doi: 10.15446/rfmvz.v64n3.68691

PRESENCIA DEL MARCADOR LMP-1 DEL VIRUS EPSTEIN-BARR EN LINFOMAS DE CANINOS

L. C. Veloza[1], M. Collazos[1], N. Olaya[1], S. Salas[1], A. Corredor[1], H. Díez[1], I. Castellanos[2], M. F. Gutiérrez[1]

Artículo recibido: 8 de junio de 2017 • Aprobado: 11 de octubre de 2017

RESUMEN

El virus Epstein-Barr (EBV) es un virus de alta prevalencia en humanos que se asocia con tumores de la línea linfoide B. En caninos se dispone de pocos reportes sobre la presencia del EBV y su rol en esta especie. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de la proteína latente de membrana del EBV (LMP-1) en tejidos obtenidos de 20 linfomas de caninos cuyo diagnóstico se había realizado durante un periodo de 10 años, entre 2004 y 2014. Los linfomas se reclasificaron mediante las nuevas clasificaciones histopatológicas para linfomas y se sometieron a inmunohistoquímica (IHQ) con los anticuerpos anti-CD79a, anti-CD3, anticuerpos específicos para linfocitos B y T, además de un anti-LMP-1 como marcador de la presencia del EBV. Se encontró que el linfoma más común fue el linfoma nodal de zona T con un 75% de los casos. Al realizar la inmunomarcación se encontraron 18 casos positivos a CD3, 2 casos positivos a CD79a y 6 casos positivos a LMP-1, lo que representa el 30% de positividad del EBV en linfomas. El análisis Ji cuadrado demostró significancia estadística entre la presencia del virus y la presencia del linfoma lo que sugiere, no solamente que el virus está circulando en la población canina, sino que además puede tener relación con la ocurrencia de esta neoplasia. Con relación a las variables demográficas, sólo en la raza Golden Retriever se demostró relación con la presencia del linfoma, pero no con la presencia del virus.

Palabras clave: virus Epstein-Barr (EBV), linfomas, caninos, LMP-1, CD3, CD79a.

PRESENCE OF LMP-1 PROTEIN OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN LYMPHOMAS OF CANINE ORIGIN

ABSTRACT

Epstein Barr virus (EBV) is a human high prevalent virus associated with lymphoid B cells tumors development. In canines, few reports have been published regarding the presence of the virus in dogs but its role in this species remains unclear. The aim of this study was to determine the presence of LMP-1 protein of EBV in 20 canine lymphomas tissues which were previously diagnosed in a period of time between 2004 -2014. Lymphomas were reclassified in accordance with the new histopathological classifications

[1] Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Cr. 7 nro. 40-62, Bogotá (Colombia).
[2] Universidad de la Salle. Cr. 5 nro. 59ª-44, Bogotá (Colombia).
* Autor para correspondencia: mfgutier@javeriana.edu.co

for lymphomas and were stained by IHQ with anti-CD79a, anti-CD3 and anti-LMP-1; in addition, specific antibodies for B lymphocytes, T lymphocytes and EBV biomarker, respectively. It was found that the most common lymphoma was T-zone lymphoma in 75% of the cases of the study. The distribution of the cases regarding the immunostaining was: 18 positive cases with anti-CD3, 2 positive cases with anti-CD79a and 6 positive cases with anti- LMP-1. Positive cases of LMP-1 as a biomarker of the presence of EBV corresponded to the 30% of the cases of the study. Chi-square test showed statistical significance between the presence of the virus and the presence of lymphomas, which suggests not only that the virus is circulating in the canine population but also that could have implications in the development of the disease. Regarding demographic parameters, only the Golden Retriever breed showed a relationship with the presence of lymphoma, but not with the presence of the virus.

Key words: Epstein-Barr virus (EBV), lymphoma, canines, LMP-1, CD3, CD79a.

INTRODUCCIÓN

El EBV es un virus DNA perteneciente a la familia *Herpesviridae*, género herpesvirus tipo 4, que infecta cerca del 90% de la población humana, en su mayoría adulta, y cuyas manifestaciones clínicas pueden variar: en algunos casos permanece asintomática, en otros se manifiesta como mononucleosis infecciosa y suele estar presente en el desarrollo de procesos neoplásicos. Pocos reportes se encuentran sobre la presencia de EBV en caninos; sin embargo, se han reportado anticuerpos contra este virus en perros con linfoma, así como proteínas virales en sus nódulos linfáticos malignos lo que ha sugerido una asociación del virus con este tipo de neoplasias (Milman *et al*. 2011; Huang *et al*. 2012).

Los linfomas se describen como un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por exhibir proliferación de células linfoides malignas. Este tipo de patologías, muy conocidas en el hombre, suceden también en perros y su diagnóstico se realiza de una manera similar en las dos especies (Ito *et al*. 2014). En caninos los linfomas son las neoplasias hematopoyéticas más comunes, con prevalencias entre el 7 y el 24% del total de neoplasias. De ellas, entre 60 y 80% son de origen celular B y entre el 10 y el 38% son de origen celular T (Calvalido *et al*. 2016).

Al revisar autores que trabajan en hematología canina se encuentra que Valli y colaboradores (2011) examinaron 992 caninos con linfoma y hallaron que el 95% correspondían a patologías de diferentes tipos y grados de malignidad, siendo las más comunes el linfoma linfoblástico, el linfoma de células T periféricas y el linfoma similar al Burkitt. Por su parte, Sostarik-Zuckermann y su grupo (2013) encontraron en 791 caninos con tumores malignos, que el 90,9% correspondieron a linfomas (Šoštarić-Zuckermann *et al*. 2013); así mismo, Bonnefort-Rebeix *et al.* (2016) hallaron una incidencia de linfomas no Hodgkin en caninos de 15-30/100.000 perros/año. Merlo (2008) reportó una prevalencia de anticuerpos del 40% en perros, siendo esta mayor en hembras que en machos. En Taiwan, Chiou *et al.* (2005) reportaron 88% de seroprevalencia en caninos cachorros y de 71% en adultos de la misma población. Milman y su grupo mostraron seroprevalencias de 64% en USA y de 38,4% en UK (Milman *et*

al. 2011). Otros autores sugieren que el EBV podría estar circulando y se podría asociar con algunas patologías, lo cual se demostró al determinar la presencia de DNA viral y proteínas de latencia en linfomas de caninos (Huang *et al*. 2012).

Respecto a la relación de estos linfomas con virus, en humanos se han visto algunos retrovirus presentes en estas patologías, en especial al EBV en neoplasias como el linfoma de Hodgkin, el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo. Por su parte, en caninos se ha encontrado recientemente este virus en linfomas B sin demostrar aún la relación con la etiología del tumor (Ito *et al*. 2014,). Como muchos de los virus pertenecientes al género de los Herpesvirus, el EBV cuenta con diferentes patrones de expresión de sus genes según se encuentre en fase lítica, en fase lisogénica o en periodo de latencia. Durante este periodo de latencia expresa la proteína EBNA-1 correspondiente al antígeno nuclear y las proteínas LMP-1 y 2 que son proteínas de membrana en latencia involucradas en evitar el reconocimiento viral por parte de la respuesta inmune (Milman *et al*. 2011). Además, la proteína LMP-1 se expresa consistentemente asociada con enfermedad maligna linfoproliferativa puesto que juega un papel importante en la transformación de los linfocitos (Huang *et al*. 2012). Su presencia durante la malignidad la convierte en un buen antígeno de detección del EBV en pruebas diagnósticas.

Con el objeto de incrementar el conocimiento respecto a la patogénesis y etiología de los linfomas en caninos y su posible relación con el EBV, en este trabajo se evaluó la presencia del EBV en diferentes tipos de linfomas en perros de distintas edades, razas y géneros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio descriptivo y retrospectivo que utilizó el archivo de histopatología de un laboratorio especializado en diagnóstico veterinario (Ecopvet). De allí se seleccionaron 20 muestras de tejidos linfáticos obtenidos de los casos diagnosticados como linfoma durante un periodo de 10 años, del 2004 al 2014. A los tejidos se les realizaron análisis histopatológicos para clasificar los tipos de linfoma y se les realizó una prueba inmunohistoquímica para detectar la presencia de marcadores celulares y la presencia del EBV. Los resultados de las dos técnicas (histopatología e inmunohistoquímica) fueron analizados estadísticamente y se correlacionaron con la presencia viral. Por último, se involucraron las variables demográficas propias de cada animal (edad, género, raza) para determinar si estas tenían relación con la presencia de linfoma y del virus EBV.

Muestreo, criterios de inclusión y clasificación histopatológica de los linfomas.

La selección de casos se restringió según los tres criterios de inclusión siguientes: la existencia de linfoma en la histopatología, que en el laboratorio existieran al menos cinco láminas que se encontraran listas para ser usadas para las pruebas de histopatología e inmunohistoquímica, y que en los registros se contara con los datos de edad, género y raza del perro que sufrió dicho linfoma.

Después de revisar la totalidad de muestras con estas características, se seleccionaron 20 que cumplían con los criterios de inclusión. A la totalidad de las muestras se les revisaron nuevamente las láminas histopatológicas y se reclasificaron los

casos de acuerdo con la publicación de las nuevas clasificaciones histopatológicas de linfomas propuesta por Valli *et al.* en 2011.

Detección de marcadores celulares y de la presencia viral en los tejidos

Para determinar si el linfoma en el cual se iba a buscar la presencia de EBV era de linaje linfocitario T o B, se realizó una prueba de inmunoperoxidasa a partir de los bloques de parafina de los tejidos seleccionados. En la primera lámina se agregó un anticuerpo anti–CD3 (Flex Polyclonal Rabbit Anti-human CD3, code IS503, DAKO), en dilución 1:50 durante una hora; este es un anticuerpo policlonal dirigido contra la cadena épsilon de la molécula CD3, específico para determinar células T, pretratado con Tris buffer salino y marcado con biotina. A la segunda lámina se le agregó el anticuerpo anti–CD79a (Monoclonal Mouse Anti-human CD79α, clone JCB117, code-Nr. M7050), en dilución 1:1.000 durante 30 minutos a 4 °C, que es un anticuerpo contra las células B también marcado con biotina y pretratado con Tris buffer salino. Para revelar las dos reacciones se utilizó el cromógeno streptavidina-peroxidasa.

La tercera prueba de inmunoperoxidasa se realizó para determinar la presencia del EBV en las células de la totalidad de los linfomas estudiados. Para esto se utilizó el anticuerpo anti-LMP-1 (Monoclonal Mouse Anti-Epstein-Barr Virus, LMP, clones CS.1-4, code-Nr. M 0897, DAKO) también marcado con biotina y utilizado siguiendo las instrucciones del fabricante.

Como control positivo, tanto del linaje T como del B, se utilizaron dos casos de linfomas caninos confirmados clínicamente por necropsia y por histopatología, que al ser observados al microscopio después de la tinción con el anticuerpo anti-CD3 y con el anticuerpo anti–CD79a, presentaron más del 80% de tinción color café rojizo en el citoplasma. Como controles negativos se utilizaron dos ganglios linfáticos de caninos sanos, tanto por clínica como por histopatología, que al ser observados al microscopio después de la tinción con cada uno de los anticuerpos citados, no presentaron tinción alguna en el citoplasma de las células. Para la lectura de las muestras se consideró positiva toda lámina que presentó más del 10% de células inmunomarcadas (Jeon *et al*. 2015).

Como control positivo para la proteína LMP-1 se utilizó un ganglio linfático de un caso positivo a la proteína del EBV de humano seropositivo y confirmado por biopsia. Los controles negativos correspondieron a tejidos linfáticos de caninos negativos a linfoma y a LMP-1.

Análisis de resultados

Teniendo en cuenta que los resultados se expresaron de forma categórica y dicotómica, para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS® versión 10.1, mientras que se aplicó la prueba de Ji cuadrado (X^2) como método estadístico a fin de establecer una relación de dependencia entre las variables independientes (raza, edad y género) y las dependientes (tipo de linfoma y presencia viral). Esta relación entre variables se clasificó como significativa cuando el valor de "p" fue menor o igual a 0,05. La prueba se aplicó para cuatro análisis en los que se deseaba correlacionar la presencia de:

i) los tipos de linfoma (clasificados por histopatología) con la presencia de EBV.
ii) los tipos de linfoma (clasificados por histopatología) con las variables demográficas.

iii) El linaje del linfoma y las variables demográficas.
iv) La presencia del virus EBV con tumores positivos para linfoma y variables demográficas.

Se tuvieron en cuenta dos variables dependientes, correspondientes a Y1 = presencia de linfoma y Y2 = presencia del EBV, en función a tres variables independientes (X1 = raza, X2 = género y X3 = edad), con la finalidad de poder relacionar estadísticamente cada variable categórica (raza, género, edad) que se asocia con cada una de las patologías (linfoma y EBV).

RESULTADOS

Clasificación y características histopatológicas de los linfomas

Los 20 casos de linfomas seleccionados se observaron bajo microscopio de luz para corroborar su clasificación histopatológica de acuerdo con la propuesta de Valli *et al.* en 2011. Los resultados mostraron predominio del linfoma nodal de zona T que representó 75% de los casos (Tabla 1).

A continuación se presenta la descripción histopatológica de cada uno de los casos:

- Linfoma nodal de zona T. Histológicamente se caracterizó por pérdida marcada de la arquitectura del órgano, adelgazamiento severo de la cápsula del ganglio linfático con infiltración de linfocitos neoplásicos, atrofia severa de los centros germinales, presencia de linfocitos en zonas medulares, linfocitos con leve pleomorfismo celular, pérdida de la relación núcleo-citoplasma (1:1,5), moderada anisocitosis con linfocitos pequeños en su mayoría, hipercromatismo nuclear, marcado pleomorfismo nuclear con presencia de núcleos hendidos, membrana nuclear evidente, dos a tres mitosis en 10 campos de 40x.
- Linfoma de células T periféricas. Se constató el adelgazamiento de la cápsula con algunos centros germinales evidentes, obliteración de los senos medulares que se hallan infiltrados con células neoplásicas, igualmente se encontró un grado severo de anaplasia, con pérdida de la relación núcleo-citoplasma (1:2,5), anisocitosis severa, hipercromatismo nuclear, cromatina dispersa, nucléolos muy evidentes; se observan dos y hasta tres nucléolos por núcleo, así como de 8 a 10 mitosis en 10 campos de 40x y abundante presencia de macrófagos al interior de la neoplasia.
- Linfoma de zona marginal. Se evidenció la pérdida completa de la arquitectura del tejido con desvanecimiento completo de los centros germinales hasta no poder diferenciarse corteza de médula; adelgazamiento severo de la cápsula del ganglio linfático con infiltración del seno subcapsular. La morfología celular correspondió a células heterogéneas caracterizadas por pleomorfismo celular de moderado a severo, cariomegalia marcada y cromatina condensada con nucléolos muy prominentes.

TABLA 1. Clases de linfomas y porcentaje de presentación de casos.

Clase de linfoma	No. casos (%)
Linfoma nodal de zona T	15 (75%)
Linfoma de células T periféricas	3 (15%)
Linfoma de zona marginal	1 (5%)
Linfoma difuso de células B grandes	1 (5%)

- Linfoma difuso de células B grandes. Se hallaron células de citoplasma amplio y anfofílico, con megalocitosis y anisocitosis severas, y megalocariosis marcada con múltiples nucléolos evidentes; la cromatina se observó dispersa, con 15 mitosis en 10 campos de 40x.

Con relación a la clasificación del linfoma según su linaje, los resultados de la prueba inmunohistoquímica para los diferentes tipos de linfomas mostraron que 18 casos (90%) fueron positivos para linaje T y dos casos (10%) fueron positivos para linaje B (ver Figuras 2 y 3).

Relación de la presencia del EBV con las características del tumor y del canino

i. Correlación entre la clasificación histopatológica del linfoma y la presencia del virus EBV: al realizar los análisis estadísticos de X^2 no fue posible encontrar una relación estadísticamente significativa entre la presencia del virus y la clase de linfoma clasificado (p = 0,079).
ii. Correlación entre el tipo de linfoma y las variables demográficas: con respecto a género y edad, no se evidenciaron resultados estadísticamente significativos de correlación entre estas variables y la presencia de linfomas, a diferencia de lo hallado en la raza Golden Retriever en la que se encontró correlación de la raza con la presencia del linfoma zonal de células T y una significancia estadística de p = 0,006 (Tabla 2), lo que indicaría que esta raza puede tener mayor riesgo de presentar linfomas, sin importar el tipo de linfoma. En las razas Labrador, Pitbull, Rottweiler y Weimaraner no se encontraron diferencias estadísticas significativas.
iii. Correlación entre el linaje del linfoma y las variables demográficas: se encontró que la raza Golden Retriever presentó correlación con la presencia del linfoma de células T(CD3) y B(CD79a) con una significancia estadística p = 0,000 y p = 0,006 respectivamente, lo que indica que esta raza tiene mayor probabilidad de presentar estas patologías más que las razas Labrador, Pitbull, Rottweiler y Weimaraner, en las que no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Con respecto al género y la edad no se encontraron correlaciones estadísticamente significativas (Tabla 2).
iv. Correlación entre la presencia del virus EBV con linfomas y variables demográficas: de los 20 casos de linfoma, seis se encontraron positivos para el EBV lo que corresponde al 30% (Figura 1). De ellos, cuatro casos correspondieron al linaje T (Figura 2) y dos al linaje B (Figura 3). En todos los casos positivos para EBV se encontró una relación del virus con la presencia del linfoma de células T (p = 0,023) y B (p = 0,026) (Tabla 3).

Por otra parte, no se encontraron correlaciones estadísticas significativas entre la presencia del virus y las variables demográficas (raza, género y edad).

DISCUSIÓN

El EBV es uno de los ocho herpesvirus que se considera infectan humanos y cuya estrategia de infección radica en colonizar linfocitos B y generar, bien sea una activación clonal de estas células —que al perder el control del ciclo celular pueden generar los linfomas— o una inserción del DNA viral en el DNA celular —que ocasiona inicialmente una transformación celular que da lugar a que el virus se mantenga latente en estas células desde donde pe-

TABLA 2. Relación entre los tipos de linfoma, los linajes celulares y la presencia del EBV comparados con el género, la raza y la edad.

	Género		Raza		Edad	
	Macho	**Hembra**	**Golden R**	**Otras**	**< 7 años**	**>7 años**
Tipo de linfoma por histopatología	**14**	**6**	**9**	**11**	**2**	**18**
	70%	30%	45%	55%	10%	90%
	p = 0,006*	p = 0,07	p = 0,08	p = 0,08	p = 0,22	p = 0,22
Linaje T por inmunohistoquímica	**13**	**5**	**9**	**9**	**1**	**17**
	72,2%	27,7%	50%	50%	5,5%	94,5%
	p = 0,112	p = 0,112	p = 0,006	p = 0,079	p = 0,521	p = 0,521
Linaje B por inmunohistoquímica	**1**	**1**	**0**	**2**	**0**	**2**
	50%	50%	0%	100%	0%	70%
	p = 0,515	p = 0,515		p = 0,099		p = 0,222
Presencia del EBV	**4**	**2**	**4**	**2**	**1**	**5**
	66,6%	33,3%	66,6%	33,3%	16,6%	83,3%
	p = 0,613	p = 0,360	p = 0,134	p = 0,099	p = 0,360	p = 0,360

* Linfoma nodal de zona T.

TABLA 3. Resultados de la relación entre la presencia del EBV y la presencia de los inmunomarcadores CD3 y CD79a (prueba Ji cuadrado).

Inmunomarcadores	EBV +	EBV –	TOTAL
CD3 (+)	4 (22%) p = (0,023)	14 (78%)	18
CD79a (+)	2(100%) p = (0,026)	0 (0%)	2

riódicamente se reactiva y produce una buena cantidad de virus—.

En humanos el EBV se caracteriza por estar presente en un alto porcentaje de la población adulta, lo cual se demuestra cuando se observa una distribución global del 90% (Thorley-Lawson *et al*. 2013). En la gran mayoría de las infecciones su comportamiento es silencioso, aunque también puede manifestarse clínicamente en enfermedades como la mononucleosis y en procesos neoplásicos donde se ha propuesto que puede encontrarse asociado al desarrollo de cáncer. Si bien su tropismo se había restringido a humanos, se ha demostrado su presencia en monos adultos, ratones (Chatterjee *et al*. 2014), perros y gatos (Milman *et al*. 2011).

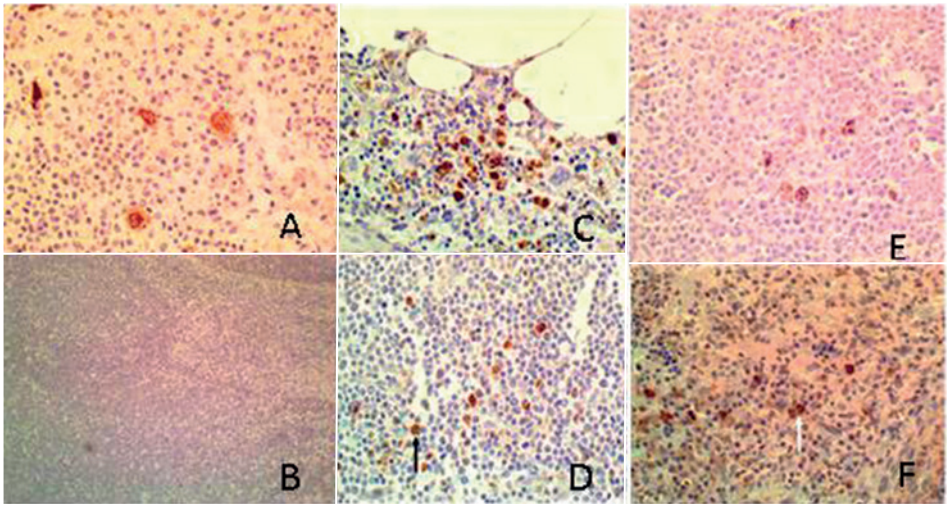

FIGURA 1. Fotografías microscópicas: **A**. Control positivo de LMP-1: se observa una coloración rojiza en el citoplasma celular (40x) . **B**. Control negativo de LMP-1 (10x). **C**, **D**, **E** y **F** linfomas linaje T positivos para la proteína LMP-1 del EBV.

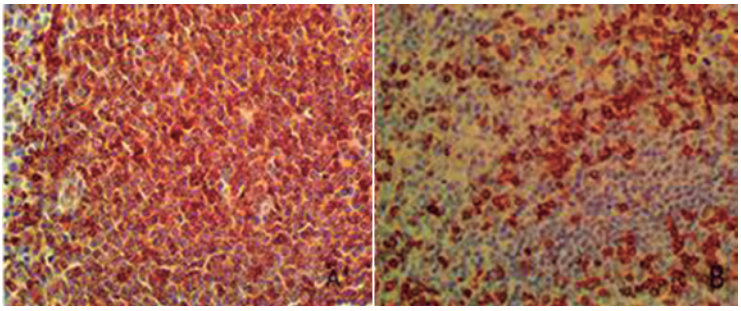

FIGURA 2. Fotografías microscópicas: **A**. control positivo para CD3: se observa una coloración café rojiza en los linfocitos T. **B**. Muestra positiva para CD3 (40x).

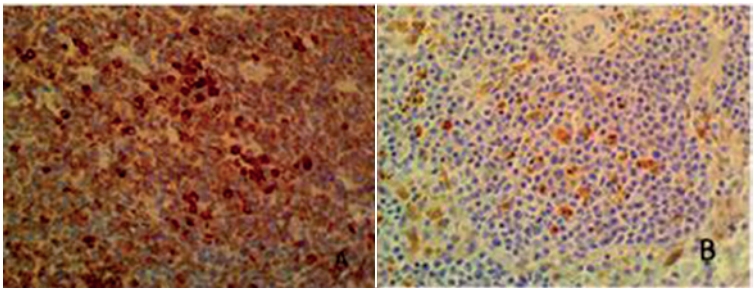

FIGURA 3. Fotografías microscópicas: **A**. Control positivo para CD79a observado como una coloración café rojiza en los linfocitos B. **B**. Muestra positiva para CD79a (40x).

En este estudio se examinaron 20 linfomas de caninos de los cuales 18 eran del linaje T y dos del linaje B, teniendo una relación T:B de 9:1 contrario a lo reportado por Huang y colaboradores (2012) quienes mostraron que en 36 caninos con linfoma, 31 eran de linaje B y cinco de linaje T (relación T:B de 1:6), y por Valli *et al*. (2011) quienes proponen al linfoma de células B difusas grandes como el linaje prevalente. No obstante, se ha observado que estos animales desarrollan linfomas de manera espontánea y no parecería que prevalezca un linaje sobre el otro.

Un segundo resultado fue el de la presencia del EBV en seis de los 20 linfomas estudiados, lo que corresponde al 30%. Esta presencia viral se distribuyó en cuatro de los 18 linfomas del linaje T (22%) y en los dos correspondientes a linfoma B (100%). Por su parte, Huang también mostró a este virus en caninos sanos así como en caninos con leucemia, reportando dos casos positivos para la proteína LMP-1 en seis linfomas (30%), confirmando que esta especie animal también es hospedera del EBV; sin embargo, la importancia epidemiológica de estos hallazgos aún no está clara (Huang *et al*. 2012).

Respecto a la raza, Huang y colaboradores reportaron en 2012 que razas como la Golden Retriver pueden presentar anticuerpos contra el EBV y también pueden presentar linfoma. Además, proponen que los perros con alto título de anticuerpos contra EBV desarrollan linfomas de manera espontánea y expresan el LMP-1 en el tejido linfoide maligno (Huang *et al*. 2012).

Si bien la presencia viral no se ha relacionado con una patología específica en perros y no ha sido reportada como causa de signos clínicos ni enfermedades similares a la mononucleosis infecciosa, esto no excluye que el virus no afecte a los caninos; por el contrario, no sería extraño encontrarlo, igual que en el hombre, generando una infección latente o poco sintomática que disminuya su ritmo y calidad de vida pero que no indisponga al animal.

En humanos el EBV se asocia con el desarrollo de al menos 200.000 casos de cáncer al año (Hu *et al*. 2016) relacionados con malignidades de células B que incluyen el linfoma post-trasplante, el linfoma de Burkitt y el linfoma de Hodgkin, o malignidades de células epiteliales como el carcinoma nasofaríngeo (Hislop 2015). En el reporte de Huang y colaboradores, realizado a partir de linfoma de células B difusas grandes, el tejido extraído de los animales enfermos se manejó de una manera similar a la de este estudio. Los tejidos se fijaron en formalina, fueron embebidos en parafina y se analizó la presencia de LMP-1 por inmunohistoquímica con un anticuerpo monoclonal, visualizando la coloración celular en las membranas y en el citoplasma en el 1% de las células malignas de las muestras. Como controles, Huang y su grupo utilizaron células Reed–Sternberg, infectadas con EBV obtenidas de nódulo linfoide humano, mientras que en este estudio se usaron células linfoides positivas para EBV que cuentan con patrones similares de tinción (Huang *et al*. 2012). El haber utilizado la misma técnica y en condiciones similares permite una comparación de los resultados y un reforzamiento del conocimiento.

El EBV, al igual que otros virus de la familia *Herpesviridae*, se caracteriza por producir infecciones latentes que permanecen toda la vida en el individuo y que, eventualmente, se manifiestan de forma clínica (Vera-Izaguirre *et al*. 2003, Thorley-Lawson *et al*. 2013). Con los

resultados de este estudio se podría pensar que los caninos positivos al virus pudieron adquirirlo mucho tiempo antes de desarrollar el linfoma y, en ellos, la infección pudo cursar de manera asintomática. Esta misma situación podría ocurrir en otros animales sin el desarrollo de las neoplasias al igual que sucede en el humano (Klein *et al*. 2007).

La proteína viral LMP -1 que expresan los linfomas en humanos se ha correlacionado con un pronóstico agresivo y con metástasis rápida a otros tejidos linfáticos (Lara-Torres 2009; Hu *et al*. 2016), reportándose una mayor agresividad cuando está presente en alta proporción en el linfoma de Hodgkin. Jeon *et al* (2015) encontraron en humanos una disminución en el tiempo de sobrevivencia de pacientes con linfoma que eran positivos para esta proteína viral del EBV (Jeon *et al*. 2015). Estos hallazgos deberán ser revisados en caninos pues el virus podría estar realizando un proceso patológico similar causando síntomas parecidos en esta especie animal que hasta el momento no se conocen.

El hallazgo de la presencia viral en perros con linfomas no confirma que el virus esté asociado a cáncer ni mucho menos que lo produzca, lo que si genera es un par de preguntas de investigación relacionadas con el papel que juega el EBV en estos linfomas y el porqué está este virus en el perro cuando parecería tener como hospedero natural al hombre. Por último, valdría la pena profundizar en el estudio de cómo es la infección del EBV en caninos.

Como conclusiones de este trabajo se puede afirmar que el EBV se encuentra en los linfomas de caninos, lo que sugeriría que el virus está circulando en esta población y que puede tener una relación con el desarrollo de esta patología. También se concluye que los caninos de raza Golden Retriever cuentan con mayor predisposición a la presencia de linfomas que las otras razas estudiadas. Con este trabajo se ratifica que el linfoma nodal de zona T es el que predomina en la población canina estudiada.

REFERENCIAS

Bonnefont-Rebeix C, Fournel-Fleury C, Ponce F, Belluco S, Watrelot D, Bouteille SE, Rapiteau S, Razanajaona-Doll D, Pin JJ, Leroux C, *et al*. 2016. Characterization of a novel canine T-cell line established from a spontaneously occurring aggressive T-cell lymphoma with large granular cell morphology. Immunobiology. 221: 12–22. Doi: 10.1016/j.imbio.2015.08.007.

Calvalido J, Wood GA, Mutsaers AJ, Wood D, Sears W, Woods JP. 2016. Comparison of serum cytokine levels between dogs with multicentric lymphoma and healthy dogs. Vet Immunol Immunopathol. 182: 106-114. Doi: 10.1016/j.vetimm.2016.10.009.

Chatterjee B, Leung CS, Münz C. 2014. Animal models of Epstein Barr virus infection. J Immunol Methods. 410: 80–87. Doi: 10.1016/j.jim.2014.04.009.

Chiou SH, Chow KC, Yang CH, Chiang SF, Lin CH. 2005. Discovery of Epstein–Barr virus (EBV)-encoded RNA signal and EBV nuclear antigen leader protein DNA sequence in pet dogs. J Gen Virol. 86: 899-905. Doi: 10.1099/vir.0.80792-0.

Hislop A. 2015. Early virological and immunological events in Epstein–Barr virus infection. Curr Opin Virol. 15: 75–79. Doi: 10.1016/j.coviro.2015.08.002.

Hu H, Luo M-L, Desmedt C, Nabavi S, Yadegarynia S, Hong A, Konstantinopoulos PA, Gabrielson E, Hines-Boykin R, Pihan G, *et al*. 2016. Epstein–Barr virus infection of mammary epithelial cells promotes malignant transformation. EBioMedicine. 9: 148-160. Doi: 10.1016/j.ebiom.2016.05.025.

Huang SH, Kozak P, Kim J, Habineza-Ndikuyeze G, Meade C, Gaurnier-Hausser A, Patel R, Robertson E, Mason NJ. 2012. Evidence of an

oncogenic Gammaherpesvirus in domestic Dogs. Virology. 427(2): 107-117. Doi: 10.1016/j.virol.2012.02.013.

Ito D, Frantz AM, Modiano JF. 2014. Canine Lymphoma as a Comparative model for human non-Hodgkin lymphoma: recent progress and applications. Vet Immunol Immunopathol. 159(3-4): 192-201. Doi: 10.1016/j.vetimm.2014.02.016.

Jeon YK, Kim JH, Sung JY, Han JH, Ko YH. 2015. Epstein-Barr virus-positive nodal T/NK-cell lymphoma: an analysis of 15 cases with distinct clinicopathological features. Human Pathology. 46(7): 981-990. Doi: 10.1016/j.humpath.2015.03.002.

Klein E, Kis LL, Klein G. 2007. Epstein–Barr virus infection in humans: from harmless to life endangering virus–lymphocyte interactions. Oncogene. 26(9): 1297-1305. Doi: 10.1038/sj.onc.1210240.

Lara-Torres C, Ortiz-Hidalgo C. 2009. Diagnóstico histopatológico e inmunohistoquímico del linfoma de Hodgkin y su diagnóstico diferencial. Patología–Rev Latinoam. 47(1): 35-45.

Merlo A, Turrini R, Dolcetti R, Zanovello P, Amadori A, Rosato A. 2008. Adoptive cell therapy against EBV-related malignancies: a survey of clinical results. Expert Opin Biol Ther. 8(9):1265-94. Doi: 10.1517/14712598.8.9.1265

Milman G, Smith KC, Erles K. 2011. Serological detection of Epstein-Barr virus infection in dogs and cats. Vet Microbiol. 150(1-2): 15-20. Doi: 10.1016/j.vetmic.2010.12.013.

Šoštarić-Zuckermann IC, Severin K, Hohšteter M, Artuković B, Beck A, Kurilj AG, Sabočanec R, Džaja P, Grabarević Ž. 2013. Incidence and types of canine tumours in Croatia.Veterinarski Archiv. 83(1): 31-45.

Thorley-Lawson DA, Hawkins JB, Tracy SI, Shapiro M. 2013. The pathogenesis of Epstein-Barr virus persistent infection. Curr Opin Virol. 3(3): 227-232. Doi: 10.1016/j.coviro.2013.04.005.

Valli VE, San Myint M, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, Ehrhart EJ, Johnson Y, Jones C, *et al*. 2011. Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. Vet Pathol. 48(1): 198-211. Doi: 10.1177/0300985810379428.

Vera-Izaguirre DS, Chávez-Tapia NC, Lizardi-Cervera J, Méndez-Sánchez N. 2003. Mononucleosis infecciosa. Medica Sur. 10(2): 76-89.

Article citation:

Veloza LC, Collazos M, Olaya N, Salas S, Corredor A, Díez H, Castellanos I, Gutiérrez MF. 2017. Presencia del marcador LMP-1 del virus Epstein Barr en linfomas de caninos. [Presence of LMP-1 protein of Epstein-Barr virus in lymphomas of canine origin]. Rev Med Vet Zoot. 64(3): 11-21. Doi: 10.15446/rfmvz.v64n3.68691.