., Tomkinson, B., Cohen, J. I., & Kieff, E. (1991). BHRF1, the Epstein-Barr virus gene with homology to Bc12, is dispensable for B-lymphocyte transformation and virus replication. *Journal of Virology*, 65(11), 5991–6000.
<https://doi.org/10.1128/JVI.65.11.5991-6000.1991>
- Martínez Rodríguez, P. A., & Kourí Cardellá, V. (2008). Mecanismos de transmisión del Herpesvirus humano 8: un reto actual. *Revista Biomédica, ISSN-e 0188-493X, Vol. 19, N.º. 3, 2008, Págs. 170-178*, 19(3), 170–178.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6060150&info=resumen&idioma=SP>

A

Mbulaiteye, S. M., Biggar, R. J., Bhatia, K., Linet, M. S., & Devesa, S. S. (2009). Sporadic childhood Burkitt lymphoma incidence in the United States during 1992-2005. *Pediatric Blood & Cancer*, 53(3), 366–370. <https://doi.org/10.1002/pbc.22047>

McClure, R. F., Remstein, E. D., Macon, W. R., Dewald, G. W., Habermann, T. M., Hoering, A., & Kurtin, P. J. (2005). Adult B-cell lymphomas with Burkitt-like morphology are phenotypically and genotypically heterogeneous. McClure RF, Remstein ED, Macon WR, Dewald GW, Habermann TM, Hoering A, et al. Adult B-cell lymphomas with Burkitt-like morphology are phenotypically and . *American Journal of Surgical Pathology*, 29(12), 1652–1660. <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000180442.87022.08>

Medina-Ortega, Á., López-Valencia, D., Mosquera-Monje, S., Mora-Obando, D., & Dueñas-Cuéllar, R. (2017). Virus de Epstein-Barr y su relación con el desarrollo del cáncer. *Iatreia*, 30(2), 131–145. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v30n2a03>

Medina, E. A., Orduz, R., Morales, O. L., Martínez, Ó., Baldión, M., & Isaza, M. A. (2013). Leucemia/linfoma T del adulto en pacientes infectados con HTLV-1: reporte de dos casos de Colombia. *Biomédica*, 33(4), 519–525. <https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.V33I4.1429>

Middeldorp, J. M., Brink, A. A. T. P., Van den Brule, A. J. C., & Meijer, C. J. L. M. (2003). Pathogenic roles for Epstein–Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 45(1), 1–36. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(02\)00078-1](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(02)00078-1)

Moens, B., López, G., Adai, V., González, E., Kerremans, L., Clark, D., Verdonck, K., Gotuzzo, E., Vanham, G., Cassar, O., Gessain, A., Vandamme, A. M., & Van Dooren, S.

(2009). Development and validation of a multiplex real-time PCR assay for simultaneous genotyping and human T-lymphotropic virus type 1, 2, and 3 proviral load determination. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(11), 3682–3691.

<https://doi.org/10.1128/JCM.00781-09>

Mohanna, S., Portillo, J.-A., Carriquiry, G., Vidal, J., Ferrufino, J. C., Sanchez, J., Bravo, F., & Gotuzzo, E. (2007). Human Herpesvirus--8 in Peruvian Blood Donors: A Population with Hyperendemic Disease? *Clinical Infectious Diseases*, 44(4), 558–561.

<https://doi.org/10.1086/511044>

Mohanty, S., & Harhaj, E. W. (2020). Mechanisms of Oncogenesis by HTLV-1 Tax.

Pathogens 2020, Vol. 9, Page 543, 9(7), 543.

<https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9070543>

Molina Hoyo, E. (2019). *El oncogen MYC como activador transcripcional del receptor del virus de Epstein-Barr (CR2/CD21)*.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=264395&info=resumen&idioma=ENG>

Molyneux, E. M., Rochford, R., Griffin, B., Newton, R., Jackson, G., Menon, G., Harrison, C. J., Israels, T., & Bailey, S. (2012). Burkitt's lymphoma. *Lancet (London, England)*, 379(9822), 1234–1244. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61177-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61177-X)

Nakayama, S., Murata, T., Murayama, K., Yasui, Y., Sato, Y., Kudoh, A., Iwahori, S.,

Isomura, H., Kanda, T., & Tsurumi, T. (2009). Epstein-Barr Virus Polymerase Processivity Factor Enhances BALF2 Promoter Transcription as a Coactivator for the BZLF1 Immediate-Early Protein *. *Journal of Biological Chemistry*, 284(32), 21557–21568. <https://doi.org/10.1074/JBC.M109.015685>

Ortiz De Lejarazu, R., Domínguez-Gil, M., & Jiménez, S. (n.d.). *HERPESVIRUS HUMANO 8: IMPLICACIONES PATÓGENAS Y DIAGNÓSTICO*.

- Pannone, G., Zamparese, R., Pace, M., Carmela Pedicillo, M., Cagiano, S., Somma, P., Elena Errico, M., Donofrio, V., Franco, R., De Chiara, A., Aquino, G., Bucci, P., Bucci, E., Santoro, A., & Bufo, P. (2014). *The role of EBV in the pathogenesis of Burkitt's Lymphoma: an Italian hospital based survey*. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-9-34>
- Payet Meza, E., Mejía Pérez, P., Poquioma Rojas, E., Nava Díaz, E., & Vilca Rojas, J. (2021). Registro de cáncer de lima metropolitana : incidencia y mortalidad 2013 -2015. *Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas*, 6, 9–25.
- Plata S., L. M., Oviedo L, J. F., Rincón-Orozco, B., Plata S, L. M., Oviedo L, J. F., & Rincón-Orozco, B. (2018). Revisión sistemática: estrategias virales para la inducción de cáncer “virus de Epstein-Barr: latencia y mecanismos asociados a la oncogénesis viral.” *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 50(3), 257–268. <https://doi.org/10.18273/REVSAL.V50N3-2018010>
- Poiesz, B. J., Ruscetti, F. W., Gazdar, A. F., Bunn, P. A., Minna, J. D., & Gallo, R. C. (1980). Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(12 II), 7415–7419. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.12.7415>
- Ponce, E., & Asunción, E. (2021). *Virus Linfotrópico de Células T Humano tipo 1 (HTLV-1) como Agente Etiológico de la Leucemia-Linfoma de Células T del Adulto (LLTA) : epidemiología, Transmisión y Prevención en América Latina*.
- Pyakurel, P., Pak, F., Mwakigonja, A. R., Kaaya, E., & Biberfeld, P. (2007a). KSHV/HHV-8 and HIV infection in Kaposi's sarcoma development. *Infectious Agents and Cancer*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-2-4/FIGURES/1>
- Pyakurel, P., Pak, F., Mwakigonja, A. R., Kaaya, E., & Biberfeld, P. (2007b). KSHV/HHV-8

and HIV infection in Kaposi's sarcoma development. *Infectious Agents and Cancer* 2007 2:1, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-2-4>

Queiroga, E. M., Gualco, G., Chioato, L., Harrington, W. J., Araujo, I., Weiss, L. M., & Bacchi, C. E. (2008). Viral Studies in Burkitt Lymphoma Association With Epstein-Barr Virus but Not HHV-8. *American Journal of Clinical Pathology*, 130(2), 186–192. <https://doi.org/10.1309/2CNAWY6GAR0VQAXX>

Rechsteiner, M. P., Berger, C., Zauner, L., Sigrist, J. A., Weber, M., Longnecker, R., Bernasconi, M., & Nadal, D. (2008). Latent Membrane Protein 2B Regulates Susceptibility to Induction of Lytic Epstein-Barr Virus Infection. *Journal of Virology*, 82(4), 1739–1747. <https://doi.org/10.1128/JVI.01723-07>

Rivailler, P., Cho, Y., & Wang, F. (2002). Complete Genomic Sequence of an Epstein-Barr Virus-Related Herpesvirus Naturally Infecting a New World Primate: a Defining Point in the Evolution of Oncogenic Lymphocryptoviruses. *Journal of Virology*, 76(23), 12055–12068. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.23.12055-12068.2002>

Rivera-Caldón, C. C., López-Valencia, D., Zamora-Bastidas, T. O., Dueñas-Cuéllar, R. A., Mora-Obando, D. L., Rivera-Caldón, C. C., López-Valencia, D., Zamora-Bastidas, T. O., Dueñas-Cuéllar, R. A., & Mora-Obando, D. L. (2017). Infección por el virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1) y paraparesia espástica. Avances y diagnóstico 35 años después de su descubrimiento. *Iatreia*, 30(2), 146–159. <https://doi.org/10.17533/UDEA.IATREIA.V30N2A04>

Roberto, J., & Evia, B. (2012). Herpes virus 8: Sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman y linfoma de efusión primario Resumen. In *Rev Latinoamer Patol Clin* (Vol. 59, Issue 1).

www.medigraphic.org.mx<http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>www.medigraphic.com

hic.org.mx

- Rohner, E., Wyss, N., Trelle, S., Mbulaiteye, S. M., Egger, M., Novak, U., Zwahlen, M., & Bohlius, J. (2014a). HHV-8 seroprevalence: a global view. *Systematic Reviews* 2014 3:1, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-3-11>
- Rohner, E., Wyss, N., Trelle, S., Mbulaiteye, S. M., Egger, M., Novak, U., Zwahlen, M., & Bohlius, J. (2014b). HHV-8 seroprevalence: A global view. *Systematic Reviews*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-3-11/PEER-REVIEW>
- Santiago Puertas, O. del C. (2010). *Presencia del virus de epstein-barr en la esclerosis múltiple* [Universidad de Granada].
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=63756&info=resumen&idioma=SPA>
- Santos, S., Pereira, A., Ariza, M., Bosque, M., & Acquatella, G. de. (2003). Síndrome de lisis tumoral en pacientes pediátricos con linfoma tipo burkitt. *Rev. Venez. Oncol*, 38–44.
- Schaub, F. X., Dhankani, V., Berger, A. C., Trivedi, M., Richardson, A. B., Shaw, R., Zhao, W., Zhang, X., Ventura, A., Liu, Y., Ayer, D. E., Hurlin, P. J., Cherniack, A. D., Eisenman, R. N., Bernard, B., Grandori, C., Caesar-Johnson, S. J., Demchok, J. A., Felau, I., ... Mariamidze, A. (2018). Pan-cancer Alterations of the MYC Oncogene and Its Proximal Network across the Cancer Genome Atlas. *Cell Systems*, 6(3), 282-300.e2. <https://doi.org/10.1016/J.CELS.2018.03.003>
- Schulz, T. F. (2000). Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8): epidemiology and pathogenesis. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45 Suppl T3(TOPIC T3), 15–27.
- Shannon-Lowe, C. D., Neuhierl, B., Baldwin, G., Rickinson, A. B., & Delecluse, H.-J. (2006). Resting B cells as a transfer vehicle for Epstein–Barr virus infection of epithelial

cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(18), 7065–7070.

<https://doi.org/10.1073/PNAS.0510512103>

Smith, N. A., Coleman, C. B., Gewurz, B. E., & Rochford, R. (2020). CD21 (Complement Receptor 2) Is the Receptor for Epstein-Barr Virus Entry into T Cells. *Journal of Virology*, 94(11). <https://doi.org/10.1128/jvi.00428-20>

Smith, S. M., Anastasi, J., Cohen, K. S., & Godley, L. A. (2010). The impact of MYC expression in lymphoma biology: Beyond Burkitt lymphoma. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 45, 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2010.08.002>

Stefan, D. C., & Lutchman, R. (2014). Burkitt lymphoma: Epidemiological features and survival in a South African centre. *Infectious Agents and Cancer*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1750-9378-9-19>

Tanner, J. E., Alfieri, C., Chatila, T. A., & Diaz-Mitoma, F. (1996). Induction of interleukin-6 after stimulation of human B-cell CD21 by Epstein-Barr virus glycoproteins gp350 and gp220. *Journal of Virology*, 70(1), 570–575. <https://doi.org/10.1128/jvi.70.1.570-575.1996>

Terranova Arturo, D., Giraldo-Ocampo, S., & Castillo, A. (2020). Caracterización molecular de las variantes del virus de Epstein-Barr detectadas en la cavidad oral de adolescentes de Cali, Colombia. *Biomédica*, 40(Suppl 1), 76. <https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.4917>

Tezuka, K., Fuchi, N., Okuma, K., Tsukiyama, T., Miura, S., Hasegawa, Y., Nagata, A., Komatsu, N., Hasegawa, H., Sasaki, D., Sasaki, E., Mizukami, T., Kuramitsu, M., Matsuoka, S., Yanagihara, K., Miura, K., & Hamaguchi, I. (2020). HTLV-1 targets human placental trophoblasts in seropositive pregnant women. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(11), 6171–6186. <https://doi.org/10.1172/JCI135525>

- Uchuya Trocones, R. R., & Zavaleta Carranza, G. A. (2022). *DE UNA UNIVERSIDAD PRIVADA DE LIMA KNOWLEDGE , ATTITUDES AND PERCEPTION OF HTLV-1 INFECTION AMONG MEDICAL STUDENTS FROM A*. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Valiero, N. L. (2013). “*Frecuencia de presentación y edad media de diagnóstico de los distintos tipos de linfoma en muestras analizadas por el Laboratorio de Anatomía Patológica Dr. Monti de la ciudad de Rosario en el período de 2007-2011.*” Universidad Abierta Interamericana.
- Vásquez T., P. (2003). HTLV-I (Human T-Cell lymphotropic virus), algo que decir? In *Revista Chilena de Infectología* (Vol. 20, Issue SUPPL. 1, pp. 34–37). Sociedad Chilena de Infectología. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182003020100005>
- Vetsika, E.-K., & Callan, M. (2004). Infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 6(23), 1–16. <https://doi.org/10.1017/S1462399404008440>
- Young, L. S., & Rickinson, A. B. (2004). Epstein-Barr virus: 40 Years on. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 4, Issue 10, pp. 757–768). <https://doi.org/10.1038/nrc1452>

IX. ANEXOS

Anexo A: Ficha de recolección de datos.

CARACTERISTICAS SOCIODEOGRÁFICAS			
Código interno			
HC			
Edad			
Sexo	M:	F:	
Lugar de Nacimiento			
Lugar de procedencia			
CARACTERISTICAS CLÍNICAS			
FECHA BX:		FECHA MO:	
FECHA ÚLTIMO CONTROL:		ESTADIO CLÍNICO	
STATUS AL ÚLTIMO CONTROL		Vivo	Muerto
STATUS ENFERMEDAD		Activa	No activa
CARACTERISTICAS ANATOMO-PATOLOGICO			
DIAGNOSTICO TOPOGRAFICO			
DIAGNOSTICO MORFOLOGICO			
INMUNOFENOTIPO			
CD20	CD3	CD10	
BCL2	BCL6	TdT	

Anexo B: Carta de aprobación del comité revisor de INEN**PERÚ****Sector
Salud****Instituto Nacional de
Enfermedades Neoplásicas****"DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES"
"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"**

Lima, 31 de octubre 2020

CARTA N° 077-2020-CRPI-DI-DICON/INEN

Doctor
SANDRO CASAVILCA ZAMBRANO
 Investigador Principal
 Presente. -

De nuestra consideración:

Es grato dirigirnos a usted para saludarle cordialmente y a la vez informarle que el Comité Revisor de Protocolos de Investigación del INEN, revaluó el documento que contiene el levantamiento de observaciones, **APRUEBAN** el protocolo Titulado: " **PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR VIRUS LINFOTRÓPICOS EN LINFOMAS DE CÉLULAS B AGRESIVOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS, 2009-2018**". INEN 20-62.

De acuerdo con las normas deberá presentar un informe por correo electrónico al término del protocolo o en su defecto el seguimiento a los 6 o 12 meses sobre los avances del mismo a esta Oficina.

Sin otro particular, quedamos de usted.

Atentamente,

M.C. Rossana Ruiz Mendoza
 Presidenta del CRPI-INEN

M.C. Alejandro Dagnino Varas
 Miembro Suplente del CRPI-INEN

Cc/Archivo
 lc.



INEN
 Av. Angamos Este 2520 -
 Surquillo
 Telf.: 201-6500
 www.inen.sld.pe
 Lima - Perú

Anexo C: Carta de aprobación del comité de ética de INEN



COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES
"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"

Lima, 22 de diciembre de 2020

CARTA N° 543-2020-CIEI/INEN

Doctor
SANDRO CASAVILCA ZAMBRANO
Investigador Principal

Presente.-

REFERENCIA: PROTOCOLO: "PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR VIRUS LINFOTRÓPICOS EN LINFOMAS DE CÉLULAS B AGRESIVOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS 2009-2018". INEN 20-62

ASUNTO: Resultado de la revisión:

De mi consideración:

Mediante el presente, tengo a bien dirigirme a usted para informarle que el Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) del INEN, ha realizado la revisión de los documentos complementarios a su proyecto, recibiendo la siguiente calificación.

Aprobado sin observaciones

Habiéndose revisado los siguientes documentos:

- Protocolo de Investigación
- Ficha de recolección de datos

Sin otro particular, quedo de Ud.

Atentamente,

Dr. ARÍSTIDES JUVENAL SÁNCHEZ LIHÓN
PRESIDENTE
Comité Institucional de Ética en Investigación
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

C.c.: Archivo
JSL/MMC/ice



Av. Angamos Este 2520 - Surquillo
Telf: 201-6500
www.inen.sld.pe
Lima - Perú

Anexo D: Porcentaje tumoral en la evaluación histológica.

Código	% Tumoral
LB1	100
LB2	95
LB3	95
LB4	100
LB5	100
LB6	80
LB7	95
LB8	85
LB9	85
LB10	80
LB11	80
LB12	100
LB13	75
LB14	100
LB15	95
LB16	95
LB17	90
LB18	70
LB19	75
LB20	95

Anexo E: Cuantificación de ADN.

Código	[ng/μl]	260/280	260/230
LB1	662	1.85	1.78
LB2	136	1.98	2.08
LB3	1300	1.9	1.8
LB4	257	1.92	1.88
LB5	25	1.9	1.69
LB6	460	2	2.02
LB7	1800	1.98	1.67
LB8	88	1.86	1.76
LB9	814	1.94	1.87
LB10	130	2.01	2.02
LB11	43	1.94	1.9
LB12	741	2.03	2.01
LB13	1024	1.94	1.96
LB14	758	1.94	1.99
LB15	250	2.03	1.97
LB16	410	2.02	1.99
LB17	750	2.01	1.95
LB18	350	2.02	1.97
LB19	100	1.87	1.78
LB20	302	1.99	1.97

Nota. Resultados de cuantificación por espectrofotometría (Equipo: Nanodrop® 2000c, Thermofisher Scientific) de las muestras de ADN extraídas a partir de tejido parafinado.