



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

---

## VEB Y EL LINFOMA DE HODGKIN: RELACIÓN ETIOPATOGENÉTICA

Autor:

Ana Isabel Pimentel Feliciano

Directora:

Dra. Blanca Conde Guerri

Facultad de Medicina

2016

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
LINFOMA DE HODGKIN .....	4
Antecedentes históricos.....	4
Epidemiología descriptiva .....	5
Consideraciones etiológicas .....	6
Clasificación histopatológica del Linfoma Hodgkin .....	7
Origen de las células Reed-Sternberg .....	8
PAPEL DEL VIRUS EPSTEIN BAR .....	13
Características estructurales .....	13
Ciclo vital del Virus Epstein-Barr .....	14
Modelos de latencia vírica .....	14
Papel etiopatogénico en el LHc.....	15
<i>Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA-1)</i> .....	16
<i>Latent Membrane Protein 1 (LMP-1)</i> .....	16
<i>Epstein-Barr encoded RNAs (EBERs)</i> .....	17
<i>Latent Membrane Protein 2A (LMP2-A)</i> .....	17
<i>Bam HI-A Rightward Transcripts (BARTs)</i> .....	19
Relación con HLc .....	20
Activación de la vía de transcripción NF- $\kappa$ B y JAK/STAT .....	21
Susceptibilidad genética.....	24
PAPEL DEL MICROAMBIENTE INFLAMATORIO.....	26
Relación entre VEB y el microambiente de LHc .....	28
DISCUSIÓN.....	30
GLOSARIO .....	32
BIBLIOGRAFÍA.....	34

## RESUMEN

El Linfoma Hodgkin clásico (LHc) es la neoplasia linfoide más frecuente y cuyas características epidemiológicas y biológicas son consideradas únicas entre los linfomas. Presenta una composición celular en la que su estroma inflamatorio es el principal protagonista y sus células tumorales, también denominadas células Reed-Sternberg, son prácticamente inexistentes. Su origen celular siempre fue controvertido pero actualmente el LHc es considerado una neoplasia clonal de células B que debido a un proceso de reprogramación génica pierden su fenotipo habitual y expresan una amplia variedad de marcadores de otras estirpes hematopoyéticas.

A pesar de las variadas hipótesis etiológicas que han ido surgiendo a lo largo de los tiempos, la patogénesis de esta enfermedad sigue siendo bastante desconocida.

Desde el descubrimiento del Virus Epstein-Barr (VEB) en 1964, se conoce su asociación con varias enfermedades malignas. Su presencia en una proporción de células tumorales Reed-Sternberg (RS) hizo especular sobre su posible implicación en esta enfermedad. Además, se ha demostrado que los individuos que habían padecido mononucleosis infecciosa tenían un riesgo superior de desarrollar LHc. Todo ello, junto a múltiples evidencias moleculares sostiene la hipótesis de su implicación etiopatogénica en el LHc. Pero, ¿Por qué no todos los pacientes infectados desarrollan la enfermedad? Se conoce que el virus no es suficiente para el desarrollo tumoral y necesita la participación de otros factores que favorezcan su potencial oncogénico, como el microambiente inflamatorio. De esta forma se establece una compleja red de interacciones moleculares que activan de forma aberrante múltiples vías de señalización y factores de transcripción que permiten el desarrollo del LHc. Las principales vías disreguladas son la NF- $\kappa$ B y JAK/STAT que presentan frecuentemente mutaciones en varios genes reguladores. Esto hace especular sobre la contribución de algunos aspectos genéticos y *locis* de riesgo que además podrán explicar el desarrollo de esta enfermedad en pacientes seronegativos. También se han detectado recientemente polimorfismos en las moléculas de HLA que predisponen el escape tumoral tanto de las células Reed-Sternberg infectadas como las que presentan negatividad al virus, constituyendo igualmente otro factor de riesgo.

Este trabajo revisa todos estos aspectos ya que creemos que el conocimiento de su etiología y mecanismo etiopatogénico podría ofrecer estrategias terapéuticas más dirigidas y con mejores resultados futuros a los enfermos del LHc.

**Palabras clave:** Linfoma Hodgkin clásico, virus Epstein-Barr, microambiente inflamatorio, susceptibilidad genética

## **ABSTRACT**

Classical Hodgkin lymphoma (HLc) is the most common lymphoid malignancy and it is considered a unique disorder among the lymphomas because of its epidemiological and biological characteristics. It has a cellular composition in which the inflammatory stroma is the main constituent and its tumor cells, named Reed-Sternberg cells (RS), are almost nonexistent. Its cellular origin was always controversial but nowadays the HLc is considered a clonal B cell malignancy that has lost their normal phenotype and expresses a wide variety of other hematopoietic markers due to a genetic reprogramming process.

In spite of having emerged multitudinal etiological explanations in the last years, the pathogenesis of this disease remains largely unknown. Since the discovery of Epstein-Barr Virus (VEB) in 1964, it has been associated with different malignancies. The infection of some Reed-Sternberg cells suggests that this virus could be involved in HLc. Furthermore, it has been shown that individuals who had suffered infectious mononucleosis have a higher risk of developing this malignant disorder. Both aspects together with various molecular evidences support the etiological involvement of VEB in HLc.

However, why not all infected patients develop this disease? It was also found that the virus itself is insufficient and needs the coexistence of other beneficial factors such as the inflammatory microenvironment which could stimulate its oncogenic potential. Furthermore, this complex molecular interactions network could activate multiple signaling pathways and transcription factors which certainly contribute to HLc development. NF- $\kappa$ B and JAK/STAT are the main deregulated pathways and it is also known that both commonly have mutations in several regulator genes. This evidence leads us to speculate on the contribution of some genetic risk *loci* for HLc which also might explain the development of this disease in VEB-uninfected patients. Additionally, it was recently detected some HLA polymorphisms which could also be considered a risk factor as it might contribute to both infected and uninfected cells escape from apoptosis.

This work reviews all these aspects because we wholeheartedly believe that expanding knowledge of etiology and pathogenic mechanisms on HLc disease could provide to patients with more targeted and better therapies in the near future.

**Keywords:** Classical Hodgkin lymphoma, Epstein-Barr virus, inflammatory microenvironment, genetic susceptibility

## INTRODUCCIÓN

El Linfoma Hodgkin (HL) o también denominada Enfermedad de Hodgkin (EH) es una neoplasia primaria de los ganglios linfáticos, de índole granulomatosa, constituida por una celularidad tumoral característica, entremezclada con un importante componente celular inflamatorio reactivo <sup>[1]</sup>.

Nuestro trabajo se centra en el estudio del complejo papel etiopatogénico del virus Epstein-Barr (VEB) en el Linfoma Hodgkin clásico (LHc), la principal variante de esta enfermedad y la única que presenta una aparente asociación con este virus. A pesar de su poca incidencia, el LHc es considerado el linfoma más frecuente del mundo occidental <sup>[2]</sup>. Es una enfermedad con predominio en la población joven y anciana que presenta escasa expresividad clínica <sup>[3]</sup>. En algunos casos es posible describir síntomas B (fiebre, sudoración profusa y pérdida de peso) que son característicos pero muy inespecíficos <sup>[3,4]</sup>. A pesar de ello, el LHc es una enfermedad potencialmente curable con una supervivencia general del 85%, aproximadamente. Sin embargo, sus tratamientos quimio y radioterápicos tradicionales se revelan extremadamente agresivos. Sus complicaciones futuras son especialmente temibles ya que determinará un aumento del riesgo de segundas neoplasias, enfermedades cardiovasculares y muerte prematura. Los problemas futuros de infertilidad son otro aspecto que parece inicialmente insignificante pero que puede revelarse psicológicamente devastador en las edades reproductivas. Recientes estudios han observado que aún cuando se preserva la fertilidad, el 50% de las mujeres presentan fallo ovario prematuro y el 65% de la población masculina presenta disfunción gonadal precoz. Todo ello condiciona un impacto psicosocial importante y una importante alteración en la calidad de vida de estos pacientes <sup>[4]</sup>. Ciertamente, el conocimiento del origen y patogénesis del LHc podría establecer nuevas dianas terapéuticas y adaptar los tratamientos actuales a estrategias más dirigidas que podrían disminuir considerablemente los efectos secundarios tan temibles por estos pacientes <sup>[4]</sup>. Sin embargo, su escasa incidencia así como su especial composición celular dificultan ampliamente su estudio y hacen que su origen siga siendo todavía bastante incierto en la actualidad <sup>[2,3,5]</sup>. Aparentemente, el VEB es el factor que mayor implicación etiopatogénica presenta pero existen cada vez más evidencias que hablan a favor de una posible predisposición genética como base de su potencial oncogénico y como la probable justificación del desarrollo de la enfermedad en pacientes seronegativos <sup>[2,3,6,7]</sup>. Con base en esto, intentaremos adentrarnos en el papel del virus en los principales mecanismos y vías implicadas en la patogénesis de esta enfermedad, así como la contribución del microambiente celular y de ciertos aspectos génicos recientemente descubiertos.

## LINFOMA DE HODGKIN

El Linfoma Hodgkin es una entidad maligna que presenta unos rasgos epidemiológicos y biomoleculares únicos que desde siempre ha despertado un interés por parte de patólogos e investigadores<sup>[3]</sup>.

Desde el punto de vista citológico, la célula de Reed-Sternberg (RS) constituye el principal elemento diagnóstico, si bien su presencia no es patognomónica de esta enfermedad<sup>[5,6]</sup>. A pesar de las distintivas características que definen estas células, su identificación es difícil de lograr ya que, curiosamente, el Linfoma de Hodgkin es la única neoplasia en la que su población tumoral representa menos del 1% del total de la celularidad del tumor<sup>[7,8]</sup>. Por ello, el gran protagonista de esta enfermedad es, indudablemente, su microambiente inflamatorio. En él se hallan típicamente linfocitos B y T, histiocitos, células epitelioides, neutrófilos, eosinófilos, células plasmáticas y fibroblastos, como resultado de la liberación de citocinas inflamatorias<sup>[8]</sup>.

Dentro del LH, nos encontramos dos entidades patológicas diferentes: Linfoma Hodgkin clásico y Linfoma Hodgkin de predominio linfocítico nodular (LHPLN). Ambos difieren en incidencia, pronóstico y contexto clínico<sup>[9]</sup>. Sin embargo, la principal diferencia la establece la propia célula Reed-Sternberg en cuanto a su morfología, inmunohistoquímica y relación con el virus Epstein-Barr<sup>[1,2,10,11]</sup>. En realidad, el LHc es el más incidente y el que reúne la mayoría de las características típicas de los Linfomas Hodgkin. Esta entidad incluye cuatro subtipos histopatológicos: esclerosis nodular (EN), celularidad mixta (CM), predominio linfocítico (PL) y depleción linfocitaria (DL)<sup>[5,10,12]</sup>.

### Antecedentes históricos

A pesar de la existencia de descripciones de algunas enfermedades linfoproliferativas desde 1666 por Marcello Malpighi, posiblemente el punto de inicio de los Linfomas haya sido en la primera mitad del siglo XIX, cuando Thomas Hodgkin presentó ante la Sociedad Médico-Quirúrgica Inglesa su trabajo sobre el estudio anatómo-patológico (sin descripción histológica) de siete casos de adenopatías y esplenomegalia<sup>[5,12]</sup>.

*"One some morbid appearances of the absorbent glands and spleen (...) The morbid alterations of structure which I am about to describe are probably familiar to many practical morbid anatomists, since they can scarcely have failed to have fallen under their observation in the course of cadaveric inspection. They have not, as far as I am aware, been made the subject of special attention, on which account I am induced to bring forward a few cases in which they have occurred to myself."*<sup>[13]</sup>

Thomas Hodgkin creía que estos hallazgos no deberían ser considerados consecuencias de otras enfermedades ya conocidas, como la Tuberculosis.

*"... this enlargement of the glands [lymph nodes] appeared to be a primitive [primary] affection of those bodies, rather than the result of an irritation propagated to them [via lymph vessels] from some ulcerated surface or other inflamed texture..."<sup>[13]</sup>*

En su época, los términos "neoplasia" y "malignidad" no eran todavía conocidos. A pesar de ello, Hodgkin estaba convencido de que la escasa sintomatología en casos tan avanzados como los que él había descrito probablemente escondiera una enfermedad mortal.

*"A pathological paper may perhaps be thought of little value if unaccompanied by suggestions designed to assist in the treatment, either curative or palliative;... I have nothing to offer."<sup>[13]</sup>*

En 1865, Samuel Wilks, publicó un artículo titulado "Enfermedad Lardácea" en el que claramente mencionaba el trabajo de Hodgkin. En este artículo, Wilks describió 45 casos, destacando cuatro de ellos en particular que correspondían a cuatro de los siete descritos originalmente por Hodgkin. Wilks dio una descripción más detallada de los casos, incluyendo tanto datos clínicos como anatómicos, por lo que se ha dicho que bien podría haberse llamado "Enfermedad de Wilks". Sin embargo, en su artículo él mismo llamó a esta entidad "Enfermedad de Hodgkin", concepto que ha perdurado hasta la actualidad<sup>[5,12]</sup>.

En 1865, Wilks realizó por primera vez una descripción histológica de los Linfomas Hodgkin. Sin embargo, fue solamente en 1892 cuando Carl Sternberg y posteriormente Dorothy Reed en 1902, describieron en detalle las características de las células típicas de esta entidad, las células Reed-Sternberg. A pesar de que, curiosamente, ninguno de los dos las interpretó inicialmente como malignas<sup>[5,12,13]</sup>.

## **Epidemiología descriptiva**

El LH supone aproximadamente el 1% de todas las neoplasias y el 10% de todos los Linfomas. En Europa, presenta una incidencia anual de tres nuevos casos por cada 100.000 habitantes y a diferencia de los Linfomas no-Hodgkin, ésta parece haberse mantenido bastante estable a lo largo del tiempo<sup>[2,7]</sup>.

Con respecto a la edad al momento del diagnóstico, el LH presenta una distribución bimodal que varía en dependencia de la localización geográfica<sup>[7,14]</sup>. Los países desarrollados tienen un primer pico de incidencia en la tercera década de la vida. Mientras que los no industrializados lo presentan en edades más tempranas, habitualmente antes de la adolescencia<sup>[10,14]</sup>. Ambos presentan un segundo pico de incidencia a partir de los 50 años que

puede deberse a la confusión diagnóstica con otras entidades clínicas similares, como el Linfoma Anaplásico y el Linfoma de células B<sup>[15]</sup>.

Entre los dos tipos de LH, el Linfoma Hodgkin clásico es claramente el más incidente, representando el 95% de todos los casos detectados (Fig.1)<sup>[2,7,16]</sup>. El predominio entre sus subtipos histológicos varía según la edad. De forma general, el subtipo más frecuente es la esclerosis nodular que representa un 70% de los casos, seguido de la celularidad mixta con una incidencia del 20-25%, ambas con predominio en la población adulta joven. Sin embargo, es importante mencionar que en los países no industrializados este orden de frecuencia se invierte, siendo más incidente la CM y con mayor predominio en la infancia. El predominio linfocítico es el tercero más frecuente, englobando el 5% del total de casos, en especial a partir de los 50 años. La depleción linfocítica es el subtipo menos incidente, con cerca del 1% de los pacientes, siendo típico entre la población más anciana e inmunodeprimida<sup>[2,5,14]</sup>.

Analizando estos datos, podríamos establecer una relación entre los diferentes subtipos del LHc y la curva de distribución bimodal. De una forma general, el primer pico de incidencia correspondería a los subtipos más frecuentes en la población juvenil, EN y CM, que además resultan ser los más incidentes mundialmente. Por otro lado, el segundo pico comprendería los dos subtipos más frecuentes en la población mayor de 50 años, PL y DL<sup>[3,14]</sup>.

Por otro lado, se conoce que el LH es una enfermedad con importantes diferencias en cuanto a sexo y raza. Su incidencia es claramente mayor en varones, con una relación 1,5:2,1 (Fig.1)<sup>[2]</sup>. También es más incidente en los individuos caucásicos, seguido de los afroamericanos e hispanos, presentando una menor frecuencia en individuos asiáticos<sup>[2,3]</sup>.

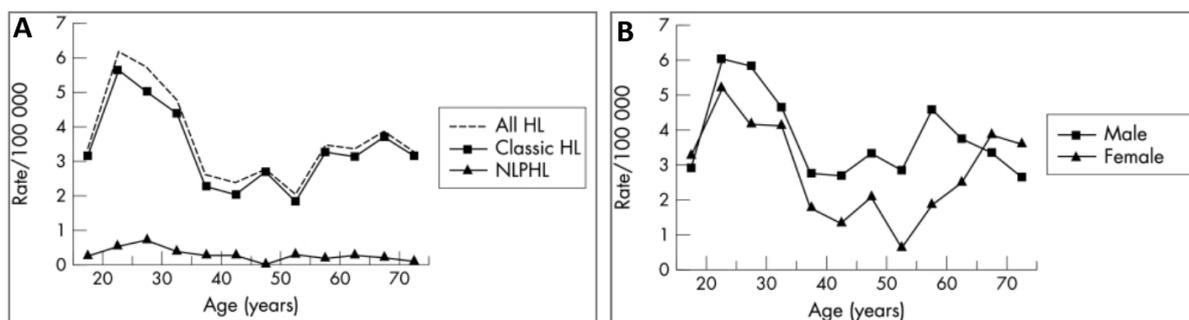


Fig.1: A) Todos los casos de LH, LHc y LHPLN; B) Distribución del LHc por sexos.

[16] Jarrett RF, et al. 2003.

### Consideraciones etiológicas

El origen de los Linfomas Hodgkin siempre ha sido una incógnita para la comunidad científica (Fig.2). Algunos estudios epidemiológicos de brotes en comunidades y zonas escolares sugieren la participación de un agente probablemente infeccioso. Hasta el momento, el agente más estudiado ha sido el virus Epstein-Barr cuya presencia se ha podido demostrar en más de la mitad de las células Reed-Sternberg analizadas. Sin embargo, su presencia no

significa necesariamente que esté involucrado en la patogénesis de esta enfermedad. Aun así, esta hipótesis es muy probable ya que muchos datos sugieren que su presencia influye considerablemente en la forma en la que las células neoplásicas escapan al sistema inmune [11,17]. También se han estudiado otros posibles agentes infecciosos como potenciales co-factores en el LHC como el citomegalovirus, el virus herpes 6 y 7, adenovirus y paramyxovirus pero actualmente no existe evidencia suficiente que avale su implicación patogénica [3].

Del mismo modo, se han descrito casos en los que individuos de la misma familia han desarrollado esta enfermedad, por lo que se sospecha una posible susceptibilidad genética. Además, se conoce que el LH es 99 veces más frecuente en un gemelo homocigótico que en la población general [2,6]. También se ha encontrado una cierta agregación familiar entre esta entidad y otras enfermedades linfoproliferativas, aunque no está claro si esta relación es una consecuencia de su propia patogénesis o de su tratamiento [18,19].

Entre las diversas hipótesis etiológicas, también se encuentran las alteraciones del sistema inmunológico. Se conoce que situaciones de inmunosupresión pueden ocasionar un mayor riesgo de desarrollar LH, que con frecuencia presentan subtipos histológicos más agresivos como la depleción linfocítica.

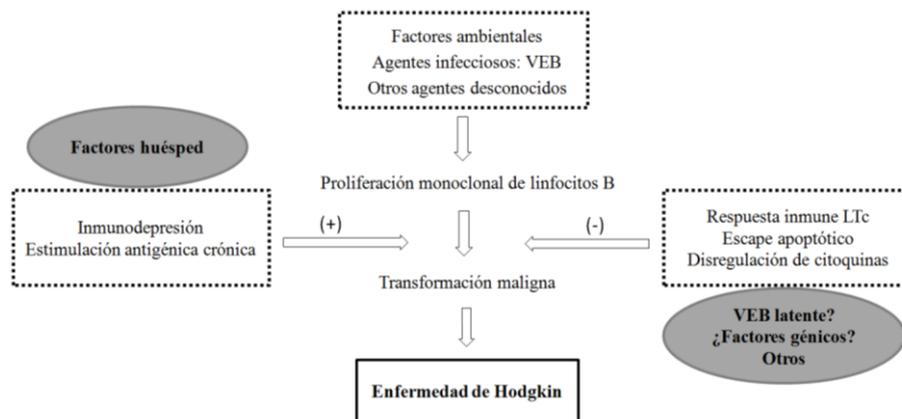


Fig.2: Múltiples hipótesis sobre la patogénesis del Linfoma Hodgkin

### Clasificación histopatológica del Linfoma Hodgkin

La clasificación de los Linfomas Hodgkin ha sido desde siempre fuente de controversia mundial. En 1940, Henry Jackson y Frederic Parker propusieron la primera clasificación basada en la histopatología y presentación clínica de esta entidad hasta ese momento conocida. Describieron solamente tres subtipos que incluían el concepto de Paragranuloma, Granuloma y Sarcoma de Hodgkin [19].

En 1963, Robert Lukes y James Butler describieron el concepto de esclerosis nodular y celularidad mixta. También definieron otras variantes del Linfoma Hodgkin por lo que presentaron una nueva clasificación que incluía seis subtipos histopatológicos diferentes

[5,12,19]. A pesar de su utilidad, la comunidad científica la consideraba poco reproducible por lo que en 1964 en una Conferencia en Rye, se decidió simplificarla, obteniéndose una clasificación con apenas cuatro categorías diagnósticas (Fig.3)<sup>[19]</sup>.

En 1994 se publicó la clasificación R.E.A.L propuesta por el *International Lymphoma Study Group*<sup>[5,20]</sup>. Esta clasificación estaba basada en aspectos más amplios que incluían datos clínicos, morfológicos y fenotípicos, que permitieron aclarar la existencia de dos grandes grupos de enfermedades, los Linfomas de Hodgkin y los no-Hodgkin que a su vez se estratificaron en neoplasias de células B, T y NK<sup>[20,21]</sup>. Además, se ha demostrado que el Linfoma de Hodgkin comprendía dos entidades histopatológicas diferentes: Linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular y Linfoma de Hodgkin clásico, al que se agregó además una nueva variante denominada “Rica en linfocitos” (Fig.3)<sup>[12]</sup>.

Sin embargo, las sociedades Americana y Europea de Hematopatología han llevado a cabo una reedición de estas entidades, dando origen a la clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) publicada en 2001. En 2008 esta clasificación ha sido actualizada con el objetivo de simplificar su estratificación, reconociéndose únicamente las enfermedades cuyas características morfológicas y clínicas sean diferenciales, excluyendo las variaciones de agresividad o de su grado histológico<sup>[20,22]</sup>.

Jackson y Parker (1940)	Rye Conference (1966)	R.E.A.L/OMS (1994/2008)
<b>Paragranuloma</b>	Predominio linfocítico	Predominio linfocítico nodular (LHPLN) Predominio linfocítico
<b>Granuloma</b>	Esclerosis nodular Celularidad mixta	Esclerosis nodular Celularidad mixta
<b>Sarcoma</b>	Depleción linfocitaria	Depleción linfocítica

Fig.3: Evolución temporal de las clasificaciones histológicas del Linfoma de Hodgkin

Curiosamente, y a pesar de las grandes modificaciones descritas desde 1994, la división original de los Linfomas Hodgkin propuesta entonces siempre ha sido conservada en posteriores actualizaciones<sup>[18,20,22]</sup>.

### Origen de las células Reed-Sternberg

El dilema sobre el origen de las células Reed-Sternberg dominó casi todo el siglo XX pese al vertiginoso progreso de la biología molecular en esta época. Finalmente, en 1994, Küppers R y sus colaboradores concluyeron de forma definitiva que, en la mayoría de los casos, estas células son clones de los linfocitos B<sup>[1]</sup>. El proceso de maduración se inicia cuando los linfocitos B se activan por el antígeno, mediante la unión de los mismos al receptor de la célula B (BCR) lo que provoca la migración de las células B a los ganglios linfáticos donde se someten

a múltiples procesos que permiten su maduración y proliferación [3,7]. Se sabe que su proliferación se caracteriza por un mecanismo de hipermutación somática, en el que se producen varios tipos de mutaciones, principalmente en los genes de la región variable de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas [7,8]. Este mecanismo es esencial porque permite la selección de los linfocitos B con mayor afinidad antigénica. Sin embargo, cuando estas mutaciones son perjudiciales y generan un codón stop o deleciones (mutaciones incapacitantes) se altera la lectura génica que inducirá la apoptosis celular en condiciones normales (Fig.4) [3,8].

Las células de Reed-Sternberg, al ser clones de linfocitos B, también evidencian mutaciones somáticas y reordenamientos clonales de inmunoglobulinas. De hecho, este ha sido el principal argumento a favor de su origen a partir de las células B [1,3,5]. Se ha podido demostrar que las células Reed-Sternberg carecen de un BCR funcional y que una cuarta parte presenta mutaciones incapacitantes pero debido a modificaciones en su expresión génica, logran escapar a la respuesta inmunitaria y a la apoptosis [3,10]. La pérdida del BCR funcional podría explicarse por estas mutaciones pero, en la mayoría de las ocasiones, es causada por la pérdida de factores de transcripción que regulan la expresión de genes típicos de las células B.

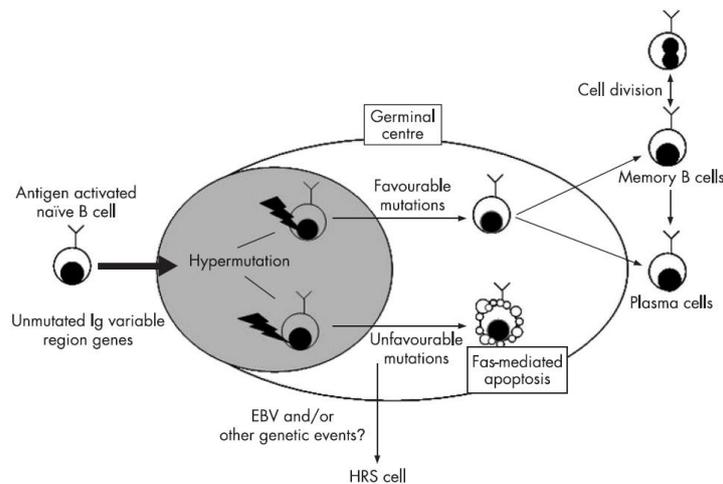


Fig.4: Origen de las células Reed-Sternberg [2] Kapatai G, et al. 2007.

### Características morfológicas e inmunohistoquímicas del LHc

El diagnóstico del Linfoma de Hodgkin clásico se basa en varios aspectos que incluyen la identificación morfológica de la célula Reed-Sternberg (RS), la valoración de su entorno inflamatorio y el análisis de su inmunofenotipo [12].

Morfológicamente, esta célula se caracteriza por su gran diámetro (20-60µm) y por presentar un citoplasma amplio, basófilo, típicamente ocupado por una gran infinidad de vacuolas de contorno impreciso [5,6]. El núcleo es múltiple, siendo frecuente la binucleación con dos elementos nucleares, enfrentados, dando una imagen en espejo (Fig.5). También es

posible encontrar células mononucleares, en cuyo caso se trata de una célula pre-Sternberg o también denominada célula de Hodgkin (Fig.5). Ambas clases celulares presentan características similares, siendo lo más llamativo el gran tamaño de sus nucléolos (similar al de un hematíe) y la intensísima basofilia de los mismos <sup>[1]</sup>. La frecuente coexistencia de ambas células en el mismo frotis ganglionar ha postulado una posible relación entre ellas. Por ello, desde siempre se pensó que las células de Hodgkin daban lugar a las células Reed-Sternberg por endomitosis. Sin embargo, este concepto ha cambiado cuando Rengstl B y sus colaboradores publicaron en 2013 la teoría de la re-fusión celular. En este proceso, se daría la fusión de varias células de Hodgkin entre sí, lo que originaría las multinucleadas Reed-Sternberg <sup>[1,23]</sup>.

En los diferentes subtipos del Linfoma Hodgkin clásico, es posible encontrar variantes morfológicas de las células RS como las células lacunares, pleomórficas y momificadas (apoptósicas) <sup>[5,12,22]</sup>. Las células lacunares presentan núcleos más lobulados, nucléolos más pequeños y una retracción del citoplasma que les da el aspecto de estar en una laguna (Fig.6). Las células pleomórficas tienen una forma nuclear bastante más variable y las momificadas presentan una importante pérdida de su volumen plasmático, ya que se preparan para sufrir la apoptosis (Fig.6) <sup>[11,12]</sup>. Si bien el diagnóstico de esta enfermedad sólo debería hacerse cuando se hallan células RS típicas, también es posible realizarlo cuando se encuentran algunas de estas variantes, por lo que su hallazgo es igualmente importante <sup>[12]</sup>.

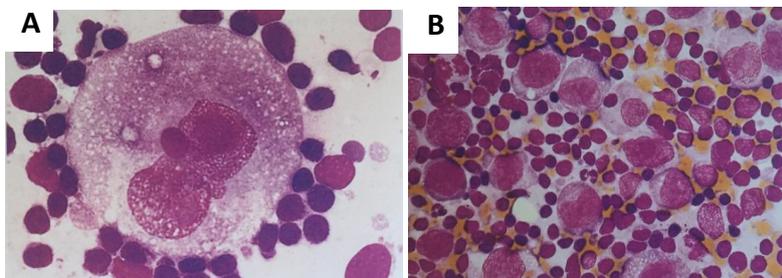


Fig.5: A) Células Reed-Sternberg con sus nucléolos gigantes azul-violáceos (X1000; May-Grünwald-Giemsa); B) Células de Hodgkin (X250; May-Grünwald-Giemsa)  
 [23] Woessner S, et al. 1983.

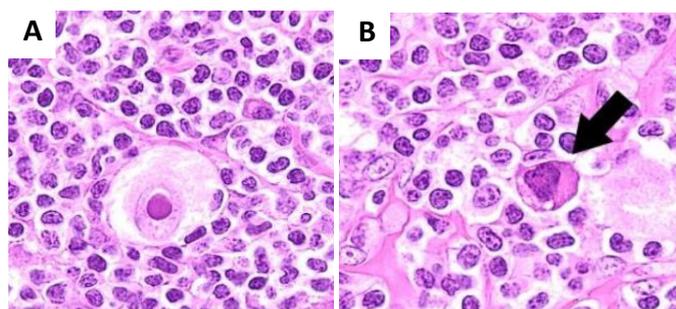


Fig.6: A) Célula lacunar (X400; HE); B) Célula momificada (X250; HE)  
 [4] Agostinelli C, Pileri S. 2014.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, las tres variantes del LHc presentan el mismo fenotipo que las células Reed-Sternberg<sup>[12,22]</sup>. Debido a su proceso de reprogramación génica, estas células pierden los marcadores típicos de los linfocitos B, por lo que es rara la positividad al CD20 (Fig.7). Así mismo, es frecuente que presenten un inmunofenotipo similar al de otras estirpes celulares con la expresión de marcadores de células T, especialmente CD3, NOTCH.1, GATA3, de células citotóxicas, células dendríticas y células mieloides<sup>[2,3,7]</sup>. Sin embargo, lo más típico y que aparece en el 98% de estas células es la positividad a CD30 (Fig.7), un marcador que fue propuesto como posible molécula diana en terapias biológicas y que produjo resultados prometedores en casos LHc refractarios a los tratamientos convencionales<sup>[5]</sup>. Estas células también suelen ser positivas para el CD15 (típico de los granulocitos y monocitos) en más del 80% de los casos (Fig.7). Se conoce que ambos marcadores, en especial el CD15, tienen importante valor pronóstico, siendo su negatividad un marcador de mala evolución clínica. Habitualmente presentan negatividad para el CD45 y el EMA (antígeno epitelial de membrana) (Fig.7)<sup>[5,12,22]</sup>. Del mismo modo, es importante observar cuidadosamente su entorno celular reactivo para confirmar que éste también presenta un inmunofenotipo adecuado y compatible con el diagnóstico del LHc. Sus componentes son principalmente linfocitos T cooperadores, por lo encontraremos mucha positividad al CD4. Además, es frecuente que los linfocitos que rodean a las células RS expresen ligandos CD30L y CD40L<sup>[12]</sup>.

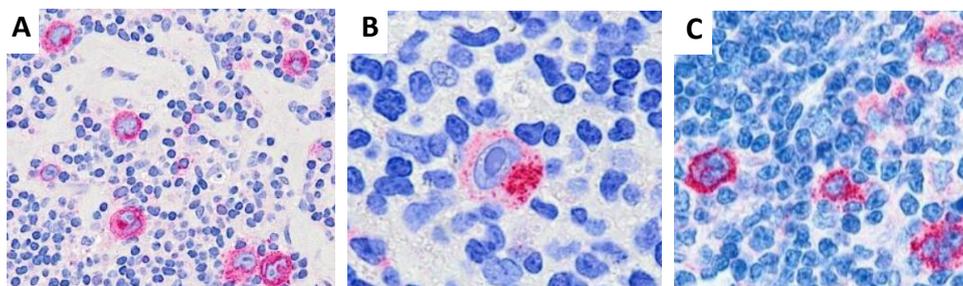


Fig. 7: Expresión de marcadores en las células Reed-Sternberg. A) CD30+ (X100); B) CD15+ (X400); C) EMA+ (X250)

[4] Agostinelli C, Pileri S. 2014.

Los diferentes subtipos del Linfoma Hodgkin clásico difieren no solo en la morfología de las células Reed-Sternberg sino que también presentan otros factores discriminatorios como son la composición del entorno celular, el patrón de crecimiento tumoral, e incluso sus características clínicas y patrón de frecuencia de la infección por el virus Epstein-Barr (Fig.8)<sup>[12]</sup>.

<i>Subtipo</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Demografía</i>	<i>Localización</i>	<i>Estadio</i>	<i>Pronóstico</i>	<i>Tipo de células RS</i>	<i>Frecuencia de VEB</i>
Esclerosis nodular	Más común 70% Alto nivel socioeconómico	Adolescentes, adultos jóvenes ± 28 años	Ganglios cervicales o supraclaviculares Mediastino 80%	I-II	Bueno	Células lacunares	LMP-1 10-40%
Celularidad mixta	20-25% Países subdesarrollados	Adultos < 50% (38 años) VIH	Ganglios periféricos Bazo 30% MO 10%	III-IV	Agresivo	R-S	LMP-1 Frecuente 75%
Disminución linfoide	1% Países subdesarrollados	Hombres 30-37 años Asociado a VIH	Ganglios retroperitoneales Bazo, MO, hígado	Avanzado III-IV	Agresivo	R-S pleomórficas	LMP-1 90%
Rico en linfocitos	5%	> 40 años 70% hombres	Ganglios periféricos Masa mediastinal 15%	Avanzado II-III	Similar a EN	R-S	LMP-1 50%

Fig.8: Características diferenciales entre los subtipos del Linfomas Hodgkin clásico  
[18] Torres L, y col. 2009.

## **PAPEL DEL VIRUS EPSTEIN BAR**

El virus Epstein-Barr (VEB) o virus herpes humano 4 (HHV-4), es un gamma herpes virus que pertenece a la familia *Herpesviridae* del genero *Lymphocryptovirus*. Es un tipo de virus que además de infectar, también puede establecer virulencia, incrementar la producción de inmunoglobulinas e inducir la proliferación linfoide B<sup>[24]</sup>.

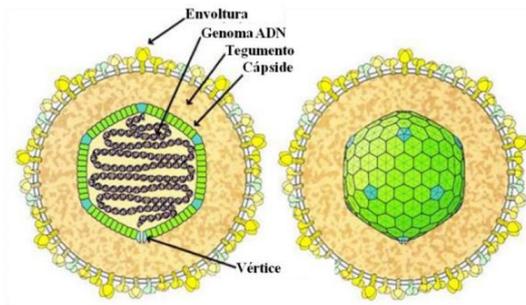
En 1958, Dennis Burkitt describió por primera vez las características clínicas y patológicas del Linfoma de Burkitt y en su descubrimiento el investigador planteó ya la posibilidad de que esta enfermedad estuviera en relación con el VEB. Más tarde, en 1964, Epstein, Achong y Barr lograron identificar partículas del virus en muestras de uno de esos tumores linfáticos africanos<sup>[24,25]</sup>.

En la actualidad se conocen varias evidencias que permiten vincular el VEB con varias enfermedades malignas, como el carcinoma nasofaríngeo y gástrico, la variante clásica del Linfoma Hodgkin y otros síndromes linfoproliferativos de células B<sup>[25]</sup>. Sin embargo, el virus es capaz de presentar diferentes formas de latencia, lo que hace que su rol etiopatogénico en cada una de estas enfermedades sea muy variable y difícil de entender<sup>[11,25]</sup>. Por ello, es esencial conocer su estructura y sus modelos de latencia que se describirán a continuación.

### **Características estructurales**

Como otros miembros de la familia *Herpesviridae*, el VEB es un ADN virus constituido por una envoltura, un núcleo rodeado por una nucleocápside icosaédrica con 162 capsómeros y una proteína tegumentaria que se encuentra entre la nucleocápside y la envoltura<sup>[26]</sup>. Además contiene una capa externa que permite diferenciarlo de otros herpes virus, ya que contiene espículas predominantemente glicoprotéicas (Fig.9)<sup>[24,27]</sup>.

En cuanto a su estructura genómica, este virus posee un ADN lineal de doble cadena de 184 kb, constituido por más de 85 genes. Estos genes codifican diferentes productos genéticos que se pueden dividir en cuatro clases: proteínas de la fase latente, proteínas de la fase replicativa precoz inmediata, proteínas de la fase replicativa precoz y proteínas de la fase tardía. Se conoce que estas proteínas exhiben homología e interactúan con una amplia variedad de moléculas antiapoptóticas, citoquinas e incluso señales de trasducción, promoviendo de esta forma la infección y la immortalización del VEB así como la transformación celular<sup>[24,26]</sup>.



Virus de Epstein-Barr  
 Familia: *Herpesviridae* (ANDdc)  
 Género: *Lymphocryptovirus*  
 Especie: Herpesvirus humano 4 (HHV-4)

Fig.9: Representación de la estructura del VEB  
 [27] Chabay P. 2014.

### Ciclo vital del Virus Epstein-Barr

En la actualidad se conoce que el VEB es un virus oncogénico que infecta a más del 90% de la población mundial <sup>[11]</sup>. Se conoce que presenta dos ciclos de infección: lítico y latente, siendo su principal reservorio el tejido linfoide <sup>[24]</sup>. Su forma de transmisión fundamental es por vía oral, eliminándose a través de las secreciones orofaríngeas, a pesar de que también puede ser infectivo a través de transfusiones sanguíneas y trasplantes <sup>[24, 25]</sup>. Una vez atravesada su puerta de entrada, el virus se replica en una subpoblación de linfocitos B, y no en células epiteliales como se suponía en un principio. El primer contacto con el VEB suele ocurrir en la infancia y habitualmente produce una infección subclínica. La primoinfección clínicamente aparente se conoce como mononucleosis infecciosa (MI). Durante las etapas iniciales de la infección se observa un ciclo vírico productivo, en el cual tiene lugar la replicación vírica que destruirá la célula huésped y que parece estar controlada primariamente por una respuesta inmunológica mediada por linfocitos T citotóxicos (LTc) <sup>[11]</sup>.

Para entender el papel del VEB en la patogénesis de diversas neoplasias como el Linfoma Hodgkin es esencial saber que después de la infección primaria, sea clínica o subclínica, el virus nunca será completamente erradicado del organismo, y persistirá de forma latente continua en una subpoblación de linfocitos B. Para que esto ocurra de forma exitosa el VEB se enfrenta a dos principales obstáculos. Por un lado, debe impedir la lisis de su célula huésped mediada por LTc y además debe inhibir la apoptosis, dos estrategias que permiten a la célula huésped defenderse de la infección vírica en condiciones normales <sup>[11]</sup>.

### Modelos de latencia vírica

Se han identificado cuatro formas de latencia vírica. De forma general, esta fase se caracteriza por la expresión de 12 genes.

La forma de latencia tipo I se observa en los Linfomas Burkitt y en las células B en división. Su expresión se limita a los EBERS, BARTs y a la proteína EBNA-1. Esta última carece de capacidad inmunógena pero es totalmente indispensable para la replicación del ADN viral durante esta

fase <sup>[24,27]</sup>. La forma de latencia tipo II es la que más se asocia a neoplasias, y es el modelo más expresado en los Linfomas Hodgkin seropositivos. Además de las proteínas anteriormente comentadas, se expresan LMP-1, LMP-2A y 2B <sup>[20,24]</sup>.

La forma de latencia tipo III es la que se observa en la mononucleosis infecciosa y en la mayoría de los síndromes linfoproliferativos asociados a estados de inmunodepresión. En esta forma, se expresan todas las proteínas asociadas a la infección latente pero su gran inmunogenicidad hace que sean rápidamente eliminadas por los LTc, por lo que su expresión es bastante transitoria <sup>[27]</sup>. Son en realidad los estados de inmunodeficiencia los que realmente permiten que todos estos antígenos se expresen de forma continua sin que sean reconocidos por los LTc <sup>[20,24]</sup>. Por último, es posible observar un estado de latencia 0 en los linfocitos B circundantes infectados por el VEB. Este modelo se caracteriza por un silenciamiento en la expresión génica, haciéndolos invisibles al sistema inmunitario (Fig.10) <sup>[27]</sup>.

Perfiles de latencia	Antígenos expresados						Condición asociada
	EBERs/ BARTs	EBNA1	LMP1	LMP2A	EBNA2	EBNA3s/ EBNA-LP	
0	+/-	-	-	-	-	-	portador sano
I	+	+	-	-	-	-	LB CG
II	+	+	+	+	-	-	LH CNF LDGCB
III	+	+	+	+	+	+	MNI PTLD LDGCB

Abreviaturas: LB: linfoma de Burkitt; CG: carcinoma gástrico; LH: linfoma de Hodgkin; CNF: carcinoma nasofaríngeo  
MNI: mononucleosis infecciosa; LDGCB: linfoma difuso a grandes células B; PTLD: síndrome linfoproliferativo post trasplante

Fig.10: Patrones de expresión genética según el tipo de latencia del Virus Epstein-Barr.  
[27] Chabay P. 2014.

### Papel etiopatogénico en el LHC

Actualmente existen una serie de evidencias que permiten asociar el VEB al Linfoma Hodgkin clásico. Por un lado, se ha logrado demostrar la presencia del virus en las células Reed-Sternberg a través de técnicas de hibridación *in situ* que emplean bien el ADN o los ARN EBER 1/2 del virus (Fig.11), a pesar de que este hallazgo podría tener poca relevancia si la infección ocurriera en etapas tardías de la patogénesis tumoral <sup>[11]</sup>. Sin embargo, esta hipótesis ha sido descartada a través de la utilización de técnicas de hibridación *Southern Blot*, que han permitido observar que las células RS son en realidad una expansión clonal de una única célula progenitora infectada que ha sido seleccionada positivamente por el VEB, lo que confirma su implicación etiopatogénica en esta enfermedad <sup>[2,5,7,11,26]</sup>.

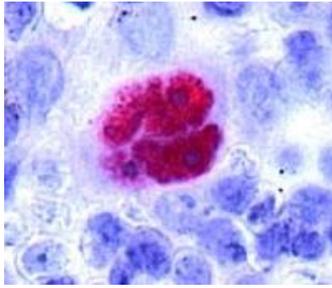


Fig.11: VEB integrado en el genoma de una célula Reed-Sternberg (X1000)  
[5] Agostinelli C, et al. 2014.

### **Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA-1)**

Es una proteína nuclear de unión al ADN cuyo principal objetivo es el mantenimiento y la replicación del genoma viral<sup>[3,24,27]</sup>. Es la única proteína necesaria para su replicación en fase latente, siendo también capaz de activar la transcripción de otras proteínas nucleares<sup>[3,24]</sup>. Además, se conoce que esta proteína no es presentada de forma eficiente por las moléculas clase I del HLA, por lo que los linfocitos B infectados que únicamente expresen esta proteína no son reconocidos por los LTc, favoreciendo su continua proliferación celular<sup>[27]</sup>.

### **Latent Membrane Protein 1 (LMP-1)**

Es una proteína de membrana altamente expresada en las células Reed-Sternberg infectadas y el principal oncogén del VEB (Fig. 12). Se ha logrado demostrar *in vitro* su capacidad de transformar los fibroblastos y los linfocitos B, así como alterar el crecimiento de células multipotenciales hematopoyéticas<sup>[3,24,27]</sup>.

LMP1 tiene además la capacidad de actuar como CD40 activo, un miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR), lo que le permite estimular una serie de vías de señalización. Al imitar su función, esta proteína logra unirse a los factores asociados a TNFR (TRAF) y esta unión permite, a su vez, la activación de varias vías de señalización, fundamentalmente las vías JAK/STAT y NF- $\kappa$ B que inducirán la expresión de una amplia variedad de genes involucrados en el aumento de la supervivencia e inhibición de la apoptosis celular, como el oncogén Bcl-2. Esta proteína de membrana también es capaz de promover la expresión de ciertos marcadores de activación celular como el CD23, CD30, CD40, moléculas de adhesión celular como el LFA-1, LFA-3 e ICAM-1 y ciertas citoquinas como la IL-10 que además de favorecer la proliferación celular, inhibirá la respuesta inmunitaria local, que tendrán un rol esencial en el establecimiento del microambiente inflamatorio del LHC<sup>[3,10,24,27]</sup>. LMP-1 también puede estimular BMI-1, un proto-oncogen codificador de una proteína que pertenece al complejo recesivo Polycomb 1, esencial para la iniciación del silenciamiento genético y la inducción de la proliferación de las células Reed-Sternberg seropositivas<sup>[10]</sup>.

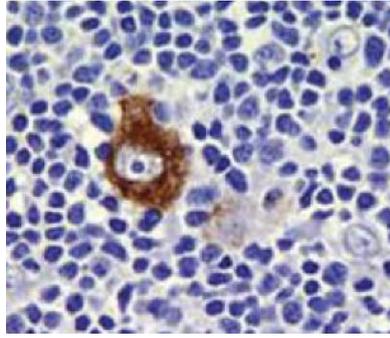


Fig.12: Expresión de LMP-1 en una célula Reed-Sternberg (X100)  
 [10] Kapatai G, et al. 2007.

### **Esptein-Barr encoded RNAs (EBERs)**

EBER 1 y EBER 2 son dos pequeños ARNs que no se transcriben y que se expresan en cualquier célula infectada por el VEB de forma latente (Fig.13). Sin embargo, existe una gran variabilidad en su expresión lo que podría explicar su ausencia o leve señal en una proporción de células Reed-Sternberg<sup>[24]</sup>. La participación de estas moléculas en la patogénesis tumoral es todavía incierta pero estudios *in vitro* han señalado su importancia en la persistencia viral. También son capaces de inhibir la activación de PKR, una proteína quinasa que induce la apoptosis en condiciones normales, y los genes supresores de tumores p53 y EGR1, aumentando así la resistencia anti-apoptótica de las células tumorales infectadas<sup>[3,27]</sup>.

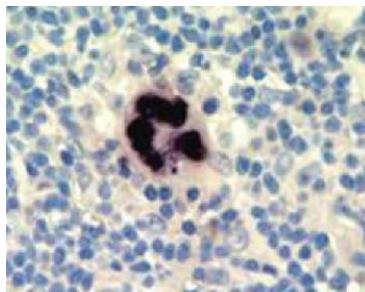


Fig.13: Expresión de EBER en una célula Reed-Sternberg y Hodgkin (X100)  
 [10] Kapatai G, et al. 2007.

### **Latent Membrane Protein 2A (LMP2-A)**

A pesar de que ambas proteínas sean expresadas por las células Reed-Sternberg, LMP-2A es la única cuya función está ampliamente descrita<sup>[3]</sup>. En la actualidad se conoce que es una proteína de membrana capaz de formar una estructura idéntica al motivo ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*) presente en el receptor celular del linfocito B (BCR), otorgándole la condición de BCR-like<sup>[7,27]</sup>. Esta función hace que pueda sustituir el BCR, lo que permite que las células Reed-Sternberg infectadas puedan escapar a la apoptosis aunque carezcan de su expresión funcional. A pesar de ello y de forma controvertida, se conoce que la fosforilación de este motivo ITAM en presencia de un antígeno desencadena

una cascada de señalización que induce la entrada en su ciclo infeccioso, así como el crecimiento y diferenciación de los linfocito B infectados<sup>[7,9,10,27]</sup>. Evidentemente, se trata de un proceso que va en contra del desarrollo tumoral ya que acabaría por provocar la muerte de las células infectadas y la consiguiente liberación de viriones. Entonces, ¿cómo se explica estos dos efectos paradójicos?

Recientes estudios han logrado demostrar que las células tumorales Reed-Sternberg carecen de forma aberrante no solo de BCR funcional, pero también de los componentes de su vía de señalización. La ausencia de los mismos hace que LMP2-A no pueda inducir el ciclo replicativo, a pesar de que sea capaz de sustituir el receptor BCR (Fig.14), favoreciendo de este modo la persistencia de la infección latente en las células tumorales. Por ello, cabe la posibilidad de que las células B infectadas que carezcan de BCR funcional y de sus componentes de señalización sean seleccionadas de forma positiva durante el desarrollo del LHc, pues ambas pérdidas aseguran la supervivencia de sus células tumorales Reed-Sternberg<sup>[7,9,27]</sup>.

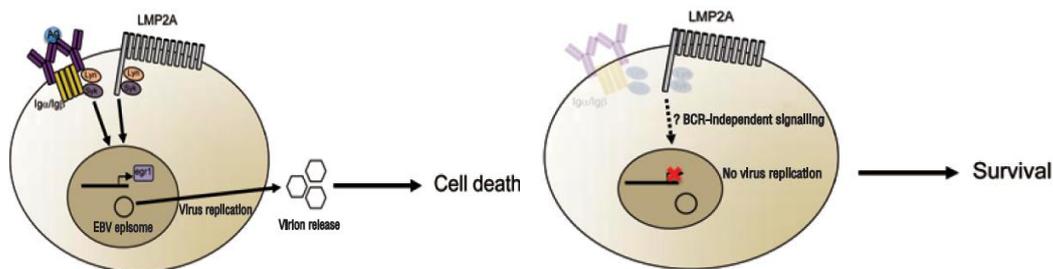


Fig.14: A) Células no tumorales infectadas por el VEB; B) Células Reed-Sternberg sin BCR funcional y sus componentes de señalización.  
 [9] Vockerodt M1, et al. 2014.

Por otro lado, la expresión continua de LMP2-A en las células tumorales (Fig.15) favorece su participación en ciertas vías de señalización importantes para la patogénesis del LHc<sup>[27]</sup>. Se conoce que LMP2-A puede activar la vía Notch1, cuyo receptor se encuentra altamente expresado en las células Reed-Sternberg funcionando como una oncoproteína, suprimiendo la expresión de ciertos factores de transcripción clave en el desarrollo y diferenciación de las células B<sup>[3,28]</sup>. También puede inducir la expresión de genes involucrados en la proliferación celular y anti-apoptóticos, así como inhibir la respuesta inmunitaria y la expresión de marcadores de las células B, proporcionando de esta forma varios factores que favorecen el desarrollo tumoral<sup>[3,10,28]</sup>.

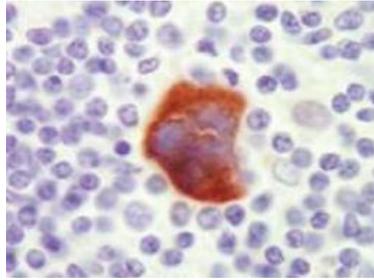


Fig.15: Expresión de LMP2-A en una célula Reed-Sternberg (X100)  
[10] Kapatai G, et al. 2007.

### ***Bam HI-A Rightward Transcripts (BARTs)***

Los BARTs son transcritos de microRNAs (miRNA) cuya implicación en procesos neoplásicos, como el Linfoma de Hodgkin, ha sido recientemente descubierta [2,3,27,29].

De forma general, los miRNAs son una familia de RNA pequeños, de unos 21-25 nucleótidos, no codificantes pero que juegan un papel esencial en la expresión de genes relacionados con diversos procesos biológicos que incluyen la diferenciación y el ciclo celular, así como el propio metabolismo y el cáncer [2,27]. Se conoce que los miRNAs son capaces de regular la expresión génica de forma negativa degradando el mRNA diana o inhibiendo su traducción de forma temporal, en dependencia del grado de complementariedad entre ambos. Así, si la complementariedad es total, el miRNA degradará el mRNA diana [2,29].

Respecto a su relación con el cáncer, los miRNAs pueden ejercer una función de supresores de tumor o de oncogenes, también denominados “oncomirs”: Habitualmente los supresores de tumores actúan inhibiendo los oncogenes por lo que se encuentran infraexpresados en el tejido tumoral; mientras que los oncogénicos actúan normalmente inhibiendo los genes supresores de tumores, así que se encontrarán sobreexpresados en las enfermedades malignas. Además se conoce que apenas el 5% de los genes que se expresan en el ser humano codifican para miRNAs y que de estos, el 50% se localizan en regiones frágiles, zonas genómicas asociadas con el cáncer [2,29].

En 2009, Navarro A y sus colaboradores publican el primer trabajo, y uno de los más destacados hasta el momento sobre el patrón característico de los miRNAs en el LHC [29]. Estos investigadores demostraron la sobreexpresión de tres miRNAs de forma específica en las células Reed-Sternberg: miR-21, miR-134 y miR-138. También fue posible observar la expresión de miR-21 y miR-138 en algunos linfocitos de su microambiente inflamatorio (Fig.16), lo que nos hace especular sobre su posible importancia en el desarrollo de esta enfermedad. Por otro lado, cuando compararon los pacientes con positividad al VEB con enfermos no infectados encontraron diferencias en la expresión de diez microRNAs, lo que sugiere que la presencia de este virus podría alterar su modelo de expresión en las células tumorales [2,29].

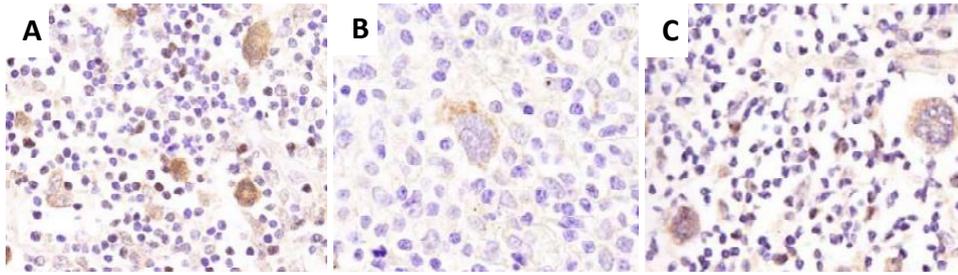


Fig.16: Expresión de los miRNAs en el citoplasma de células Reed-Sternberg (X100).  
A) miR-21; B) miR-138; C) miR-155 [29] Navarro A, y col. 2008.

De este modo, se puede concluir que las señales emitidas por el CD40 y BCR son de forma general, las más importantes para la supervivencia de las células Reed-Sternberg infectadas. Por otro lado, sus respectivos inductores, LMP1 y LMP2-A, son las principales proteínas de la fase de latencia de las células RS seropositivas. Por ello, parece ser que el virus Epstein-Barr selecciona positivamente a las células con estas vías de señalización para mediar su supervivencia. Otro aspecto importante es que ambas proteínas de membrana contribuyen para la pérdida del fenotipo de células B que claramente dificultan su identificación [2,9].

### Relación con HLc

Actualmente se conoce que el Virus Epstein-Barr infecta más de un 90% de la población. Cohen JJ y sus colaboradores en su publicación en 2012 comentan cifras sorprendentes al respecto, lo que indica que cada año en Estados Unidos se describen por lo menos 125.000 nuevos casos de mononucleosis infecciosa y que a nivel mundial se encuentran 200.000 lesiones malignas asociadas al virus Epstein-Barr, aproximadamente [30]. Estos datos se revelan preocupantes por dos motivos principalmente. Primero, debido a la implicación etiopatogénica de este virus en varias enfermedades tumorales. En segundo lugar, y de forma más concreta en el HLc, porque se conoce que los individuos con historia previa de mononucleosis infecciosa tienen cuatro veces más riesgo de desarrollar esta enfermedad que las personas sin infección [3,26]. Además, uno de los estudios poblacionales más exhaustivos que existe al respecto, ha logrado demostrar que la enfermedad se desarrollaba con una media de 2.9 años en la mayoría de los sujetos tras la infección [3].

Entre los LH, se conoce que su forma clásica es la que claramente presenta una asociación con el VEB. En la actualidad, los casos de LHPLN con positividad al virus son prácticamente nulos [26]. En Europa occidental y Estados Unidos se conoce que cerca del 40% de los casos de HLc son seropositivos al VEB. En los países no industrializados, este porcentaje aumenta significativamente y llega hasta el 80% [26,31].

Por otro lado, se conoce que existen importantes variaciones en cuanto a edad, con predominio en la población infantil y anciana <sup>[2,11,26]</sup>. En la infancia, más del 70% de los casos son seropositivos, encontrándose cifras relativamente más elevadas en países no industrializados, probablemente debido a la alta prevalencia del virus en estas regiones geográficas. En la población anciana la positividad frente al VEB es todavía más frecuente, con una incidencia del 70-75% <sup>[2,11,16,31]</sup>. Este pico en edades más tardías puede ser atribuible a la disminución de la inmunidad asociada a la edad <sup>[9,25]</sup>. En general, los adultos jóvenes son los que menos tasas presentan, con una proporción cerca del 15%, lo que resulta sorprendente ya que el pico de incidencia de la MI se presenta a éstas edades <sup>[8,31]</sup>. Este hallazgo pone nuevamente en evidencia la posibilidad de que exista una cierta susceptibilidad genética entre los individuos infectados y que ésta afecte negativamente a la respuesta del sistema inmunitario <sup>[8]</sup>.

Naturalmente, las diferencias descritas anteriormente en cuanto a edad y región geográfica van a influir en la frecuencia en la que se presenta la infección en los diferentes subtipos histológicos del LHC. Como ya conocemos, DL tiene una alta incidencia en la población anciana e inmunodeprimida por lo que está claro que será el subtipo que mayor población seropositiva presente, con aproximadamente el 80-90% de los casos. CM es el segundo más frecuente con una incidencia del 70% y que puede llegar a ser 5 a 10 veces mayor si lo comparamos con EN <sup>[8,25]</sup>. Esta frecuencia también está justificada ya que CM es el subtipo más incidente en la infancia en los países no industrializados <sup>[12,25]</sup>.

Por otro lado, la infección por el VEB en los LHC presenta importantes variaciones en cuanto a sexo y raza. En este caso, también se observa una mayor incidencia en varones, tal como sería esperable, ya que la enfermedad es relativamente más frecuente en este grupo de pacientes, tal como hemos comentado anteriormente <sup>[8,25]</sup>. Sin embargo, las variaciones raciales encontradas no concuerdan totalmente con los datos epidemiológicos del LHC. En este caso, se observa que la infección por el VEB es más frecuente en los asiáticos con el 93%, seguido de los hispánicos con el 86%, los caucásicos con el 46% y por último los afroamericanos con el 17%, aproximadamente <sup>[8]</sup>.

### **Activación de la vía de transcripción NF-κB y JAK/STAT**

En el LHC se conoce que existen varias vías de señalización que se encuentran activadas de forma aberrante. Las dos principales implicadas son las vías de señalización NF-κB y JAK/STAT.

NF-κB es un complejo proteico formado por factores de transcripción esenciales en una gran variedad de procesos celulares, como la proliferación y supervivencia celular, la

apoptosis y procesos inflamatorios. La vía NF- $\kappa$ B se mantiene en estado inactivo en el citoplasma en ausencia de estímulos, unido a sus proteínas inhibidoras I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$  y I $\kappa$ B $\epsilon$  [32]. Cuando alguno de sus receptores celulares se une a un ligando específico, se activará el complejo de I $\kappa$ B quinasa (IKK) provocando su ubiquitinación, la degradación por el proteosoma y la subsecuente liberación y translocación al núcleo de los factores de transcripción, donde se une a secuencias específicas de las regiones promotoras de ciertos genes y activa diversas dianas génicas (Fig.17). En la vía alternativa, los agentes celulares estimulan la quinasa NIK que es capaz de activar directamente el complejo IKK [2,32].

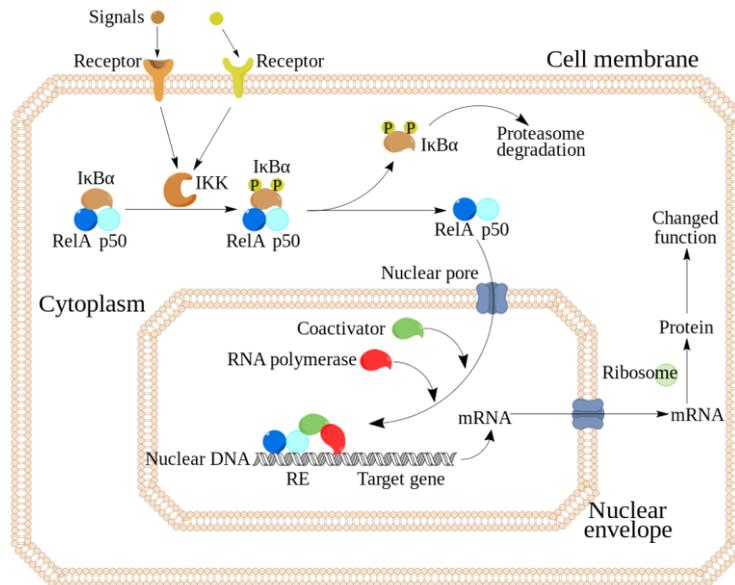


Fig.17: Mecanismo de acción clásico de la vía NF- $\kappa$ B [32] Gilmore TD. 2006.

Ambas vías de señalización del NF- $\kappa$ B son importantes en los LHC ya que las células Reed-Sternberg sobreexpresan diversos marcadores como el CD30 y CD40, miembros de la familia de receptores de TNF capaces de activarlas. Por otro lado, esta vía también es capaz activarse en presencia de LMP-1, lo que demuestra nuevamente su importante rol en el escape tumoral de las células RS infectadas por el VEB [2,3,7].

También es importante mencionar que su activación puede ser debida a mutaciones génicas que afectan a la propia vía de señalización (Fig.18), lo que también apoya la hipótesis de una posible susceptibilidad genética como parte del desarrollo del LHC. En la actualidad se conocen múltiples mutaciones como las amplificaciones del oncogén REL, que codifica uno de los factores del NF- $\kappa$ B y que aparece en el 30-40% de los casos [7,33,34]. También es frecuente encontrar amplificaciones del gen NIK, que tal como hemos comentado anteriormente es un regulador positivo de la vía alternativa del NF- $\kappa$ B. Las mutaciones en los genes NF $\kappa$ BIA y NF $\kappa$ BIE, codificadores de los principales inhibidores de la vía clásica (I $\kappa$ B $\alpha$  y I $\kappa$ B $\epsilon$ ), también son encontrados con frecuencia [7]. Del mismo modo, es posible objetivarse en un 40% de los casos

la inactivación del gen supresor tumoral TNFAIP3, que codifica para la proteína A20. En condiciones normales, esta proteína activada es capaz de provocar la inhibición de la vía NF-κB e inducir la apoptosis a través del TNF. Sin embargo, la mayoría de las células Reed-Sternberg que presentan esta mutación génica, no están infectadas por el virus Epstein-Barr, lo que sugiere que la inactivación de la proteína A20 y la infección por este virus son dos fenómenos exclusivos en la patogénesis del LHc <sup>[5,7]</sup>. En la actualidad no se conoce si es necesaria la coexistencia de dos o más mutaciones para que se produzca una actividad tan intensa de la vía NF-κB como la observada en los LHc. Sin embargo, es una hipótesis cuyo estudio posiblemente revele más información sobre la patogénesis del LHc en el futuro.

Otra vía de señalización extremadamente importante en el LHc es la vía JAK-STAT (Fig.18) ya que favorece la proliferación y resistencia a la apoptosis de las células RS así como de su microambiente inflamatorio característico <sup>[2,3]</sup>. La familia de quinasas *Janus kinase* (JAK) comprende tres isoformas, JAK1, JAK2 y JAK3 que se expresan en todas las células, excepto JAK3 que es exclusiva de la estirpe hematopoyética. Habitualmente, las funciones de las distintas proteínas se solapan ya que muchas vías de señalización involucran a más de un miembro de esta familia. En condiciones normales, tras la unión del ligando al receptor, se produce la fosforilación cruzada de moléculas JAK, lo que consecuentemente activa el receptor por fosforilación de tirosinas. Estos residuos fosforilados constituyen zonas de unión para las proteínas STATs, unas moléculas transductoras de señal y activadoras de transcripción. Una vez unidas al receptor, estas proteínas se fosforilan por las proteínas JAK, lo que provoca su dimerización. El dímero resultante es entonces internalizado al núcleo para regular la expresión de varias dianas génicas <sup>[2]</sup>. Esta vía de señalización puede ser activada por ciertas citoquinas, constituyendo la vía de transmisión de señales más importante. En el LHc también pueden actuar como activadores los altos niveles de STAT3, STAT5 y STAT6 que se encuentran habitualmente activadas en las células Reed-Sternberg <sup>[2,10]</sup>. Por otro lado, y tal como se ha mencionado en el apartado anterior, la proteína LMP-1 también es capaz de activarla, demostrando su intenso potencial oncogénico una vez más.

En esta vía de señalización, también se ha encontrado mutaciones génicas que podrían aparecer en individuos genéticamente susceptibles. Las mutaciones inactivadoras del gen supresores de tumores SOCS1, el principal inhibidor de esta vía, son las más frecuentemente halladas en las células RS, apareciendo en un 40% de los casos. También se han observado amplificaciones del gen JAK2 en un 20-30% de los casos <sup>[7]</sup>. En la actualidad se sabe que este gen se localiza en la región cromosómica 9p24, donde se encuentran otros tres genes, el PD1, PD-1L y PD-2L <sup>[7,33,34]</sup>. Se conoce que PD1 es una proteína inhibitoria expresada por los linfocitos T cuando estas células se encuentran “exhaustas”. Su expresión provoca que la célula

T entre en una situación de anergia y limita la liberación de citoquinas inflamatorias. La unión con sus ligandos favorece esta situación inmunosupresora que contribuye tanto para el microambiente inflamatorio como para la pérdida de vigilancia antitumoral. Por lo que una simple mutación en este gen es capaz de desregular al menos 4 genes, lo que podría contribuir de una forma muy significativa a la patogénesis del LHc [7,27].

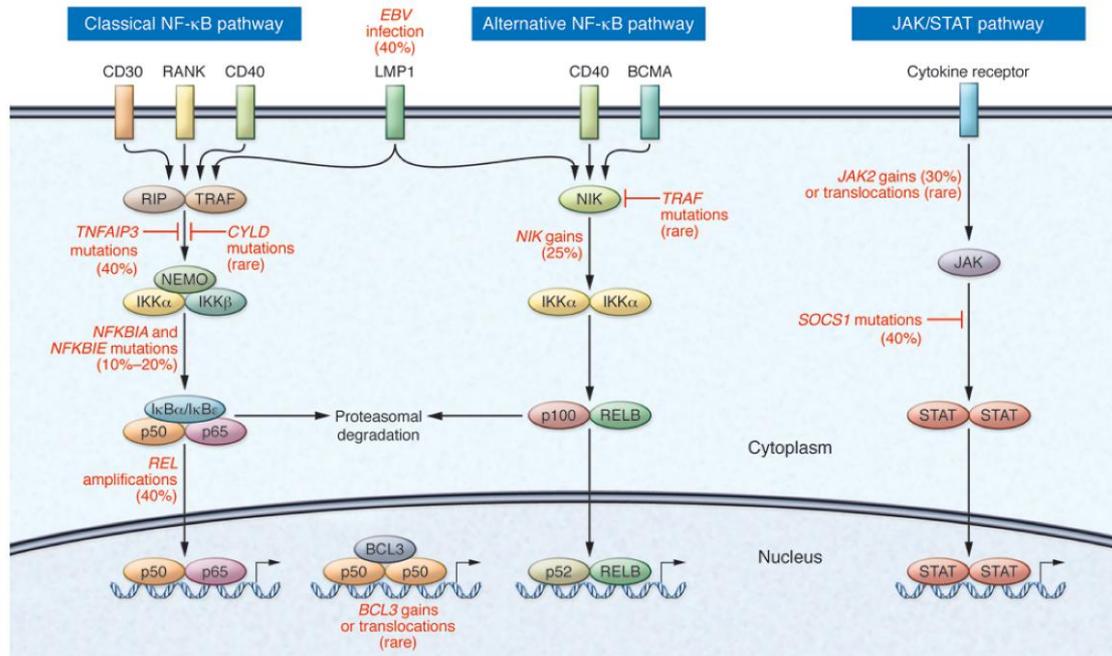


Fig.18: Representación de las vías de señalización NF-κB y JAK/STAT  
 [7] Küppers R, et al. Hodgkin lymphoma. 2012.

### Susceptibilidad genética

Otro mecanismo por el que las células Reed-Sternberg pueden eludir el sistema inmunitario es a través de la baja afinidad presentada por algunos alelos HLA por los péptidos inmunogénicos del VEB. Algunos estudios sugieren la existencia de polimorfismos en estas moléculas lo que condicionaría una respuesta débil por los LTc ante la infección por el VEB. Así, existirían algunos haplotipos HLA que podrían predisponer la enfermedad en individuos infectados [3,8,29]. Sin embargo, estos alelos predisponentes no son exclusivos de las células Reed-Sternberg infectadas por el virus, constituyendo igualmente un factor de riesgo en individuos seronegativos [8]. En 2014, Kushekhar Ky y sus colaboradores publican una revisión en la que demuestran las asociaciones encontradas entre el LHc y el estado infeccioso del virus con los diversos haplotipos de HLA. Los investigadores encontraron que los alelos HLA-A1, HLA-DR2, HLA-B37, HLA-DR10 (DRB110) se asociaban a un mayor riesgo de LHc seropositivo. Se han encontrado también variaciones raciales pero los investigadores alertan de que pueden deberse a las diferencias entre las frecuencias de los alelos en las distintas poblaciones ya que

el HLA-A1 es más frecuente entre los caucásicos y el HLA-A2\*07 es más incidente en la población china<sup>[35]</sup>.

Es evidente que las células RS poseen numerosas estrategias que permiten el desarrollo del LHc pero el mecanismo patogénico en individuos no infectados por el VEB es todavía incierto. En estos individuos la hipótesis de una cierta predisposición genética se postula nuevamente y las dos mayores evidencias a su favor son por un lado, el riesgo tres a cuatro veces superior que presentan los familiares de primer grado de los pacientes afectados de LHc respecto a la población general y por otro, la elevada incidencia entre gemelos homocigóticos en comparación con los heterocigóticos<sup>[2,6,8]</sup>. En 2009, Stephen J y sus colaboradores estudiaron varias familias en la que se había detectado múltiples casos de LHc y lograron encontrar una translocación recíproca entre los cromosomas 2 y 3. Esta translocación alteraba el gen KLHDC8B, que se localiza en la región cromosómica 3p21.31, y cuya pérdida de expresión ya se había relacionado previamente con algunas enfermedades malignas, incluyendo los Linfoma no-Hodgkin y el carcinoma nasofaríngeo<sup>[6]</sup>. Su función codificadora es todavía desconocida pero se sabe que es expresado fundamentalmente en células B y que su baja regulación aumenta considerablemente la frecuencia y cantidad de células binucleadas Reed-Sternberg<sup>[6,7]</sup>. Más tarde, se logró identificar *locis* de riesgo en las regiones cromosómicas 2p16.1, 8q24.21 y 10p14 que involucran a los genes REL (gen codificador de uno de los factores del NF-κB ya comentado anteriormente), PVT1 (oncogén implicado en las translocaciones de algunos tumores, incluyendo el LH y el linfoma de Burkitt) y GATA3 (un factor de transcripción expresado de forma aberrante en las células RS). Por lo que se puede deducir que es bastante probable que exista un modelo de susceptibilidad genética basado fundamentalmente en la herencia de múltiples variantes de escaso riesgo pero que en su conjunto tengan la asombrosa capacidad de favorecer el desarrollo de HLC<sup>[7]</sup>.

## **PAPEL DEL MICROAMBIENTE INFLAMATORIO**

En la actualidad se conoce que el microambiente constituye el soporte vital para las células tumorales ya que posee la capacidad de modificar el metabolismo celular y de evadir la respuesta inmune. En el desarrollo de las enfermedades malignas, el sistema inmune tiene la habilidad de actuar de dos maneras completamente opuestas. Por un lado, tiene el potencial de destruir y/o inhibir el crecimiento de las células tumorales y contrariamente es capaz de favorecer su proliferación. Naturalmente, la expresión de diversos receptores antígeno específicos permite la activación de respuestas inmunes adaptativas que podrían erradicar estas células. Sin embargo, se conoce que la continúa activación del sistema inmunológico también puede incrementar la probabilidad de desarrollar células potencialmente malignas. En realidad, la inflamación crónica aporta factores de crecimiento que sostienen la proliferación, factores de supervivencia que inhiben la muerte celular y factores pro-angiogénicos que facilitan la formación de vasos y el crecimiento tumoral, así como su invasión y metástasis, lo que en conjunto contribuye al desarrollo de una enfermedad maligna<sup>[27]</sup>.

En el Linfoma Hodgkin clásico su microambiente se ha revelado extremadamente importante en su patogénesis ya que se observan ciertas evidencias que indican que sus células tumorales Reed-Sternberg dependen de las señales de supervivencia enviadas por las células inflamatorias que lo componen. Así, los estudios *in vitro* comprueban que es extremadamente difícil hacer crecer las células RS en cultivo y que además, raramente son capaces de sobrevivir en ratones inmunodeficientes. Así mismo, también se ha logrado detectar que éstas células siempre van acompañadas de su microambiente inflamatorio cuando metastatizan<sup>[2,27]</sup>. Ambos argumentos, junto a la gran representatividad del microambiente en el LHc, han contribuido a un interés creciente sobre su contribución en el desarrollo de esta enfermedad.

Las células Reed-Sternberg atraen esta gran diversidad celular de forma activa mediante la secreción de citoquinas y quimiocinas para que puedan beneficiarse de las señales que estas células inmunitarias emiten. Indudablemente, esta enorme red de interacciones proporciona un ambiente permisivo pero cuya complejidad dificulta su comprensión (Fig.19)<sup>[2,27]</sup>. La subpoblación más predominante en el microambiente del LHc y probablemente la más importante sea la estirpe linfóide T CD4. Estas células habitualmente son atraídas mediante varias quimiocinas que incluyen CCL5, CCL17 (TARC), CCL20, CCL22, todas ellas secretadas por las células RS. Una parte de estas células son en realidad células T *helper* (T<sub>H</sub>) que habitualmente se encuentran adyacentes a las células Reed-Sternberg y que les proporcionan la capacidad de proliferación y supervivencia mediante la expresión de CD40L que estimula el

CD40 expresado en la membrana de estas células tumorales. En la superficie de las células RS también podemos encontrar otras moléculas como los antígenos de clase II del HLA, CD80 y CD54 que permiten la interacción con las células T<sub>H</sub>. Otra fracción de células T CD4 que podemos encontrar en los LHC son las células T reguladoras (T<sub>reg</sub>). Esta subpoblación celular es capaz de suprimir la acción de los LTc, células que controlan primariamente las células Reed-Sternberg infectadas, y los linfocitos NK, ambos a través de la secreción de varios mediadores, fundamentalmente IL-10, una citoquina inmunosupresora [2,25].

Sin embargo, estas células también pueden expresar de forma endógena moléculas que induzcan el estado inmunosupresor del microambiente inflamatorio. Por un lado, son capaces de expresar TFGβ y Galectina-1, dos inhibidores de la respuesta inmunológica [2,25,27]. En concreto, la Galectina-1 es capaz de inducir la muerte de las células T<sub>H</sub>, estimular la expansión de las células T<sub>reg</sub> e inhibir la respuesta de los LTc específicas para el VEB [27]. Por otro lado, estas células tumorales también expresan PD-1 que se encuentra fisiológicamente en las células T y hace que éstas pierdan su capacidad inmunitaria [2].

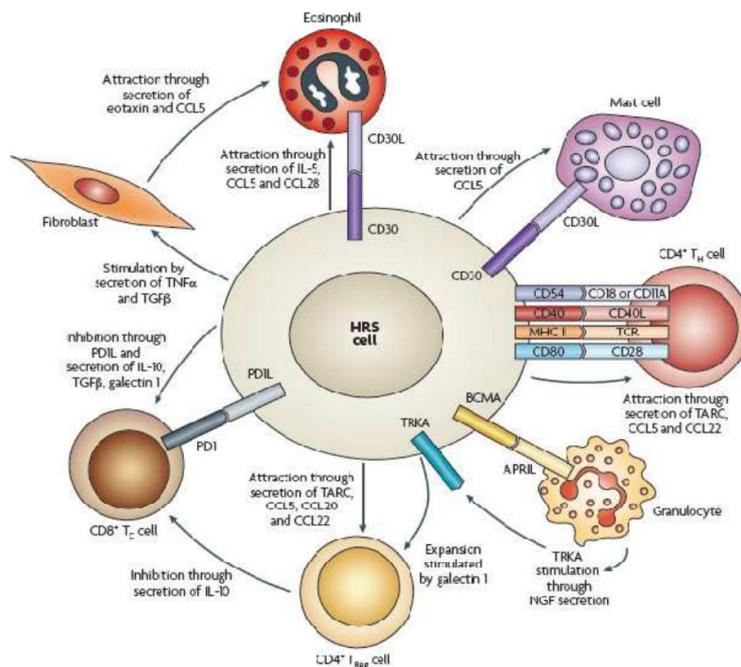


Fig.19: Interacciones entre las células Reed-Sternberg y su microambiente inflamatorio [2] Sánchez T. 2011.

Además de reclutar a los linfocitos T CD4, las células Reed-Sternberg pueden atraer más componentes inflamatorios como los eosinófilos a través de la secreción de CCL5, IL5, IL6 y CCL28. Los fibroblastos activados por estas células tumorales también expresan CCL5 y CCL11 (también denominada eotaxina), ambas capaces de atraer a los eosinófilos, una estirpe celular que presenta también un importante rol en la patogénesis del LHC ya que libera TFGβ y expresa CD30L que estimula a su vez la señalización de CD30 en las células RS. También se ha

demostrado que CCL5 es capaz de atraer células mastoides, otra subpoblación típica del microambiente inflamatorio y que habitualmente expresan CD30L <sup>[2,25]</sup>. De este modo, se establece un ciclo inmunosupresor y proliferativo que es capaz de crear un microambiente permisivo que favorece el crecimiento y escape de las células tumorales RS.

### Relación entre VEB y el microambiente de LHc

Existen varias evidencias que demuestran la implicación del Virus Epstein-Barr en la remodelación del microambiente inflamatorio en el LHc. En la actualidad se sabe que la expresión proteica de la fase de latencia II no es solamente importante a la hora de dictar el destino de las Reed-Sternberg sino que también interfiere con la formación y mantenimiento del microambiente que las rodea <sup>[9]</sup>. En este proceso LMP-1 es considerada una proteína oncogénica particularmente importante ya que es capaz de estimular la producción de citoquinas y quimiocinas a partir de las células RS. Tal como hemos mencionado en el apartado anterior, cada una de ellas contribuirá de distinto modo a la formación y mantenimiento del microambiente tumoral <sup>[25]</sup>. También se ha descrito que LMP-1 puede inducir la expresión del receptor de discoidina dominio 1 (DDR1), un receptor de colágeno prácticamente ausente en las células B normales pero que se encuentra sobreexpresado en las células Reed-Sternberg (Fig.20). Se ha demostrado que la exposición de este receptor al colágeno protege las células tumorales de la apoptosis lo que resulta particularmente importante en la patogénesis del LHc ya que el colágeno es uno de los principales constituyentes de su microambiente como resultado de una respuesta inflamatoria crónica al VEB. Esta evidencia permite especular sobre la posible influencia que tiene el microambiente en el potencial oncogénico de LMP-1. Probablemente éste ayude a explicar los motivos que llevan a que esta proteína en las células B primoinfectadas proporcione señales que solamente permitan su diferenciación, mientras que en las células tumorales Reed-Sternberg su función sea de carácter fundamentalmente anti-apoptótico y pro-oncogénico <sup>[9,25,36]</sup>.

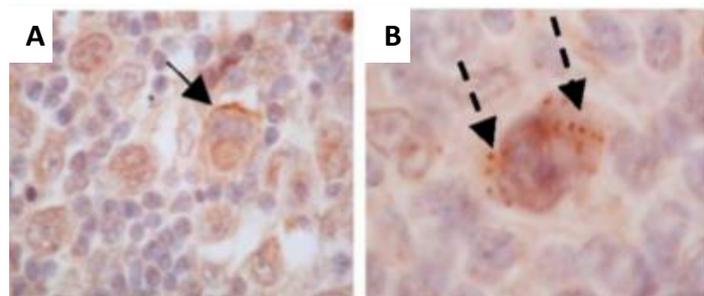


Fig.20: A) Sobreexpresión de DDR1 a nivel de membrana (X250); B) Sobreexpresión de DDR1 citoplasmático (X1000);  
[36] Cader FZ, et al. 2013.

Además se observaron otras evidencias que sugieren que el propio microambiente podría ser un determinante crítico en la modulación del modelo de latencia II expresado por las células RS infectadas ya que se ha observado que ciertas citoquinas tienen la habilidad de inhibir la expresión de EBNA2 y estimular la del LMP-1 <sup>[9]</sup>.

Contrariamente a lo esperado se ha logrado detectar una mayor cantidad de LTc en el microambiente de los pacientes infectados por el VEB <sup>[27]</sup>. Sin embargo, esta respuesta inflamatoria parece ser insuficiente para lograr la erradicación de las células tumorales <sup>[2,11]</sup>. Además de los mecanismos anteriormente referidos que favorecen este estado inmunosupresor, se conoce que EBNA-1 también presenta un papel fundamental. Esta proteína nuclear expresada por el VEB regula positivamente la expresión de CCL20, lo que a su vez incrementa el reclutamiento de linfocitos T<sub>reg</sub> y facilita el escape de las células tumorales infectadas a la respuesta inmunitaria específica mediada por los LTc. En estudios previos ya se había documentado la presencia de una mayor cantidad de linfocitos T<sub>reg</sub> en individuos infectados y su relevancia como factor de mal pronóstico en estos pacientes, datos que son compatibles con las últimas evidencias encontradas. <sup>[3,27]</sup>.

## DISCUSIÓN

A lo largo de esta revisión hemos profundizado sobre varios aspectos relacionados con la patogénesis molecular del LHc, una neoplasia clonal cuya célula tumoral Reed-Sternberg deriva de linfocitos B pre-apoptóticos que sufren un proceso de reprogramación génica. Además, en estas células tumorales también se encuentran disregulados múltiples factores de transcripción y vías de señalización, fundamentalmente las vías NF- $\kappa$ B y JAK/STAT, lo que les permite escapar de la apoptosis y de la respuesta inmunitaria generada principalmente por los LTc <sup>[2,3,7,12,22]</sup>. Pero ¿qué factor es el responsable de todos estos complejos procesos que ocurren de forma aberrante en el LHc? En la actualidad la investigación de esta enfermedad presenta dos principales obstáculos: la pequeña proporción que representan sus células tumorales y su poca incidencia respecto a otras enfermedades malignas <sup>[2,7,8]</sup>. Sin embargo, existen numerosas evidencias que demuestran que la infección por el VEB interfiere de forma esencial en la patogénesis del LHc. Las dos principales proteínas de latencia involucradas en este mecanismo etiopatogénico son LMP-1 y LMP-2A, con función pro-oncogénica y anti-apoptótica <sup>[2,3,9]</sup>.

No obstante, a pesar de la numerosa incidencia de su infección, se nos plantean numerosas cuestiones respecto a la asociación entre el VEB y el LHc. Por un lado, ¿por qué solo un porcentaje variable de la población desarrolla la enfermedad? Es bastante sorprendente que en los países industrializados el 60% de los LHc se desarrollen sin la presencia del VEB. Del mismo modo, ¿por qué los pacientes jóvenes, el grupo que presenta mayor incidencia de MI, es donde menor tasa de infección por el VEB se encuentra en las células tumorales? Este aspecto es bastante destacable ya que hay publicaciones que sugieren que este antecedente patológico es un importante factor de riesgo. ¿Serán estas diferencias debido a los casi tres años de periodo de ventana entre la infección y posterior malignización? Así mismo nos preguntamos, ¿por qué es el LHc menos incidente en individuos asiáticos, grupo donde precisamente es más frecuente encontrar positividad al VEB?

Todas estas incógnitas parecen explicarse parcialmente cuando surgen evidencias de que esta enfermedad probablemente se desarrolle en individuos genéticamente predispuestos. En la realidad, la existencia de polimorfismos en los alelos de HLA puede constituir un importante factor de riesgo/protector para la enfermedad, tanto en individuos infectados con el VEB como en pacientes seronegativos. Del mismo modo y a pesar de que la citogenética en el LHc sea poco relevante en el momento actual, recientes investigaciones demuestran la existencia de *locis* de riesgo que podrían explicar parcialmente todas estas cuestiones planteadas así como el mecanismo etiopatogénico en los enfermos no infectados por el VEB. Sin embargo,

¿existirán otros virus implicados en esa patogénesis?, ¿la enfermedad en los pacientes no infectados se puede justificar simplemente con estas mutaciones?

El estado inmunológico constituye naturalmente otra enorme influencia, ya que de una forma general la inmunodepresión favorece tanto la infección por el virus, como el desarrollo de enfermedades malignas y su mayor agresividad. En el LHc este aspecto gana una particular importancia ya que las células Reed-Sternberg necesitan estar rodeadas de un microambiente inflamatorio permisivo para llevar a cabo sus procesos de proliferación y supervivencia. El VEB también parece contribuir en la formación y mantenimiento de este estroma no tumoral y éste por otra parte es capaz de inducir su latencia viral y proporcionarle una mayor capacidad oncogénica. De esta forma, se establece una compleja y extensa red de interacciones que contribuyen una vez más al desarrollo del LHc de una forma completamente extraordinaria.

Por último, es esencial mencionar la importancia de la descubierta de los miRNAs. Su papel se puede revelar fundamental en el futuro, ya que la especificidad en la sobreexpresión de tres de ellos en las células tumorales RS podría ser usada como una posible diana terapéutica. Las diferencias encontradas entre las células tumorales no infectadas y las que presentan positividad frente al VEB, así como su sobreexpresión en el microambiente inflamatorio, son dos argumentos que claramente sugieren su implicación en el desarrollo de esta enfermedad. Sin embargo, ¿Cuál es su verdadero papel? y ¿cuáles son sus dianas?

En la patogénesis del LHc, son evidentes las numerosas cuestiones que quedan todavía por dilucidar, lo que nos obliga a continuar investigando y avanzando en el estudio de este binomio patogénico.

## **GLOSARIO**

**AP1:** *Activator protein 1*

**BARTs:** *BamHI A rightward transcripts*

**BCL-2:** *B-cell CLL/lymphoma 2*

**BCL-3:** *B-cell CLL/lymphoma 3*

**BCR:** *B cell receptor*

**CCL:** *Chemokine (C-C motif) ligand*

**CD:** *Cluster of differentiation*

**CM:** *Celularidad mixta*

**DDR1:** *Discoidin domain receptor tyrosine kinase 1*

**DL:** *Depleción linfocitaria*

**EBER:** *Esptein-Barr encoded RNA*

**EBNA:** *Epstein-Barr Nuclear Antigen*

**EH:** *Enfermedad de Hodgkin*

**EMA:** *Antígeno epitelial de membrana*

**EN:** *Esclerosis nodular*

**HE:** *Hematosilina-eosina*

**HLA:** *Human leukocyte antigen*

**HLC:** *Linfoma de Hodgkin clásico*

**ICAM-1 (CD54):** *Molécula de adhesión celular 1 (presente en los leucocitos)*

**IKK:** *I $\kappa$ B kinase*

**IL:** *Interleuquina*

**ITAM:** *Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*

**I $\kappa$ B:** *NF- $\kappa$ B inhibitor*

**JAK:** *Janus kinase*

**LFA:** *Lymphocyte function-associated antigen*

**LH:** *Linfoma de Hodgkin*

**LHc:** *Linfoma de Hodgkin clásico*

**LHPLN:** *Linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular*

**LMP:** *Latent membrane protein*

**LTc:** *Linfocitos T citotóxicos*

**MI:** *Mononucleosis infecciosa*

**miRNA:** *MicroRNA*

**NF- $\kappa$ B:** *Nuclear factor-kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*

**NFκBI:** *Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor*

**NFκBIA:** *Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor, alpha*

**NFκBIE:** *Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor, epsilon*

**NIK:** *NF-κB inducing kinase*

**NK:** *Células natural killer*

**PD-1:** *Programmed cell death 1*

**PD-1L/2L:** *Programmed cell death 1ligand*

**PKR:** *Protein kinase RNA-activated, interferon-induced*

**PL:** *Predominio Linfocítico*

**RS:** *Células Reed-Sternberg*

**SOCS1:** *Supressor of cytokine signalling 1*

**STAT:** *Signal transducer and activator of transcription*

**TGFβ:** *Transforming growth factor beta*

**T<sub>H</sub>:** *Células T helper*

**TNF:** *Tumor necrosis factor*

**TNFAIP3:** *TNF alpha induced protein 3*

**TNFR** : *Tumor necrosis factor receptor*

**TRAF:** *TNF receptor associated factors*

**T<sub>reg</sub>:** *Células T reguladoras*

**VEB:** *Virus de Epstein-Barr*

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Woessner S, Lafuente R, Florensa L, Sans Sabrafen J. Síndromes linfoproliferativos malignos. En: Woessner Casas S, Lafuente Rodés R, Florensa L, Sans Sabrafen J, coordinadores. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 2nd ed. Barcelona: Medici; 1983. p. 327-330.
- [2] Sánchez T. JAK2 en el linfoma de Hogdkin: Impacto pronóstico de la regulación mediada por miR-135a y análisis in vitro de Lestaurtinib [Tesis doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona. Facultat de Medicina; 2011.
- [3] Gonzalo de Liria, CR. Infección por el Virus de Epstein-Barr en pacientes pediátricos y adultos afectos de Linfoma de Hogdkin: Estudio epidemiológico y alteraciones asociadas del ciclo celular y apoptosis. [Tesis doctoral]. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Medicina; 2014.
- [4] Thompson CA, Mauck K, Havyer R, Bhagra A, Kalsi H, Hayes SN. Care of the Adult Hodgkin Lymphoma Survivor. *The American journal of medicine*. 2011;124(12):1106-1112.
- [5] Agostinelli C, Pileri S. Pathobiology of Hodgkin Lymphoma. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014; 6(1)
- [6] Salipante SJ, Mealiffe ME, Wechsler J, Krem MM, Liu Y, Namkoong S, Bhagat G, Kirchhoff T, Offit K, Lynch H, Wiernik PH, Roshal M, McMaster ML, Tucker M, Fromm JR, Goldin LR, Horwitz MS. Mutations in a gene encoding a midbody kelch protein in familial and sporadic classical Hodgkin lymphoma lead to binucleated cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Sep 1;106(35):14920-5.
- [7] Küppers R, Engert A, Hansmann ML. Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest*. 2012 Oct;122(10):3439-47.
- [8] Kennedy-Nasser AA, Hanley P, Bollard CM. Hodgkin disease and the role of the immune system. *Pediatr Hematol Oncol*. 2011 Apr;28(3):176-86.
- [9] Vockerodt M1, Cader FZ, Shannon-Lowe C, Murray P. Epstein-Barr virus and the origin of Hodgkin lymphoma. *Chin J Cancer*. 2014 Dec;33(12):591-7.
- [10] Kapatai G, Murray P. Contribution of the Epstein-Barr virus to the molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. *J Clin Pathol*. 2007 Dec; 60(12): 1342-1349.
- [11] Oudejans JJ, Brink A, Van de Brule AJ, Middeldorp JM, Meijer CJ. Virus Epstein-Barr y linfomas: prevalencia, patogénesis y aspectos clínicos. En: García-Conde J, Matutes E,

- Piris M.A, Reyes F, coordinadores. Síndromes linfoproliferativos. Madrid: Productos Roche; 1999. p. 59-65.
- [12] Torres L, Ortiz-Hidalgo C. Diagnóstico histopatológico e inmunohistoquímico del linfoma de Hodgkin y su diagnóstico diferencial. *Patol Rev Latinoam* 2009;47(1):35-45
- [13] Rosenfeld L. Hodgkin's disease: origin of an eponym - and one that got away. *Bull N Y Acad Med.* 1989 Jun; 65(5): 618–632
- [14] Padró J. Epidemiología de los linfomas en España. En: VII curso GOTEL de formación en Linfomas. Valencia , GOTEL, 4 y 5 de abril 2014.
- [15] Longo DL. Neoplasias Malignas de las células linfoides. En: Harrison TR, Thorn GW. *Medicina interna: Harrison.* 17th ed. México, D.F.: La Prensa Medica Mexicana; 2012.p. 687-692
- [16] Jarrett RF, Krajewski AS, Angus B, Freeland J, Taylor PR, Taylor GM, Alexander FE. The Scotland and Newcastle epidemiological study of Hodgkin's disease: impact of histopathological review and EBV status on incidence estimates. *Journal of Clinical Pathology.* 2003;56(11):811-816.
- [17] Vázquez Villegas V, Delgado Lamas JL. Enfermedad de Hodgkin. En: Ruiz Argüelles GJ. *Fundamentos de hematología.* 3ª ed. México, D.F.; Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2003. p. 304-313.
- [18] Kristinsson SY. Genetics in Lymphomatogenesis. En: Wiernik PH, Goldman JM, Dutcher JP, Kyle RA, editores. *Neoplastic Diseases of the Blood.* 5th ed. New York: Springer Science; 2013. p. 841-844
- [19] Litcham MA. Historical landmarks in the understading of the lymphomas [libro electrónico]. En: Wiernik PH, Goldman JM, Dutcher JP, Kyle RA, editores. *Neoplastic Diseases of the Blood.* 5th ed. New York: Springer Science; 2013. p. 789-834.
- [20] Piris M.A. Clasificación histopatológica de los síndromes linfoproliferativos. En: García-Conde J, Matutes E, Piris M.A, Reyes F, coordinadores. *Síndromes linfoproliferativos.* Madrid: Productos Roche; 1999. p.1-16.
- [21] Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood.* 2008;112(12):4384-4399.

- [22] Muñoz IC, Prieto A, Chapa A, Treviño M, Nández JV. Linfomas, nueva clasificación y tratamiento. Incidencia de las lesiones en el Hospital San José de 1990 a 2004. Correlación clínico-radiológica. 2006 Jun;2:117-136.
- [23] Rengstl B, Newrzela S, Heinrich T, Weiser C, Thalheimer FB, Schmid F, et al. Incomplete cytokinesis and re-fusion of small mononucleated Hodgkin cells lead to giant multinucleated Reed-Sternberg cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2013;110(51):20729-34.
- [24] Martín P, A. Linfomas No-Hodgkin asociados al SIDA: Estudio Clínico, Morfológico, Inmunohistoquímico y Molecular: Papel Etiológico del Virus de Epstein – Barr [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina; 2001.
- [25] Vockerodt M, Yap LF, Shannon-Lowe C, Curley H, Wei W, Vrzalikova K, Murray PG. The Epstein-Barr virus and the pathogenesis of lymphoma. J Pathol. 2015 Jan;235(2):312-22.
- [26] Beltramino M.P, Calmet R, Valdes MG. Virus de Epstein-Barr y su relación con el desarrollo de enfermedades linfoproliferativas. Hematol 2005;9(2):39-54
- [27] Chabay P. Análisis de la participación del virus de Epstein barr en la patogénesis del linfoma Difuso a grandes células B y su interacción con el microambiente tumoral. [Tesis doctoral]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
- [28] Jundt F1, Acikgöz O, Kwon SH, Schwarzer R, Anagnostopoulos I, Wiesner B, Mathas S, Hummel M, Stein H, Reichardt HM, Dörken B. Aberrant expression of Notch1 interferes with the B-lymphoid phenotype of neoplastic B cells in classical Hodgkin lymphoma. Leukemia. 2008 Aug;22(8):1587-94.
- [29] Navarro A, Gaya A, Martinez A, Urbano-Ispizua A, Pons A, Balagué O, Gel B, Abrisqueta P, Lopez-Guillermo A, Artells R, Montserrat E, Monzo M. MicroRNA expression profiling in classic Hodgkin lymphoma. Blood. 2008 Mar 1;111(5):2825-32.
- [30] Cohen JI, Fauci AS, Varmus H, Nabel GJ. Epstein-Barr Virus: An Important Vaccine Target for Cancer Prevention. Science translational medicine. 2011;3(107):107fs7.
- [31] Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer. 2006 Jun 15;118(12):3030-44.
- [32] Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. Oncogene. 2006 Oct 30;25(51):6680-4

- [33] Re D, Zander T, Diehl V, Wolf J. Genetic instability in Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol.* 2002;13 Suppl 1:19-22.
- [34] Joos S, Menz CK, Wrobel G, Siebert R, Gesk S, Ohl S, Mechtersheimer G, Trümper L, Möller P, Lichter P, Barth TF. Classical Hodgkin lymphoma is characterized by recurrent copy number gains of the short arm of chromosome 2. *Blood.* 2002 Feb 15;99(4):1381-7.
- [35] Kushekhar K, van den Berg A, Nolte I, Hepkema B, Visser L, Diepstra A. Genetic associations in classical hodgkin lymphoma: a systematic review and insights into susceptibility mechanisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014 Dec;23(12):2737-47.
- [36] Cader FZ, Vockerodt M, Bose S, Nagy E, Brundler MA, Kearns P, Murray PG. The EBV oncogene LMP1 protects lymphoma cells from cell death through the collagen-mediated activation of DDR1. *Blood.* 2013 Dec 19;122(26):4237-45.