

Revisión sistemática: estrategias virales para la inducción de cáncer “virus de Epstein-Barr: latencia y mecanismos asociados a la oncogénesis viral”

Viral strategies for cancer induction “Epstein-Barr virus: latency and mechanisms associated with viral oncogenesis”

Laura M Plata S¹, Julián F Oviedo L¹, Bladimiro Rincón-Orozco¹

Forma de citar: Plata LM, Oviedo JF, Rincón-Orozco B. Revisión sistemática: estrategias virales para la inducción de cáncer “virus de Epstein-Barr: latencia y mecanismos asociados a la oncogénesis viral”. Rev Univ Ind Santander Salud. 2018; 50(3): 257-268. doi: 10.18273/revsal.v50n3-2018010 

Resumen

La infección crónica con virus oncogénicos es responsable de aproximadamente el 20% de todos los cánceres reportados en humanos, este proceso de oncogénesis viral presenta una naturaleza compleja, multietapa y multifactorial. Un ejemplo de ello es el Virus de Epstein- Barr (EBV), un herpesvirus que infecta de manera latente a más del 90% de la población. Aunque la infección a menudo cursa de manera asintomática, el EBV es capaz de modificar su expresión genómica estableciendo diferentes fases de latencia, alterando así el metabolismo de sus células blanco, como son los linfocitos B y las células epiteliales, proceso que resulta determinante en la aparición y desarrollo de diferentes patologías que van desde la mononucleosis infecciosa hasta procesos oncológicos como el linfoma de Burkitt, el cáncer gástrico o el cáncer nasofaríngeo.

Palabras clave: Virus de Epstein Barr, oncogenes, proteínas virales, latencia, expresión génica, herpesvirus.

Abstract

Chronic infection with oncogenic viruses is responsible for approximately 20% of all cancers worldwide in humans, this viral transformation represents a complex, multistage and multifactorial process. An example is the Epstein-Barr virus (EBV), a herpesvirus that latently infects over 90% of the population. Although the infection often courses asymptotically, EBV is able to modify its genomic expression by establishing different latency phases, thus altering the B lymphocytes and epithelial cells metabolism, a determinant process in the appearance and development of different pathologies ranging from infectious mononucleosis to oncological processes such as Burkitt's lymphoma, gastric cancer and nasopharyngeal cancer.

Keywords: Epstein-Barr virus, oncogenes, viral proteins, latency, gene expression, herpesvirus.

1. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.

Correspondencia: Bladimiro Rincón Orozco. Dirección: Carrera 32. 29-31, Bucaramanga. Teléfono: +57 6344000 Ext. 3225. Correo electrónico: blrincon@uis.edu.co.

Introducción

El Herpesvirus humano de tipo 4 reconocido también como virus de Epstein-Barr, se encuentra clasificado dentro de la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Gammaherpesvirinae* y género *Lymphocryptovirus*¹.

El virión maduro presenta un diámetro que va de 120 a 180 nm y su genoma consiste en una doble cadena de ADN lineal, dsDNA. Dicho material genético se encuentra envuelto en un core conformado por la nucleocápside icosaédrica de 162 capsómeros la cual es adyacente a una porción de tegumento proteico que la separa de la envoltura viral, esta última caracterizada por presentar espículas glicoproteicas importantes para el reconocimiento de receptores y la posterior entrada a la célula hospedadora^{2,3}. (**Figura 1**).

Su material genético contiene aproximadamente 192 kpb que codifican alrededor de 100 genes, organizados

en 85 marcos abiertos de lectura u ORFs. El ADN de EBV tiene alto porcentaje G-C y contiene una serie de secuencias repetitivas directas terminales (TR) e intermedias (IR) entre las que se encuentra IR11 (Secuencia de repetición interna mayor), la cual divide al genoma en una secuencia única larga U_L y una corta U_S. Además, contiene dos orígenes de replicación OriP y OriLyt que son usados en ciclo de latencia y lítico respectivamente⁴⁻⁶. Actualmente se conocen dos cepas predominantes de EBV, la tipo 1 o A y la tipo 2 o B ver **Figura 1**.

Al igual que otros virus de la misma familia, EBV se caracteriza por causar infección latente en el hospedero una vez es adquirido. Aunque en la mayoría de casos la infección cursa de manera asintomática, se ha relacionado con la aparición y desarrollo de diferentes patologías tales como la mononucleosis infecciosa, linfoma de Burkitt, cáncer nasofaríngeo, cáncer gástrico, entre otras.

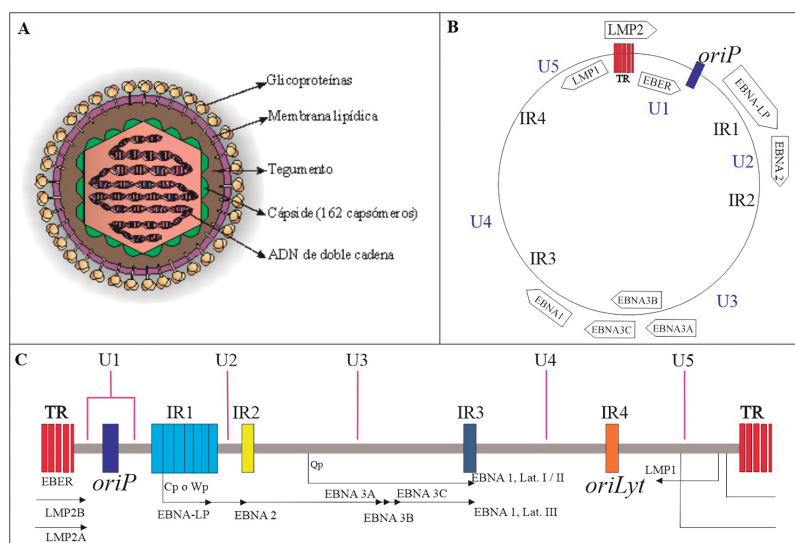


Figura 1. Morfología y estructura genómica del Virus de Epstein-Barr. Adaptado de OK CY, et al⁷⁸. A) Se muestra la morfología del virus de Epstein-barr. La envoltura contiene varias glicoproteínas que son esenciales para la selección del huésped, el reconocimiento del receptor y la entrada viral a la célula². B) Forma episomal del genoma viral. C) El genoma del EBV está organizado 85 ORFs, inicialmente basados en la posición y orientación relativa dentro del mapa de enlace del fragmento de restricción BamHI del genoma del aislamiento B95-8, p y posteriormente ampliados tras el secuenciado de otros aislamientos virales. Se muestran las secuencias repetitivas terminales (TR) que flanquean el genoma, este se encuentra dividido en cinco dominios de secuencia (U1-U5) por los cuatro dominios de repetición directos internos principales (IR1-IR4). También se muestran las posiciones de la infección latente (oriP) y lítica (oriLyt) de la replicación del ADN³, 76.

Replicación viral y patogenicidad

EBV es transmitido principalmente a través de la saliva donde posteriormente ingresa a la orofaringe, una vez allí, es capaz de infectar tanto a células epiteliales como a linfocitos B vírgenes⁴. Al igual que otros herpesvirus,

EBV utiliza diferentes combinaciones de glicoproteína y de receptores para definir el tropismo celular, de tal manera que las interacciones necesarias para el ingreso a las células B, varían con respecto al mecanismo de entrada en las células epiteliales como se observa en la **Figura 2**⁷.

Una vez el virus ha ingresado a la célula, se da lugar al proceso de descapsidación donde el ADN viral es transportado al núcleo y proteínas virales de tegumento son liberadas al citoplasma como BNRF1 la cual se une a la proteína celular Daxx alterando el complejo Daxx/ATRAX, facilitando así la transcripción de genes virales. Aunque en ambos tipos celulares el virus puede experimentar un ciclo de replicación lítico, que da como resultado la producción de nuevas partículas infecciosas es en las células epiteliales, a nivel de nasofaringe, donde se ha observado que la replicación toma lugar directamente en la infección primaria. A partir de allí, el virus puede colonizar glándulas salivales, tejidos linfoides y células epiteliales de la orofaringe donde los linfocitos B son infectados a medida que van circulando. Una vez allí, EBV puede llevar una serie de replicación lítica o dar lugar a la expresión diferencial de genes latentes⁸. Los productos génicos de las dos fases se exponen en la **Tabla 1**.

Fase lítica

La fase lítica se presenta durante la primoinfección o la reactivación de la infección y se caracteriza por la expresión de todos los marcos de lectura abiertos del genoma viral^{5,9}. Durante esta fase, el material genético es transportado al núcleo y se replica gracias a la ADN polimerasa viral. Existen tres tipos de productos génicos líticos: inmediatos, tempranos y tardíos⁵. Los genes inmediatos BZLF1 y BRLF1, responsables del cambio de fase de latencia a fase lítica, son los primeros en transcribirse. Además, son transactivadores de los genes tempranos y tardíos. BZLF1 codifica para Zta o Zebra, una proteína con tres dominios: un dominio de transactivación, un dominio básico con alta homología a la región conservada de c-jun/c-fos, y un dominio de homodimerización^{5,10}.

Durante la reactivación viral, por medio de Zta y Rta se activa la transcripción desde el promotor de BRLF1 (Rp) a partir de múltiples promotores virales¹⁰. Zta también actúa en la replicación al unirse a elementos de respuesta a Zta (Zres), situados dentro del origen de replicación lítico OriLyt. Zres incluyen tanto elementos clásicos de respuesta AP-1, como sitios con motivos CpG metilados que han sido identificados mediante diseños computacionales¹¹⁻¹³. Por otra parte, Zta contiene un dominio con homología a las ankirinas p53BP2/ASPP2, que se dimeriza formando una estructura denominada ZANK, capaz de interactuar con NF- κ B y p53 inhibiendo las vías de apoptosis mediadas por estas moléculas en linfocitos B, pero estimulándolas en células epiteliales y linfocitos T infectados transitoriamente¹².

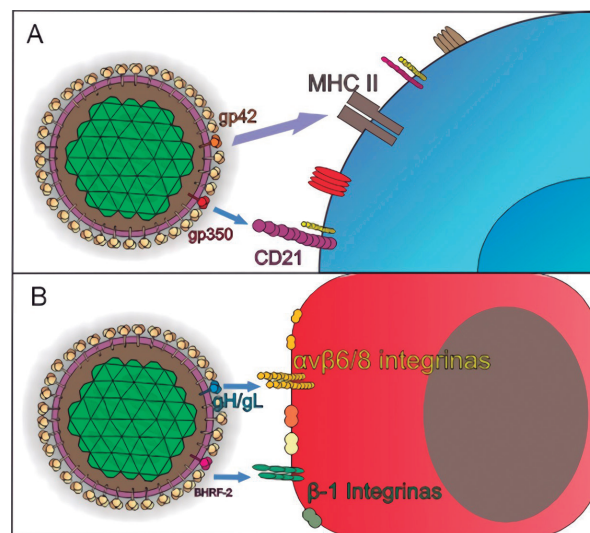


Figura 2. Mecanismos de entrada de EBV a células blanco. Adaptado de Stanfield y Luftig⁷⁷. A) La infección de los linfocitos B virgenes comienza por la unión de la glicoproteína de la envoltura viral, gp350/220 al receptor del complemento tipo 2, o CD21 o al CD35. Tras la fijación del virus a las células B, una segunda molécula, gp42, es escindido en su dominio transmembrana, generando una proteína soluble, que interactúa con su receptor, el Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II, MHC II². B) En las células epiteliales, la entrada se da por fusión directa con la membrana plasmática del hospedero, y requiere la unión del complejo gH/gL con las integrinas $\alpha v\beta 5$, $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$, a través del motivo de unión a integrina KGD, lo que posiblemente induce un cambio conformacional en el complejo, que facilita la unión de gB y desata la fusión^{2, 77}.

BRLF1, codifica para otro transactivador, la proteína Rta, la cual se une directamente a regiones ricas en G-C conocidas como elementos de respuesta a Rta (RREs) ubicados dentro de los promotores de los genes líticos tempranos, donde actúa como potenciador⁹, además interactúa con Sp1, MCAF1 y Oct-1, TAF4 y TSG101 para la transcripción de diversos genes virales¹⁴. Rta suprime la inducción del IFN- β , al inhibir la expresión de dos de sus factores reguladores, IRF3 e IRF7¹⁰. BZLF1 y BRLF1 también inducen alteraciones morfológicas y funcionales en la mitocondria, obteniendo así el ATP necesario para el ensamblaje y otras funciones relacionadas con la fase lítica¹⁵.

La transcripción de los genes tempranos es inducida por los transactivadores inmediatos, generándose la producción de diversas enzimas, que en su mayoría participan en el proceso de replicación viral⁵. Uno de estos genes es BHRF1, el cual codifica una proteína transmembrana de 17 KDa homóloga al oncogen humano Bcl-2, que actúa como un gen de supervivencia celular al inhibir la apoptosis

inducida por estímulos como la γ -radiación, diversos agentes quimioterapéuticos^{16,17}, el retiro del factor de crecimiento, la granzima B y p53, prolongando de esta forma, el tiempo disponible para la replicación de EBV y la producción de nuevos virus¹⁶. Los productos génicos tardíos codifican mayoritariamente proteínas requeridas para el ensamblaje, maduración y liberación del virus¹⁸. Un gen tardío importante para la evasión de la respuesta inmune del hospedador es BCRF1, que codifica un análogo viral de la IL-10 humana, capaz de inhibir la función de las células T, la activación de macrófagos, la síntesis de IFN- γ , y de interferir con la lisis mediada por células NK¹⁹⁻²¹.

En contraste con los genes inmediatos y tempranos, la expresión de los genes tardíos precisa de la replicación viral y la formación de un complejo de preiniciación, en el que BCRF1 se une a la secuencia promotora TATT y a la forma hiperfosforilada de la RNAP II, regulando de esta forma la transcripción de los genes tardíos^{18,21}.

Fase de Latencia

Se caracteriza por tres eventos: el genoma viral persiste de forma episomal principalmente dentro del núcleo de linfocitos B, la replicación está dada por la DNA polimerasa del hospedero, y ocurre una regulación negativa de la expresión génica viral, desencadenando un ciclo de latencias (I - III) asociadas a diversas patologías²² que se muestran en la **Tabla 2**. Una vez infectado el linfocito B virgen, el virus ingresa en el programa de crecimiento o latencia tipo III, donde expresa la totalidad de sus antígenos induciendo la transformación, multiplicación celular, y activación de linfocitos T citotóxicos. Dependiendo del ambiente externo, características del hospedero y eventos virales, se silencia la expresión de determinados genes, condicionando el paso de un tipo de latencia a otro. Ocasionalmente, las células B de memoria regresan a las amígdalas donde pueden experimentar la diferenciación a células plasmáticas, desencadenando la replicación viral y liberando nuevas partículas a la saliva, para la difusión a otros hospedadores u otras células B como se ilustra en la **Figura 3**.²²⁻²⁴

Antígenos Nucleares

El antígeno nuclear 1- EBNA1, es una fosfoproteína de unión específica al ADN, poco inmunogénica, debido a la presencia de triadas de aminoácidos Gly-Gly-Ala, que la protegen de la degradación por proteasoma en la vía dependiente de ubiquitina^{22,25}. Estructuralmente consta de dos regiones ricas en Glicina-Arginina y una en Glicina-Alanina, tiene un sitio de unión a la

proteasa de ubiquitina USP7, y un segmento largo C-terminal hidrofóbico de dimerización y unión al ADN. Se transcribe a partir de los promotores Cp y Wp en latencia tipo III, y del promotor ubicado en BamHIQ (Q: Qp) en las latencias tipo I y II. EBNA1 es afín al origen de replicación latente, OriP, cuyos componentes funcionales, el elemento de simetría dioico (DS) y la familia de repeticiones (FR), se encargan de la multiplicación del episoma y la segregación mitótica del ADN viral respectivamente. Cuando se une al elemento FR del OriP, EBNA1 puede transactivar la expresión de otros antígenos nucleares, y de proteínas latentes de membrana, LMPs²⁶. Además tiene la capacidad de inducir inestabilidad genómica al aumentar los niveles de especies reactivas de oxígeno, y bloquear la interacción de p53 con USP7, disminuyendo y desestabilizando a p53^{25,27}. El silenciamiento de EBNA1 en líneas celulares de Linfoma de Burkitt, se ha visto asociado con la disminución de la proliferación celular, señalando su importancia para la supervivencia de células tumorales.

EBNA5/LP y EBNA2 son las primeras proteínas virales en ser expresadas una vez es infectada la célula, EBNA5, tiene función coactivadora de EBNA-2, cuyo rol en el proceso de transformación celular es conocido. Al no poder unirse directamente al ADN, EBNA-2 secuestra la proteína celular de unión al ADN, RBP-Jk, para la activación transcripcional de genes celulares como CD23 y virales como LMP1 y LMP2A^{3,22,26,29}. En contraste, la activación de la transcripción que esta mediada por EBNA-2 y EBNA-LP es modulada por los antígenos nucleares 3, EBNA 3A, 3B y 3C, que poseen un origen común y están codificados por fusiones de genes en tándem. Tanto EBNA3A como EBNA3C se asocian a procesos de immortalización celular, además pueden cooperar con RAS en ensayos de transformación de fibroblastos de roedores, e interrumpir los puntos de control del ciclo celular. EBNA3C, por otra parte, actúa como factor de transcripción induciendo la expresión de CD21, CD23 y LMP1^{26,30,31}.

Antígenos de membrana

Proteína latente de membrana 1 (LMP 1): LMP 1 es una proteína integral de membrana de 66 kDa expresada durante los programas de latencia II y III³. Está conformada por un extremo corto amino-terminal citoplasmático (aminoácidos 1-23) que desempeña un papel en la orientación y procesamiento de la proteína, seis regiones hidrofóbicas transmembrana (aminoácidos 24-186), y una cola citoplasmática carboxi-terminal (aminoácidos 187-386)^{1,32}. LMP 1 se activa constitutivamente a través de mecanismos que

involucran la homo-oligomerización y la asociación con balsas lipídicas, y a continuación mimetiza la función del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), CD40. Los dominios de la región transmembrana (TM) son cruciales para la oligomerización de la molécula y la formación de dominios de señalización en el carboxilo terminal³³, el cual posee la mayor capacidad

de señalización, con tres regiones de activación C-terminales (CTAR1, 2 y 3), que proporcionan sitios de acoplamiento para proteínas adaptadoras de señales incluyendo factores asociados a receptor de TNF (TRAFs), proteínas con dominio de muerte asociadas a TNFR (TRADD), el receptor de interacción con proteína quinasa (RIP), BS69 y JAK-3^{34,35}.

Tabla 1. Clasificación y función de los productos génicos de EBV según etapa de expresión.

Ciclo	ORF	Tamaño (pb)	Producto génico	Función	Referencia
Inmediato temprano	BZLF1	626	Zta o Zebra	Activación de la transcripción de genes virales tempranos.	(2, 5, 10)
	BRLF1	918	Rta		(5, 14, 15)
	BHRF1	619	p17	Análogo viral a bcl-2	(16, 17)
	BMRF1	979	Antígeno temprano difuso EA/D		(2,5,18)
Temprano	BSLF1	712	Primasa	Replicación del ADN.	(2, 5, 18)
	BBLF4	2388	ADN helicasa		(2, 5, 18)
	BBLF2	1051	Factor asociado a primasa		(2, 5, 18)
	BALF2	1004	Proteína de unión al ADN		(2, 5, 18)
	BALF5	658	ADN polimerasa		(2, 5, 18)
	BGLF5	839	ADNasa alcalina	Metabolismo de nucleótidos	(5)
	BXLF1	1821	Timidina quinasa		(5)
	BLRF2	458	p23	Proteína de la cápside	(5)
	BLLF1	1039-1009	gp350/220	Unión con el receptor celular CD21	(1,7)
	BXLF2	560	gp85, gH	Fusión y entrada viral	(1,7)
Lítico	BKRF2	304	gp25, gL		(1,7)
	BZLF2	678	gp42		(1,7)
	BALF4	1012	gp110, gB		(1,7)
	BNRF1	889	p143	Proteína de tegumento	(1, 5)
	BCLF1	1268	VCA p55		(5)
	BDRF1	1130	VCA p40	Antígeno de cápside viral	(2, 5)
	BFRF3	440	VCA p18		(2, 5)
	BCRF1	343	vIL-10	Desconocida	(19, 20, 21)
	BKRF1	727	EBNA-1	Mantenimiento y replicación del genoma viral, efecto antiapoptótico.	(1, 22, 25, 26, 27)
	BYRF1	1500	EBNA-2	Transactivador de genes virales y del hospedero (CD23, LMP1, LMP2A), inmortalización de linfocitos B.	(1, 24, 29)
Latente	BLRF3-BERF1	206	EBNA-3A	Transformación de linfocitos B.	(1, 24)
	BERF2a-BERF2b	358	EBNA-3B	Transactivador	(1, 30)
	BERF3-BERF4	1005	EBNA-3C	Transformación de linfocitos B. transactivador de CD21, CD23 y LMP1.	(1, 24,30)
	BWRF1		EBNA-LP	Cofactor de EBNA-2, favorece transcripción de LMP1.	(1, 5, 24)
	BNLF1	681	LMP1	Principal oncoproteína, mimetiza la función de CD40 (TNFR), acción antiapoptótica, metástasis.	(1, 32,34, 35, 36)
	BARF1/BNRF1	339	LMP2A	Mimetiza BCR, evasión de la apoptosis, transformación celular.	(44, 45, 46, 47)
	BNRF1		LMP2B	Potencia la acción de LMP2A.	(1, 32)

Tabla 2. Eventos y patologías asociadas a cada programa de latencia. Adaptado de Roy et al²².

Tipo de latencia	Nombre alternativo	Expresión genómica	Descripción	Patologías asociadas	Referencia
I	Programa de latencia	EBNA-1 EBER1/2 RNA BART RNA	Multiplicación del genoma mediante la división de linfocitos B de memoria.	Linfoma de Burkitt	(22, 24)
II	Programa por defecto	EBNA-1 LMP-1 LMP-2A/B EBER1/2 RNA BART RNA	Diferenciación de linfocitos B en células de memoria	Linfoma de Hodgkin, Cáncer nasofaríngeo	(22, 24)
III	Programa de crecimiento	EBNA-1, EBNA-2 EBNA-3ABC EBNA-LP LMP-1 LMP-2A/B EBER1/2 RNA BART RNA	Activación de linfocitos B vírgenes con generación de blastos	Trastornos linfoproliferativos relacionados con inmunosupresión	(22, 23, 24)

LMP1 es la principal oncoproteína en la mayoría de tumores EBV positivos. Una de sus características es la capacidad de inhibir la apoptosis en tumores de células epiteliales, así como en linfomas, al estimular la expresión de survivina, TNFAIP3/A20, Mcl-1 y CD137 (en células T y NK), e inhibir por fosforilación a las moléculas proapoptóticas Bad y Foxo3a, a través de mecanismos dependientes de las vías de señalización de NF- κ B, AP-1 y PI3K/Akt^{33,36-38}. Se ha observado que LMP1 promueve la acumulación nuclear de β -catenina en células de cáncer nasofaríngeo (NPC), aumentando la supervivencia celular a través de la vía Wnt/ β -catenina³⁹. Adicionalmente, posee la capacidad

de evadir la apoptosis mediada por metabolitos anticancerígenos como el ácido transretinoico, al inhibir la expresión de su receptor RAR- β_2 por metilación del ADN, y disminuir los niveles de caspasas 3 y 9, bloqueando la vía extrínseca de la apoptosis^{40,41}. Por otra parte, LMP1 desempeña un rol importante en la aparición de metástasis al impulsar la sobreexpresión de metaloproteína 9, ezrin, TNFAIP2; la activación de ets-1, c-Met y STAT 3, este último por medio de las vías JAK-3 y ERK 1/2 vías que en última instancia conllevan a la pérdida de adhesión celular, degradación de la matriz extracelular y aumento de la motilidad^{36,37,42,43}.

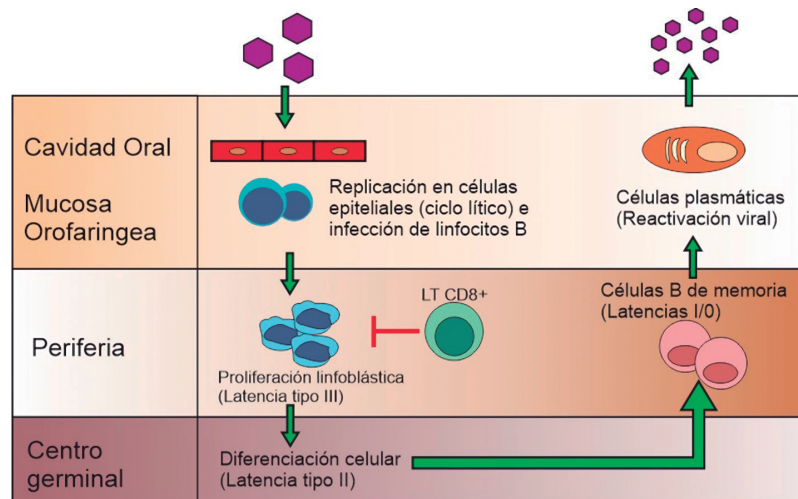


Figura 3. Ciclo del virus de Epstein-Barr. Adaptado de Jha T, et al². Una vez infectado el linfocito B virgen, el virus ingresa en el programa de crecimiento o latencia tipo III, donde expresa la totalidad de sus antígenos e induce la transformación y multiplicación celular, generando linfoblastos que al ser altamente inmunogénicos activan la respuesta de los linfocitos T citotóxicos³⁰. A continuación, tres de las proteínas nucleares virales, regulan negativamente el programa de crecimiento, latencia tipo II, que permite la posterior migración de la célula a los folículos linfoides para iniciar la reacción del centro germinal; una vez generadas las células B de memoria, estas pueden salir a la circulación donde hay un silenciamiento total de la expresión génica, llamada también latencia tipo 0. Eventualmente los linfocitos B de memoria se dividen y así mismo expresan una única proteína nuclear viral, EBNA-1, entrando en latencia tipo I, o migran a las amígdalas reactivando el ciclo lítico².

Proteína latente de membrana 2 (LMP2): LMP2 codifica las proteínas LMP2A y LMP2B, transcritas a partir de promotores diferentes en las repeticiones terminales fusionadas del episoma viral. LMP2A y LMP2B poseen 12 segmentos transmembrana y una cola carboxilo-terminal, además LMP2A cuenta con una secuencia adicional amino- terminal citosólica de 119 aminoácidos con capacidad de señalización³².

La cola amino terminal se encuentra constitutivamente fosforilada dentro de múltiples sitios, incluyendo dos regiones ricas en tirosina (Y74/Y85) que constituyen motivos de inmunorreceptores activables por tirosina (ITAM), donde la proteína Syk es secuestrada y activada; una tirosina en 112 que une y activa la tirosina quinasa Lyn^{32,44}, y dos motivos ricos en prolina (PY), responsables de la unión de Ubiquitina-ligasas U3 y la activación de la β -catenina en células epiteliales al inhibir la GSK-3 por medio de la proteína quinasa C, señalizando e inhibiendo la diferenciación de células epiteliales⁴⁵.

LMP2A mimetiza la función del receptor de célula B (BCR), uniendo inicialmente a Lyn, seguida de Syk y desencadenando la activación de la proteína de unión a célula B (BLNK), y las vías NF- κ B, MAPK/ERK y Ras/PI3K/Akt, a través de las cuales promueve la supervivencia de células B, al inducir los genes antiapoptóticos Bcl-2 y Bcl-xL, lo que parece ejercer una función crítica en la infección temprana (4 a 7 días)^{44,46}. Por tanto, al actuar como un BCR activado, LMP2A aumenta la activación temprana, proliferación y supervivencia de células B, favoreciendo el establecimiento de LCLs. LMP2A también es capaz de interactuar con el residuo 33 de WOX-1 un supresor tumoral, a través de sus regiones PY, desatando la activación de ERK1/2 y cascada abajo el factor de transcripción Fra-1, lo que conduce a un aumento en la expresión de metaloproteínasa (MMP) 9, proteína implicada en la invasión celular⁴⁷.

Productos génicos no codificados: EBER 1 y EBER 2 son pequeños ARNs no poliadenilados de 167 y 172 nucleótidos respectivamente, se transcriben a partir de la polimerasa III del hospedero y son altamente expresados en las células en latencia, ambos tipos tienen una estructura secundaria bien definida que comprende el apareamiento intermolecular de bases y la formación de bucles. Los EBERs tienen la capacidad de interactuar con diferentes moléculas del hospedero, tales como el antígeno del lupus (La), el ARN dependiente de proteína quinasa R (PKR), la proteína ribosomal (L22), el ácido retinoico inducible del gen I (RIG-I) y al factor AUF-1; dichas relaciones se asocian con el crecimiento

y proliferación celular, se ha reportado que los EBERs confieren resistencia celular a la apoptosis dependiente de PKR, la inducción de citoquinas y la modulación del sistema inmune innato^{22,48}.

Patologías asociadas, diagnóstico y tratamiento

Mononucleosis infecciosa

En países en vía de desarrollo la infección por el virus de Epstein-Barr se da principalmente durante la infancia, cursando de manera asintomática, mientras en países desarrollados, ocurre durante la adolescencia o la adultez, asociada a la aparición de enfermedad en el 50% de los casos, cuatro a seis semanas después del contacto viral⁴⁹. La Mononucleosis infecciosa se caracteriza por la proliferación del tejido linfóide y leucocitosis mononuclear con linfocitos atípicos. Presenta un inicio insidioso, seguido de fiebre, faringitis, dolor de garganta y linfadenopatía cervical posterior, entre otros síntomas.

La primoinfección por el virus de Epstein-Barr desencadena una respuesta inmune que es responsable en gran medida de la sintomatología, inicialmente los virus provocan una potente respuesta de interferones tipo I y la intervención de receptores tipo toll tales como TLR2, TLR3, TLR7 y TLR9. Dentro de las citoquinas proinflamatorias detectadas en suero de pacientes con mononucleosis infecciosa destaca el INF- γ , IL-2, IL-6, IL-1 β y TNF- α . La respuesta adaptativa juega un rol fundamental tanto en el control de la infección como en la presentación de los síntomas, los linfocitos atípicos o células de Downey, son linfocitos T citotóxicos activados que responden a la infección por EBV, caracterizados por poseer un mayor tamaño que los linfocitos maduros y por tener un citoplasma vacuolado basófilo, aunque su hallazgo no es patognomónico^{50-52,55}.

El diagnóstico de la infección aguda por EBV se basa en la presentación clínica y en los hallazgos de laboratorio, las pruebas serológicas demuestran la presencia de anticuerpos heterófilos en el 60 – 80% de los casos mediante el ensayo de Paul-Bunnell, el virus induce también el desarrollo de anticuerpos específicos, de importante determinación cuando el paciente manifiesta presentaciones clínicas atípicas o anticuerpos heterófilos negativos. La IgM dirigida contra los antígenos de la cápside viral (VCA anti-IgM), se detecta en el 90% de los pacientes hacia el séptimo día de la aparición de los síntomas, mientras la IgG anti VCA tiene un pico entre el segundo y

cuarto mes de la infección y persiste de por vida. Los anticuerpos dirigidos contra EBNA-1 se generan hasta tres meses después del contacto viral, siendo del tipo IgG. Dado que en individuos inmunocompetentes el proceso de linfoproliferación es autolimitado, el tratamiento es principalmente sintomático mediante el uso de analgésicos y antipiréticos, sin embargo se han empleado algunos medicamentos antivirales como aciclovir y ganciclovir y también se ha hecho uso de corticoesteroides⁵³⁻⁵⁶.

Linfoma de Burkitt

El linfoma de Burkitt (LB) es un linfoma no Hodgkin de células B, altamente proliferativo, que presenta tres variantes clínicas: endémica, esporádica y asociada a inmunodeficiencia, similares en morfología, inmunofenotipo y características genéticas. La variante endémica ocurre en África ecuatorial y Papua Nueva Guinea, donde representa el 90% de todos los linfomas y en la cual EBV es encontrado en el 96% de los casos^{56,57}.

Histológicamente se caracteriza por la presencia de células monomórficas de tamaño medio que presentan un núcleo aumentado de tamaño, redondo a oval con un patrón de cromatina dispersa y conteniendo múltiples nucléolos basófilos paracentrales, cuyo inmunofenotipo se caracteriza por fuerte expresión de inmunoglobulinas, CD20, CD19, CD22, CD10, Bcl-6, Y Ki-67, y bajos niveles de MHC I, además de nula expresión de CD23, CD5 y Bcl-2^{56,58,59}.

Los sitios de localización tumoral están relacionados con la variable clínica, así, en la forma endémica son frecuentes las presentaciones faciales (mandibular, periorbital) y abdominales, mientras que la afectación del ovario y médula ósea es infrecuente. Por otra parte, en la forma esporádica, el 80% de los casos presentan afectación abdominal, seguida de la presentación en cuello y cabeza. Alrededor del 20% de los pacientes en países desarrollados presentan infiltración de la médula ósea clasificada en algunos casos como un síndrome leucémico^{59,60}.

El evento clave en la patogénesis de LB es la adquisición de una translocación cromosomal del protooncogén c-Myc desde el brazo largo del cromosoma 8, a los loci de las cadenas pesada o ligera de las inmunoglobulinas en los cromosomas 2, 14 o 22, generando una expresión constitutiva del gen. EBV contribuye a la generación de LB bien sea aumentando la cantidad de accidentes genéticos, dando lugar a la translocación, o

complementando la actividad de c-Myc⁶¹. Las células tumorales infectadas con EBV muestran una latencia tipo I, en la cual EBNA 1 coopera con c-Myc desregulado principalmente a través de tres de sus funciones: antagonizando a p53, evadiendo el reconocimiento por los linfocitos TCD8+ y manteniendo el episoma viral^{61,62}.

En células de LB, se ha encontrado que tanto la presentación de antígeno por MHC I, como la respuesta citotóxica son ineficientes. EBNA 1 participa en la evasión de la eliminación por linfocitos T CD8+, mediante la formación de un complejo con el proteasoma, bloqueando la degradación proteica y por lo tanto, frustrando el procesamiento y presentación en moléculas MHC⁶¹⁻⁶³.

La prueba diagnóstica más común es el examen citológico de un aspirado con aguja fina, acompañado de pruebas complementarias como radiografía de tórax^{59,64,65}. Un algoritmo alternativo propone el uso de un panel de seis anticuerpos – CD20, CD10, BCL-2, Ki-67, CD38 y CD44, distribuidos en tres fases. Las fases 1 y 2 utilizarían inmunotinciones, que detectarían el 90% de casos y la fase 3 utiliza FISH, detectando el porcentaje restante⁶⁶.

El tratamiento estándar contra el linfoma de Burkitt consiste en regímenes específicos que incorporan cursos intensivos de quimioterapia con agentes alquilantes fraccionados y agentes específicos de fase capaces de cruzar la barrera hematoencefálica. El tratamiento primario en niños consiste en la administración de COPADM (ciclofosfamida, vincristina, prednisolona, doxorubicina, metotrexato) con dosis aumentadas de metotrexato y adición de citarabina en los pacientes con estadios superiores al B, sin embargo, este régimen tiene un alto grado de toxicidad, por lo cual diferentes protocolos han experimentado con dosis reducidas⁶⁷⁻⁶⁹. En adultos, el tratamiento incluye el uso de rituximab. Se encontró que el uso combinado de ciclofosfamida, etopósido, doxorubicina, vincristina, prednisona y rituximab (EPOCH-R) en dosis disminuidas fue altamente efectivo para el tratamiento de adultos con LB esporádico o asociado a VIH, lográndose una menor incidencia de neutropenia y otros efectos tóxicos que con la administración de dosis estándar^{70,71}.

Carcinoma Nasofaríngeo

La transformación tumorigénica del epitelio nasofaríngeo se presenta principalmente de los 40 a 60 años, siendo endémica en el sur de China, donde afecta

1-40 de cada 100.000 personas. El compromiso de las condiciones inmunes, sumado a un microambiente inflamatorio crónico, podría contribuir a la patogenia de EBV en el desarrollo de tumores malignos. Histológicamente se puede presentar como carcinoma escamoso queratinizante, tipo I; carcinoma escamoso no queratinizante, tipo II; y carcinoma indiferenciado, tipo III, que corresponde al patrón histológico asociado a EBV. Epistaxis, otitis, secreción y obstrucción nasal pueden ser algunas de las primeras manifestaciones clínicas, otros síntomas incluyen dificultad para respirar, linfadenopatía cervical y el compromiso de nervios craneales⁷².

Es común que la infección en células epiteliales tanto de orofaringe como de nasofaringe desencadene la fase lítica viral, sin embargo EBV también puede establecer latencia, donde LMP1 y otras proteínas expresadas en latencia II promueven la iniciación y progresión tumoral. Estudios realizados in-vitro señalan que la infección por EBV induce la detención del crecimiento en el epitelio de la nasofaringe, sin embargo la sobreexpresión de ciclinas (D1 principalmente) y la disminución de p16 contrarrestan la detención del crecimiento, además la sobreexpresión de múltiples subunidades de los factores de transcripción NF- κ B, juega un papel importante en la disregulación necesaria para la progresión tumoral^{32,73}.

Muchos de los pacientes con carcinoma nasofaríngeo se presentan con una fase avanzada de la enfermedad, más de seis meses después del inicio de los síntomas, resultando en un mal pronóstico, las herramientas diagnósticas incluyen exámenes de cabeza y cuello junto con la evaluación de la función del nervio craneal. La nasosendoscopia es imprescindible para el diagnóstico, el monitoreo de la función auditiva puede contribuir a direccionar el diagnóstico dado que se ve afectada por la presión que ejerce el tumor. Una de las herramientas más ampliamente utilizadas es el examen radiológico y tanto la tomografía computarizada como la resonancia magnética son también empleadas. La radioterapia es el tratamiento primario para carcinoma nasofaríngeo en todas las etapas de la enfermedad^{74,75}.

Referencias

1. Bocian J, Januszkiewicz-Lewandowska D. Epstein-Barr virus infection - life cycle, methods of diagnosis, associated diseases. *Postepy Hig Med Dosw.* 2011; 65: 286-298.
2. Jha T, Halder AK, Adhikari N. Epstein-Barr Virus and Treatment of Its Infection; 2011.
3. Damania B, Pipas JM. DNA tumor viruses. *DNA Tumor Viruses*; Springer. 2009. doi: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68945-6>.
4. Shannon-Lowe C, Rowe M. Epstein Barr virus entry; Kissing and conjugation. *Curr Opin Virol.* 2014; 4: 78-84. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2013.12.001>.
5. Rivallier P, Cho Y-G, Wang F. Complete genomic sequence of an Epstein-Barr virus-related herpesvirus naturally infecting a new world primate: a defining point in the evolution of oncogenic lymphocryptoviruses. *J Virol.* 2002; 76(23): 12055-12068.
6. Competition L, Affects D, In I. NIH Public Access. 2008; 86(12): 3279-3288.
7. Sathiyamoorthy K, Jiang J, Hu YX, Rowe CL, Möhl BS, Chen J, et al. Assembly and Architecture of the EBV B Cell Entry Triggering Complex. *PLoS Pathog.* 2014; 10(8): e1004309. doi: 10.1371/journal.ppat.1004309.
8. Ali AS, Al-Shraim M, Al-Hakami AM, Jones IM. Epstein- Barr Virus: clinical and epidemiological revisits and genetic basis of oncogenesis. *Open Virol J.* 2015; 9: 7-28. doi: 10.2174/1874357901509010007.
9. Szabo FK, Hoffman GE. NIH Public Access. 2012; 37(1): 62-70.
10. Warner WA, Sanchez R, Dawoodian A, Li E, Momand J. NIH Public Access. 2013; 80(4): 631-637.
11. Kalla M, Schmeinck A, Bergbauer M, Pich D, Hammerschmidt W. AP-1 homolog BZLF1 of Epstein-Barr virus has two essential functions dependent on the epigenetic state of the viral genome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107(2): 850-855. doi: 10.1073/pnas.0911948107.
12. Dreyfus DH, Liu Y, Ghoda LY, Chang JT. Analysis of an ankyrin-like region in Epstein Barr Virus encoded (EBV) BZLF-1 (ZEBRA) protein: implications for interactions with NF- κ B and p53. *Virol J* 2011; 8(1): 422. doi: 10.1186/1743-422X-8-422.
13. Flower K, Thomas D, Heather J, Ramasubramanian S, Jones S, Sinclair AJ. Epigenetic control of viral Life-Cycle by a DNA-Methylation dependent transcription factor. *PLoS One.* 2011; 6(10): e25922. doi: 10.1371/journal.pone.0025922.
14. Yang YC, Chang LK. Role of TAF4 in Transcriptional Activation by Rta of Epstein-Barr Virus. *PLoS One.* 2013; 8(1). e54075. doi: 10.1371/journal.pone.0054075.
15. LaJeunesse DR, Brooks K, Adamson AL. Epstein-Barr virus immediate-early proteins BZLF1 and BRLF1 alter mitochondrial morphology during lytic replication. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 333(2): 438-442. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.05.120.

16. Milián E, Prats E, Cairó JJ, Gòdia F, Vives J. BHRF1 exerts an antiapoptotic effect and cell cycle arrest via Bcl-2 in murine hybridomas. *J Biotechnol.* 2015; 209: 58-67. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.379>.
17. Kvensakul M, Wei AH, Fletcher JI, Willis SN, Chen L, Roberts AW, et al. Structural basis for apoptosis inhibition by Epstein-Barr virus bhrf1. *PLoS Pathog.* 2010; 6(12): e1001236. doi: 10.1371/journal.ppat.1001236.
18. Aubry V, Mure F, Mariame B, Deschamps T, Wyrwicz LS, Manet E, et al. Epstein-Barr Virus late gene transcription depends on the assembly of a Virus-Specific preinitiation complex. *J Virol.* 2014; 88(21): 12825-12838. doi: <http://jvi.asm.org/cgi/doi/10.1128/JVI.02139-14>.
19. Gruffat H, Kadjouf F, Mariame B, Manet E. The Epstein-Barr Virus BcRF1 gene product is a TBP-like protein with an essential role in late gene expression. *J Virol.* 2012; 86(11): 6023-6032. doi: 10.1128/JVI.00159-12.
20. Jochum S, Moosmann A, Lang S, Hammerschmidt W, Zeidler R. The EBV immunoevasins vIL-10 and BNLF2a protect newly infected B cells from immune recognition and elimination. *PLoS Pathog.* 2012; 8(5): e1002704. doi: 10.1371/journal.ppat.1002704.
21. Gruffat H, Marchione R, Manet E. Herpesvirus late gene expression: a viral-specific pre-initiation complex is key. *Front Microbiol.* 2016; 7: 869. doi: 10.3389/fmicb.2016.00869.
22. Roy SG, Robertson ES, Saha A. Epigenetic impact on EBV associated B-cell lymphomagenesis. *Biomolecules.* 2016; 6(4): 46. doi: 10.3390/biom6040046.
23. Hazra A, Fuchs CS, Chan AT, Giovannucci EL, Hunter J. NIH Public Access. *Cancer.* 2009;19(9): 975-980.
24. Tempera I, Lieberman PM. Epigenetic regulation of EBV persistence and oncogenesis. *Semin Cancer Biol.* 2014; 26: 22-29. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.01.003>.
25. Frappier LD. EBNA1 and Epstein-Barr virus associated tumours. *EBNA1 and Epstein-Barr Virus associated tumours.* Springer; 2013. doi: 10.1007/978-1-4614-6886-8.
26. Jha HC, Pei Y, Robertson ES. Epstein-Barr Virus: diseases linked to infection and transformation. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1602. doi: 10.3389/fmicb.2016.01602.
27. Gruhne B, Sompallae R, Masucci MG. Three Epstein-Barr virus latency proteins independently promote genomic instability by inducing DNA damage, inhibiting DNA repair and inactivating cell cycle checkpoints. *Oncogene.* 2009; 28(45): 3997-4008. doi: 10.1038/onc.2009.258.
28. Gruhne B, Sompallae R, Maescotti D, Kamranvar S, Gastaldello S, Masucci M. The Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 promotes genomic instability via induction of reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(7): 2313-2318. doi: 10.1073/pnas.0810619106.
29. Fuchs KP, Bommer G, Dumont E, Christoph B, Vidal M, Kremmer E, et al. Mutational analysis of the J recombination signal sequence binding protein (RBP-J)/ Epstein ± Barr virus nuclear antigen 2 (EBNA2) and RBP-J / Notch interaction. *Eur J Biochem.* 2001; 268(17): 4639-4646.
30. Parker GA, Touitou R, Allday MJ. Epstein-Barr virus EBNA3C can disrupt multiple cell cycle checkpoints and induce nuclear division divorced from cytokinesis. *Oncogene.* 2000; 19(5): 700-709. doi: 10.1038/sj.onc.1203327.
31. Calderwood MA, Sungwook L, Holthaus AM, Blacklow SC, Kieff E, Johannsen E. Epstein-Barr Virus Nuclear Protein 3C binds to the N-terminal (NTD) and beta trefoil domains (BTD) of RBP/CSL; only the NTD interaction is essential for lymphoblastoid cell growth. *Virology.* 2012; 414(1): 19-25. doi: 10.1016/j.virol.2011.02.018.
32. Dawson CW, Port RJ, Young LS. The role of the EBV-encoded latent membrane proteins LMP1 and LMP2 in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma (NPC). *Semin Cancer Biol.* 2012; 22(2): 144-153. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2012.01.004>.
33. Sammond DW, Joce C, Takeshita R, McQuate SE, Ghosh N, Martin JM, et al. Transmembrane peptides used to investigate the homo-oligomeric interface and binding hotspot of latent membrane protein 1. *Biopolymers.* 2011; 95(11): 772-784. doi: 10.1002/bip.21672.
34. Ndour PA, Ouk TS, Brocqueville G, Mougél A, Vanhecke E, Feuillard J, et al. Inhibition of tumor necrosis factor-induced phenotypes by short intracellular versions of latent membrane protein-1. *Cell Signal.* 2010; 22(2): 303-313. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2009.09.037>.
35. Schneider F, Neugebauer J, Griesse J, Liefold N, Kutz H, Briseño C, et al. The viral oncoprotein LMP1 exploits TRADD for signaling by masking its apoptotic activity. *PLoS Biol.* 2008;6(1): e8. doi: 10.1371/journal.pbio.0060008.
36. Sun L, Zhao Y, Shi H, Ma C, Wei L. LMP-1 induces Survivin expression to inhibit cell apoptosis through the NF-κB and PI3K/Akt signaling pathways in

- nasal NK/T-cell lymphoma. *Oncol Rep.* 2015; 33(5): 2253-2260. doi: 10.3892/or.2015.3847.
37. Chen C-C, Liu H-P, Chao M, Liang Y, Tsang N-M, Huang H-Y, et al. NF- κ B-mediated transcriptional upregulation of TNFAIP2 by the Epstein-Barr virus oncoprotein, LMP1, promotes cell motility in nasopharyngeal carcinoma. *Oncogene.* 2014; 33(28): 3648-3659. doi: 10.1038/onc.2013.345.
38. Yoshimori M, Imadome KI, Komatsu H, Wang L, Saitoh Y, Yamaoka S, et al. CD137 expression is induced by Epstein-barr virus infection through LMP1 in T or NK cells and mediates survival promoting signals. *PLoS One.* 2014;9(11): e112564. doi: 10.1371/journal.pone.0112564.
39. You S, Zhang F, Meng F, Li H, Liu Q, Liang Y, et al. EBV-encoded LMP1 increases nuclear β -catenin accumulation and its transcriptional activity in nasopharyngeal carcinoma. *Tumour Biol.* 2011; 32(4): 623-630. doi: 10.1007/s13277-011-0161-x.
40. Seo SY, Kim E-O, Jang KL. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 suppresses the growth-inhibitory effect of retinoic acid by inhibiting retinoic acid receptor-beta2 expression via DNA methylation. *Cancer Lett.* 2008; 270(1): 66-76. doi: 10.1016/j.canlet.2008.04.043.
41. Lee H, Seo SY, Tiwari I, Jang KL. Epstein-Barr Virus latent membrane protein 1 overcomes all-trans retinoic acid-induced apoptosis by inhibiting retinoic acid receptor- β 2 expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 423(2): 313-318. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.05.118.
42. Yoshizaki T, Sato H, Furukawa M, Pagano JS. The expression of matrix metalloproteinase 9 is enhanced by Epstein – Barr virus latent membrane protein 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95(7): 3621-3626.
43. Wang Z, Luo F, Li L, Yang L, Hu D, Ma X, et al. STAT3 activation induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein1 causes vascular endothelial growth factor expression and cellular invasiveness via JAK3 and ERK signaling. *Eur J Cancer.* 2010; 46(16): 2996-3006. doi: 10.1016/j.ejca.2010.07.008.
44. Incrocci R, Hussain S, Stone A, Bieging K, Alt LAC, Fay MJ, et al. Epstein-Barr virus Latent Membrane Protein 2A (LMP2A)-mediated changes in Fas expression and Fas-dependent apoptosis: Role of Lyn/Syk activation. *Cell Immunol.* 2015; 297(2): 108-119. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2015.08.001.
45. Morrison JA, Klingelutz AJ, Raab Traub N. Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 2A Activates β -Catenin Signaling in Epithelial Cells. *Society.* 2003; 77(22): 12276-12284.
46. Portis T, Longnecker R. Epstein-Barr virus (EBV) LMP2A mediates B-lymphocyte survival through constitutive activation of the Ras/PI3K/Akt pathway. *Oncogene.* 2004; 23(53): 8619-8628. doi: 10.1038/sj.onc.1207905.
47. Lan YY, Wu SY, Lai HC, Chang NS, Chang FH, Tsai MH, et al. WW domain-containing oxidoreductase is involved in upregulation of matrix metalloproteinase 9 by Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 436(4): 672-676. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.06.014.
48. Iwakiri D, Takada K. Role of EBERs in the pathogenesis of EBV infection. *Adv Cancer Res.* 2010; 107(10): 119-136. doi: 10.1016/S0065-230X(10)07004-1.
49. Rostgaard K, Wohlfahrt J, Hjalgrim H. A genetic basis for infectious mononucleosis: evidence from a family study of hospitalized cases in Denmark. *Clin Infect Dis.* 2014; 58(12): 1684-1689. doi: 10.1093/cid/ciu204.
50. Chijioke O, Azzi T, Nadal D, Munz C. Innate immune responses against Epstein Barr virus infection. *J Leukoc Biol.* 2013; 94(6): 1185-1190. doi: http://www.jleukbio.org/cgi/doi/10.1189/jlb.0313173.
51. Ning S. Innate immune modulation in EBV infection. *Herpesviridae.* 2011; 2(1): 1. doi: 10.1186/2042-4280-2-1.
52. Farina A, Peruzzi G, Lacconi V, Lenna S, Quarta S, Rosato E, et al. Epstein-Barr virus lytic infection promotes activation of Toll-like receptor 8 innate immune response in systemic sclerosis monocytes. *Arthritis Res Ther.* 2017; 19(1): 39. doi: 10.1186/s13075-017-1237-9.
53. Mc Sherry J. Diagnosis of infectious mononucleosis. *J Fam Pract.* 1989; 29(6): 604.
54. Dohno S, Maeda A, Ishiura Y, Sato T, Fujieda M, Wakiguchi H. Diagnosis of infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus in infants. *Pediatr Int.* 2010; 52(4): 536-540. doi: 10.1111/j.1442-200X.2010.03087.x.
55. Hurt C, Tammara D. Diagnostic Evaluation of Mononucleosis-Like Illnesses. *Am J Med.* 2007; 120(10): 911e1-8. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.12.011.
56. Thompson S, Doerr TD, Hengerer AS. Infectious Mononucleosis and Corticosteroids. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 131(10): 900-904. doi: 10.1001/archotol.131.10.900.
57. Molyneux EM, Rochford R, Griffin B, Newton R, Jackson G, Menon G, et al. Burkitt's lymphoma. *Lancet.* 2012; 379(9822): 1234-1244.

58. Chuang SS, Ye H, Du MQ, Lu CL, Dogan A, Hsieh PP, et al. Histopathology and immunohistochemistry in distinguishing Burkitt lymphoma from diffuse large B-cell lymphoma with very high proliferation index and with or without a starry-sky pattern: a comparative study with EBER and FISH. *Am J Clin Pathol.* 2007;128(4): 558-564. doi: 10.1309/EQJR3D3V0CCQP04.
59. Ayers LW, Tumwine LK. *Burkitt's Lymphoma.* New York: Springer; 2013; 35-53. doi: <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4313-1>.
60. Orem J, Mulumba Y, Algeri S, Bellocchio R, Mangan FW, Mbidde EK, et al. Clinical characteristics, treatment and outcome of childhood Burkitt's lymphoma at the Uganda Cancer Institute. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011; 105(12): 717-726. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.08.008>.
61. Rowe M, Kelly GL, Bell AI, Rickinson AB. Burkitt's lymphoma: The Rosetta Stone deciphering Epstein-Barr virus biology. *Semin Cancer Biol.* 2009; 19(6): 377-388. doi: 10.1016/j.semcancer.2009.07.004.
62. Bornkamm GW. Epstein-Barr virus and its role in the pathogenesis of Burkitt's lymphoma: an unresolved issue. *Semin Cancer Biol.* 2009; 19(6): 377-388. doi: 10.1016/j.semcancer.2009.07.002.
63. Münz C. Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1: Figure 1. *J Exp Med.* 2004; 199(10): 1301-1304. doi: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20040730>
64. LaCasce AS. Lymphoma Series: variants of large-Cell Lymphoma Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma. *Oncologist.* 2006; 11: 488-495.
65. Sohani AR, Hasserjian RP. Diagnosis of Burkitt Lymphoma and Related High-Grade B-Cell Neoplasms. *Surg Pathol Clin.* 2010; 3(4): 1035-1059. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.path.2010.09.010>.
66. Naresh KN, Ibrahim HAH, Lazzi S, Rince P, Onorati M, Ambrosio MR, et al. Diagnosis of Burkitt lymphoma using an algorithmic approach - applicable in both resource-poor and resource-rich countries. *Br J Haematol.* 2011; 154(6): 770-776. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08771.x.
67. Dunleavy K, Little RF, Wilson WH. Update on Burkitt Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016; 30(6): 1333-1343. doi: 10.1016/j.hoc.2016.07.009.
68. Patte C, Auperin A, Gerrard M, Michon J, Pinkerton R, Spoto R, et al. Intermediate risk B-cell non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents: it is possible to reduce treatment for the early responding patients Results of the randomized international FAB / LMB96 trial for intermediate risk B-cell non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents: it is possible to reduce treatment for the early responding patients. *Blood.* 2007; 109(7): 2773-2780. DOI: 10.1182/blood-2006-07-036673.
69. Diviné M, Casassus P, Koscielny S, Bosq J, Sebban C, Le Maignan C, et al. Burkitt lymphoma in adults: a prospective study of 72 patients treated with an adapted pediatric LMB protocol. *Ann Oncol.* 2005; 16(12): 1928-1935. doi: 10.1093/annonc/mdi403.
70. Dunleavy K, Pittaluga S, Shovlin M, Steinberg SM, Cole D, Grant C, et al. Low-Intensity therapy in adults with Burkitt's Lymphoma. *N Engl J Med.* 2013; 369(20): 1915-1925. doi: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1308392>.
71. Dunleavy K, Pittaluga S, Maeda LS, Advani R, Chen CC, Hessler J, et al. Dose-Adjusted EPOCH-Rituximab therapy in primary mediastinal B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2013; 368(15): 1408-1416. doi: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1214561>.
72. Wang HY, Chang YL, To KF, Hwang JSG, Mai HQ, Feng YF, et al. A new prognostic histopathologic classification of nasopharyngeal carcinoma. *Chin J Cancer.* 2016; 35:41. doi: 10.1186/s40880-016-0103-5.
73. Hutajulu SH, Kurnianda J, Tan IB, Middeldorp JM. Therapeutic implications of Epstein-Barr virus infection for the treatment of nasopharyngeal carcinoma. *Ther Clin Risk Manag.* 2014; 10: 721-736. doi: 10.2147/TCRM.S47434.
74. Chan AT, Gregoire V, Lefebvre JL, Licitra L, Hui EP, Leung SF, et al. Nasopharyngeal cancer: EHNESMO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012; 23(suppl 7): vii83-vii85. doi: 10.1093/annonc/mds266e.
75. Glastonbury CM. Nasopharyngeal carcinoma: the role of magnetic resonance imaging in diagnosis, staging, treatment, and follow-up. *Top Magn Reson Imaging.* 2007; 18(4): 225-235. doi: 10.1097/RMR.0b013e3181572b3a.
76. Ok CY, Papathomas TG, Medeiros LJ, Young KH. Review Article EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Blood.* 2013; 122(3): 328-340. doi: 10.1182/blood-2013-03-489708.
77. Stanfield BA, Luftig MA. Recent advances in understanding Epstein-Barr virus. *F1000Research.* 2017; 6: 386. doi: 10.12688/f1000research.10591.