



Genotipos 1 y 2 del virus de Epstein-Barr en linfoma de Hodgkin pediátrico: un estudio en El Salvador

Epstein-Barr virus genotypes 1 and 2 in pediatric Hodgkin lymphoma: a study in El Salvador

Fecha de recepción:

10 de agosto 2026



<https://hdl.handle.net/20.500.14492/34119>

Fecha de aprobación:

16 de septiembre 2026

<https://doi.org/10.66778/LU.e02v07n04.04>

Carlos Alexander Ortega Pérez
El Salvador
Laboratorio de Virología y Microbiología Molecular,
Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina,
Universidad de El Salvador
carlos.ortega@ues.edu.sv
 <https://orcid.org/0000-0003-1612-8386>

Mario Alejandro Lorenzetti
Buenos Aires, Argentina
Instituto Multidisciplinario de
Investigaciones en Patologías Pediátricas
(IMIPP), CONICET-GCBA,
Laboratorio de Biología Molecular, División Patología,
Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez
lorenzetticonicet@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-9434-399X>

María Victoria Preciado
Buenos Aires, Argentina
Instituto Multidisciplinario de Investigaciones
en Patologías Pediátricas (IMIPP), CONICET-GCBA,

Laboratorio de Biología Molecular,
División Patología,
Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez
mvpreciado67@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0003-4082-0698>

Ana Catalina Blazquez
Buenos Aires, Argentina
Instituto Multidisciplinario de Investigaciones
en Patologías Pediátricas (IMIPP),
CONICET-GCBA, Laboratorio de Biología Molecular,
División Patología,
Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez
blazquez.a.catalina@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0001-8799-6821>

Noé Rigoberto Rivera
El Salvador
Departamento de Patología,
Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador
noe.rivera@ues.edu.sv
 <https://orcid.org/0000-0001-9553-0554>

Resumen

Introducción: el virus de Epstein-Barr (VEB) es aislado en múltiples neoplasias hematológicas, entre estas: el linfoma de Hodgkin (LH), EL VEB se clasifica en VEB tipo 1 y 2. Las diferencias biológicas atribuibles a los tipos 1 y 2 del VEB proporcionan la justificación para la clasificación del VEB en estos dos grandes grupos, aunque no explican completamente la diversidad natural del VEB. **Objetivo:** determinar los genotipos del VEB en biopsias parafinadas de linfoma de Hodgkin pediátrico positivas a la infección

por VEB. Materiales y métodos: se sometieron a estudio 6 biopsias parafinadas de linfoma de Hodgkin pediátrico positivas a la infección por VEB. La detección de genotipos 1 y 2 de VEB se realizó por PCR convencional utilizando cebadores específicos para regiones del gen EBNA-3C del VEB comunes a los genotipos 1 y 2. Resultados y discusión: se demostró la presencia de genotipos de VEB; una biopsia fue positiva para el genotipo VEB-2 y dos biopsias positivas para el genotipo VEB-1. Se determinó la presencia de los genotipos VEB1 y VEB2 en las biopsias analizadas mediante el estudio del gen EBNA-3C, coincidiendo con los patrones de circulación de los genotipos de VEB reportados en otras regiones de Latinoamérica. Conclusión: estos resultados reflejan la diversidad viral en el ámbito local y son relevantes porque pueden afectar el diagnóstico, el pronóstico y el manejo terapéutico de las enfermedades asociadas al VEB. Limitaciones: probablemente el parafinado presente en las biopsias interfirió con la cantidad y calidad del DNA para genotipificar el total de las biopsias estudiadas. Además, el número reducido de casos y la carencia de información clínica detallada sobre la condición inmunológica y la evolución de los pacientes dificultan la evaluación de la relación entre la infección por VEB, sus genotipos y su posible impacto clínico, patológico, terapéutico y de pronóstico de estos LH pediátricos estudiados. Perspectivas futuras: estos resultados preliminares obligan a una siguiente fase de estudio de genotipificación y análisis de genomas completos de EBV en un mayor número de casos de LH pediátrico y a la incorporación en los futuros trabajos de datos clínicos, patológicos, inmunológicos, de determinación de marcadores, datos epidemiológicos locales, entre otros, necesarios para un análisis integral a nivel local y regional.

Palabras clave: antígeno nuclear de VEB 3C (EBNA 3C), genotipos 1 y 2 de VEB (VEB 1 y VEB 2), hibridación in situ (ISH), linfoma de Hodgkin (LH), virus Epstein-Barr (VEB).

Abstract

Introduction: Epstein-Barr virus (EBV) is isolated in multiple hematological malignancies, including Hodgkin lymphoma (HL). EBV is classified into EBV types 1 and 2. The biological differences attributable to EBV types 1 and 2 provide the justification for classifying EBV into these two major groups, although they do not fully explain the natural diversity of EBV. Objective: To determine the EBV genotypes in paraffin-embedded biopsies of pediatric Hodgkin lymphoma positive for EBV infection. **Materials and methods:** Six paraffin-embedded biopsies of pediatric Hodgkin lymphoma positive for EBV infection were studied. The detection of EBV genotypes 1 and 2 was performed by conventional PCR using primers specific for regions of the EBNA-3C gene of EBV common to genotypes 1 and 2. **Results and discussion:** The presence of EBV genotypes was demonstrated; one biopsy was positive for EBV-2 genotype and two biopsies were positive for EBV-1 genotype. The presence of EBV-1 and EBV-2 genotypes was determined in the analyzed biopsies by studying the EBNA-3C gene, coinciding with the circulation patterns of EBV genotypes reported in other regions of Latin America. **Conclusion:** These results reflect viral diversity in the local area and are relevant because they may affect the diagnosis, prognosis, and therapeutic management of EBV-associated diseases. **Limitations:** The paraffin embedding in the biopsies likely interfered with the quantity and quality of DNA available for genotyping all the biopsies studied. Furthermore, the small number of cases and the lack of detailed clinical information on the patients' immunological status and clinical course hinder the assessment of the relationship between EBV infection, its genotypes, and its potential clinical, pathological, therapeutic, and prognostic impact on these pediatric Hodgkin lymphoma cases. **Future perspectives:** These preliminary results necessitate a further phase of study involving

genotyping and whole-genome analysis of EBV in a larger number of pediatric Hodgkin lymphoma cases. Future work should also incorporate clinical, pathological, immunological, and marker data, as well as local epidemiological data, among others, to provide a comprehensive analysis at the local and regional levels.

Keywords: EBV genotypes 1 and 2 (EBV 1 and EBV 2), EBV nuclear antigen 3C (EBNA 3C), Epstein-Barr virus (EBV), Hodgkin lymphoma (HL), *in situ* hybridization (ISH).

1. Introducción

El herpesvirus humano tipo 4 o virus de Epstein-Barr (VEB) fue aislado en 1964 a partir del linfoma de Burkitt (LB). Investigaciones posteriores ampliaron su espectro patológico en múltiples neoplasias hematológicas, como linfoma de Hodgkin (LH), linfomas no Hodgkin, linfomas de células T y de células T asesinas naturales. Además, se demostró su papel relevante en el desarrollo de tumores epiteliales, como carcinoma nasofaríngeo y ciertos subtipos de cáncer gástrico; el VEB también se asocia con patologías no neoplásicas, como mononucleosis infecciosa, esclerosis múltiple, la leucoplasia vellosa oral y el lupus eritematoso sistémico (Ambinder, 2014; Damania et al., 2022; Dunmire et al., 2018; Fujimori et al., 2026).

El VEB es un virus de ADN bicatenario lineal de aproximadamente 170 kpb, con partículas virales de 120–180 nm de diámetro. Su genoma se encuentra contenido en una nucleocápside icosaédrica rodeada por un tegumento proteico y una envoltura con glucoproteínas necesarias para la entrada a la célula hospedadora (Z. Li et al., 2020).

El virus se clasifica como VEB de tipo 1 y 2 basado en la presencia de polimorfismos en los genes que codifican los antígenos nucleares EBNA3A, EBNA3B y EBNA3C. La clasificación inicial se basó en las diferencias en EBNA-2 identificadas en aislados de VEB de líneas de células linfoblastoides (LCL), las diferencias biológicas atribuibles a los tipos 1 y 2 del VEB proporcionan la justificación para la clasificación del VEB en estos dos grandes grupos, sin embargo está claro que estas no explican completamente la diversidad natural del VEB (C. M. Chang et al., 2009; Arturo-Terranova et al., 2020). Basados en los polimorfismos genéticos contenidos en las proteínas EBNA (EBNA2 y EBNA-3A, -3B y -3C), se reconocen a nivel mundial los genotipos como dos cepas diferentes de VEB, tipo A (por ejemplo, B95-8, GD1 y Akata) y tipo B (por ejemplo, AG876 y P3HR), correspondientes a los VEB tipo 1 y VEB tipo 2, respectivamente. Los VEB tipo 1 y tipo 2 codifican proteínas EBNA2 diferentes, con solo un 54 % de identidad en la secuencia de aminoácidos; sin embargo, la secuenciación del genoma completo confirmó que EBNA2 y EBNA3 son los únicos genes que pueden distinguir las cepas de VEB tipo 1 y tipo 2 (Kwai Fung Hui & Tsz Fung Chan, 2018; Montes-Mojarro et al., n.d.). La diversidad entre estas cepas de EBV ha sido objeto de un análisis más detallado, permitiendo la identificación de diversas variantes implicadas en la patogenicidad viral. En particular, EBNA2 del VEB tipo 2 presenta diferencias marcadas respecto a la del VEB tipo 1 en términos de longitud y polimorfismos de nucleótidos únicos, lo que da lugar a proteínas con una capacidad reducida para transformar células B (Xie et al., 2024).

Varios estudios a nivel mundial han demostrado que cada tipo puede tener sub poblaciones o sub grupos, como ejemplo Hui, KF y colaboradores realizaron comparaciones de secuencias EBERs de

VEB aisladas de saliva de 142 portadores en Hong Kong con secuencias aisladas de muestras de 62 biopsias de cáncer nasofaríngeo demostrando en el análisis de conglomerados cinco subgrupos, VEB tipo 1 A-C y VEB tipo 2 A-B en la saliva de portadores y los tipos 1A y 1B fueron predominantes en las biopsias de cáncer nasofaríngeo (Kwai Fung Hui & Tsz Fung Chan, 2018; Teru Kanda, 2019). Lo anterior demuestra que la variabilidad genética entre los genotipos tiene implicaciones probablemente relacionadas con la actividad oncogénica del VEB.

En otros estudios, la variabilidad genética del VEB también se ha analizado con secuencias parciales del genoma viral a partir de genes individuales, como el gen de la proteína latente de membrana 1 (LMP1), presentando limitaciones, ya que el uso de secuencias parciales puede conducir a errores de clasificación. A pesar de lo anterior, el sistema de genotipado tipo 1 y tipo 2 aun es ampliamente aceptado, pero se debe tomar en cuenta la posibilidad de numerosos eventos de recombinación dentro del genoma del VEB podrían afectar su precisión y su interpretación evolutiva, esto hace necesario analizar el genoma completo del virus, considerando especialmente la recombinación, lo que podría dar paso a una nueva clasificación del VEB basada en un enfoque integral que combina el análisis de la estructura poblacional y la filogenia para mejorar la reconstrucción evolutiva viral (Zanella, Riquelme, et al., 2019). También se ha planteado que el VEB-2 podría derivar de recombinaciones que involucran los genes EBNA2 y EBNA3, ya sea entre cepas de VEB-1 y linfocriptovirus estrechamente relacionados, o mediante la selección positiva de variantes génicas específicas, lo que podría estar relacionado con procesos de recombinación (Smatti et al., 2018; Zanella, Riquelme, et al., 2019).

El VEB presenta una distribución geográfica diferenciada de sus genotipos: el tipo 1 es el más prevalente a nivel mundial, especialmente en Europa, Asia y América, mientras que el tipo 2 se detecta con mayor frecuencia en Alaska, Papúa Nueva Guinea y África Central, donde también se han descrito infecciones mixtas y variantes recombinantes intertípicas, el análisis de secuencias obtenidas de portadores sanos y de muestras tumorales muestran una elevada diversidad genética dentro de la clasificación tipo 1/tipo 2 y una clara segregación regional, particularmente de cepas asiáticas. Asimismo, estudios comparativos de genomas completos han identificado polimorfismos asociados a cepas derivadas de tumores, algunas de las cuales presentan mayor tropismo epitelial y actividad lítica, lo que sugiere un posible vínculo entre ciertas variaciones genómicas y el aumento de la patogenicidad viral, aunque su origen evolutivo aún no se ha esclarecido completamente. (Mautner, 2018; Zealiyas et al., 2023). Además, las diferencias genéticas entre ambos tipos influyen en su potencial de reactivación, lo que repercute en la presentación clínica de la enfermedad y en la variabilidad geográfica observada (Huang et al., 2023; Shannon-Lowe et al., 2017). Tanto los genotipos de VEB tipo 1 como los de tipo 2 pueden experimentar una replicación lítica espontánea de gran intensidad, este proceso, altamente complejo a nivel molecular, involucra la interacción con diversas proteínas celulares y podría contribuir a la oncogénesis mediante distintos mecanismos. (Mautner, 2018; Zealiyas et al., 2023).

La replicación lítica activa del VEB aumenta la producción viral y, con ello, el número de células infectadas con potencial transformador; sin embargo, una replicación lítica abortiva en la que se expresan parcialmente proteínas líticas tempranas con capacidad de transformación, pero sin provocar la muerte celular, también podría favorecer la oncogénesis; estudios observacionales respaldan esta relación, mostrando que niveles elevados de anticuerpos frente a proteínas líticas del VEB en sangre periférica constituyen un marcador epidemiológico sólido y un predictor del riesgo de carcinoma

nasofaríngeo. (H. Li et al., 2025). El VEB tipo 1 exhibe una elevada capacidad para transformar linfocitos B en líneas celulares linfoblastoides (LCL) inmortalizadas *in vitro*, mientras que el VEB tipo 2 muestra una preferencia más marcada por infectar células T en cultivo en lugar de células B (Huang et al., 2023).

El linfoma de Hodgkin (LH) afecta principalmente a los ganglios linfáticos, aunque puede presentarse extranodalmente, el LH se clasifica en linfoma de Hodgkin clásico (cHL), cuyas células malignas son las células Reed-Sternberg (HRS), que son linfocitos B gigantes y anormales, característicos del linfoma de Hodgkin, a menudo con dos núcleos (aspecto de ojos de búho), y el linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico nodular (NLPHL), cuya característica celular es la LP (predominio linfocítico) también llamadas células en palomitas de maíz (popcorn cells) (Aggarwal & Limaem, 2025; Vrzalikova et al., 2021).

El cHL presenta cuatro subtipos principales: celularidad mixta, esclerosis nodular, rico en linfocitos y con depleción linfocítica. Las células tumorales derivan de linfocitos B maduros con hipermutación somática, indicando su origen en células B del centro germinal o postgerminal. En alrededor de una cuarta parte de los cHL, los genes de inmunoglobulina presentan mutaciones incapacitantes que impiden la expresión funcional del BCR, cuya pérdida parece jugar un papel central en la oncogénesis. A diferencia de las células B normales, las células HRS no requieren señales del BCR para sobrevivir, lo que sugiere que la adquisición de mecanismos antiapoptóticos es un evento crítico en su transformación maligna (Vrzalikova et al., 2021).

Los linfocitos B infectados por el VEB pueden presentar infección latente, en la que el virus se mantiene como un episoma circular en el núcleo sin integrarse en el ADN del huésped, o lítica, con replicación activa y diseminación viral. Existen cuatro patrones de latencia definidos por la expresión específica de genes virales. La latencia III, la más compleja, incluye EBER1/2 y proteínas EBNA1, EBNA-LP, EBNA2, EBNA3A/B/C, LMP1 y LMP2A/B y se observa en líneas celulares linfoblastoides (LCL) y en muchos casos de PTLD. La latencia II, más restringida, expresa EBER1/2, EBNA1, LMP1 y LMP2A, y se asocia con linfoma de Hodgkin clásico. La latencia I expresa sólo EBER1/2 y EBNA1, típica del linfoma de Burkitt endémico. La latencia 0, sin expresión proteica, caracteriza a linfocitos B de memoria quiescentes en individuos sanos, excepto en linfoma plasmablastico (Bednarska et al., 2024).

El VEB desempeña un papel clave en la patogénesis del linfoma de Hodgkin clásico (cHL), actuando como un evento temprano, ya que la presencia de genomas monoclonales en células HRS indica que la infección precede a la expansión clonal. El cHL se caracteriza por alteraciones genéticas complejas en células HRS, incluyendo mutaciones que afectan vías de señalización como NF- κ B y JAK/STAT, así como en SOCS1, PTPN1, TNFAIP3 y B2M, promoviendo escape inmunitario y desregulación de citocinas. En cHL, el virus suele mostrar latencia II, expresando EBNA-1, LMP1 y LMP2, lo que favorece la tumorigénesis y genera un microambiente inmunosupresor mediante citocinas y regulación positiva de PD-L1. Esta participación viral es particularmente notable en cHL asociado al VIH, donde casi todos los casos son positivos para VEB, y la infección por VIH aumenta el riesgo de cHL entre 6 y 15 veces; la predisposición familiar y otras condiciones inmunosupresoras también contribuyen. La clasificación de la OMS 2023 resalta la importancia de evaluar el microambiente inmunitario y los patrones de latencia del VEB (I o II) para mejorar el pronóstico, guiar terapias dirigidas y entender la interacción entre alteraciones genéticas, el VEB y desregulación inmunitaria en cHL (Alibrahim & Gloghini, 2025).

2. Material y métodos

La población estudiada fue de 6 biopsias parafinadas positivas a la infección por VEB detectadas por hibridación *in situ* para EBERs de casos de linfoma de Hodgkin pediátrico.

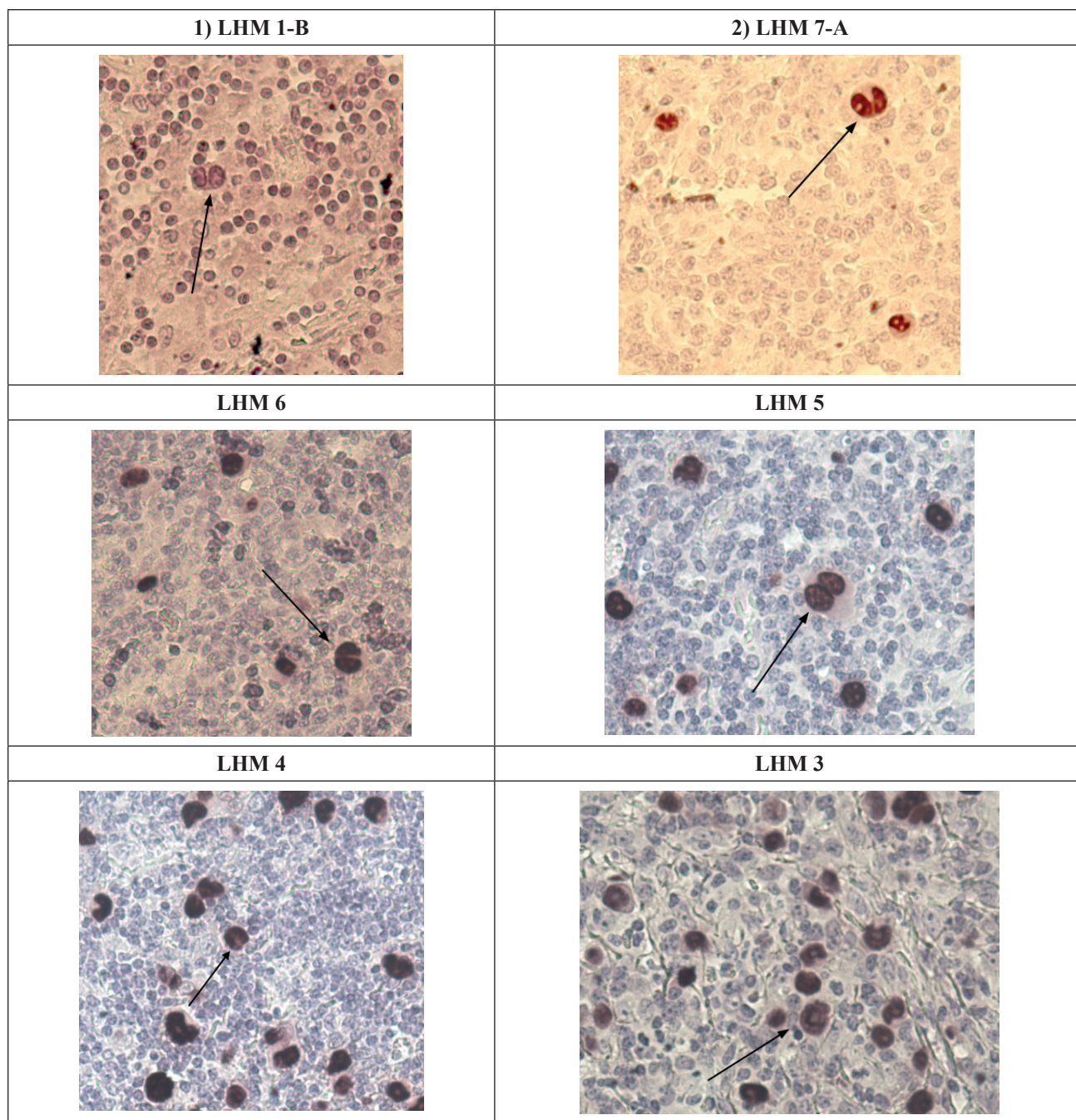
Extracción de ADN: previo a la extracción, fue necesario realizar el proceso de desparafrinación de la biopsia. En un primer ensayo se procedió al proceso de extracción del ADN utilizando el kit comercial QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante y utilizando 4 secciones de tejido de 20 µm de espesor de cada una de las biopsias positivas a EBERs; sin embargo, no se obtuvo amplificación de EBNA3C en muestras, pero sí en control positivo (ver figura 2). Lo anterior quizá se deba a que la cantidad y calidad de ADN viral recuperado no fueron las idóneas; muy probablemente por ser un tejido parafinado y, consecuentemente, por la probable poca cantidad de copias del genoma viral; de igual forma, por lo general no hay una estricta homogeneidad en un ganglio biopsiado, por lo que fue necesario un segundo ensayo en el que se utilizó el kit de extracción RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation (Invitrogen). Control de calidad del ADN extraído: se realizaron mediciones de concentración, análisis de calidad del ADN extraído por espectrofotometría. Para la detección de genotipos 1 y 2 de VEB por PCR convencional se utilizaron cebadores específicos para las secuencias de exones del gen EBNA-3C del VEB utilizados por Sample et al (Sample et al., 1990) comunes a los genotipos 1 y 2 : 5'-AGA AGG GGA GCG TGT GTT GT-3' y 5'-GGC TCG TTT TTG ACG TCG GC-3' ya que a pesar de ser comunes entre los genotipos, los sitios de cebado flanquean regiones de variación específica de tipo, de modo que los fragmentos resultantes son de diferentes tamaños: 153 pb y 246 pb para el tipo 1 y 2 respectivamente. Se empleó como control interno la amplificación por PCR de una región del gen que codifica para β-globina humana, a fin de comprobar la integridad del ADN extraído, evaluar la presencia de inhibidores de la PCR o la degradación del ADN, para ello se realizó la amplificación de un fragmento de 110 pb del gen β-globina, usando los cebadores; 5'-GAA GAG GAG CCA AGG ACA GGT AC 3' y 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'.

Para la reacción se empleó un volumen final de 20 µL, con las concentraciones finales siguientes: utilizando buffer Green GoTaq 1X, 1,5 mM MgCl, 0,3 mM dNTP's, 0,5 µM de cada cebador, 1 U de platinum Taq polimerasa y agregando 1 µL de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador eppendorf Cyclers, usando las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 95°C por 45 segundos, 55°C por 45 segundos y 72°C por 1 min; con una extensión final de 7 min a 72°C. Se utilizaron controles positivos ya estandarizados para validar la amplificación del fragmento del gen viral EBNA3C. El control positivo fue ADN de VEB tipo 1 a partir de la línea celular B95-8, siendo esta una cepa típica de VEB tipo 1 con un amplicón esperado de 153 pb. En contraparte, se espera para el genotipo 2 un amplicón de 246 pb. Como control negativo, solo agua. El producto amplificado fue visualizado en un gel de agarosa al 1.8 %. El gel se visualizó mediante un transiluminador UV.

3. Resultados y discusión

Se confirmó que las 6 biopsias fueran positivas a infección por VEB demostradas por la coloración de marrón a café de los núcleos de las células tumorales como producto final de la realización de ISH para la demostración de EBERs (ver figura 1).

Figura 1. *ISH biopsias parafinadas LH*

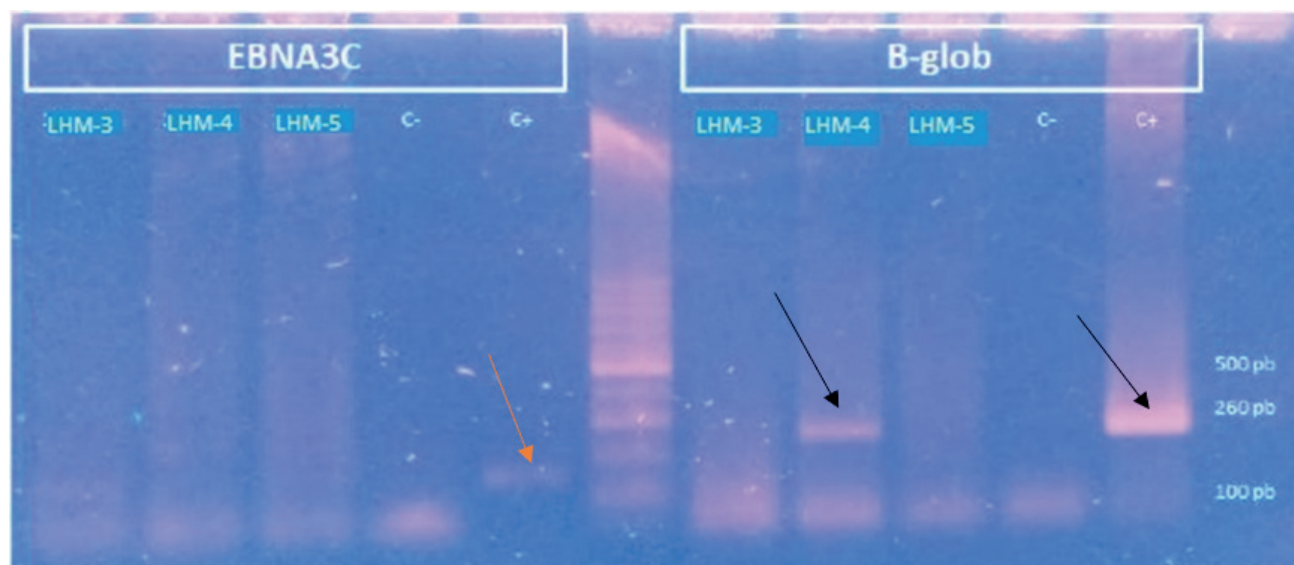


Nota. En la Figura 1: se muestran 6 LHM (para comparación, 1 negativa y 5 positivas a EBERs). LHM-1B corresponde a Linfoma Hodgkin sin infección por VEB demostrado por EBERs negativo, tanto células normales como tumorales sin color marrón en sus núcleos. LHM 3-6 y 7A corresponden a linfoma de Hodgkin con infección por VEB, demostrada por EBERs positivos en células tumorales con color marrón en sus núcleos, pero no observable en las células normales. La flecha destaca algunas células de Reed-Sternberg Hodgkin. No se muestra biopsia LHM 7-B, positiva para infección por VEB, que procede del mismo paciente muestra LHM-A. LHM (Muestras de Linfoma de Hodgkin).

Genotipificación de VEB

Como se señaló anteriormente se realizó la tipificación del virus de Epstein Barr (VEB) presente en 6 muestras de tejido de Linfoma de Hodgkin EBERs positivos, en un primer ensayo se estudiaron 3 biopsia LH positivas a EBERs (LHM3-5) partiendo de 2 secciones de tejido fijado en formol e incluido en parafina y de 10 µm de espesor. Se extrajo el ADN genómico total con el kit de extracción QIAamp DNA mini kit (Qiagen), obteniendo sólo amplificación del gen B-globina en una de las muestras y amplificación de EBNA 3C para el control positivo genotipo 1 (Figura 2).

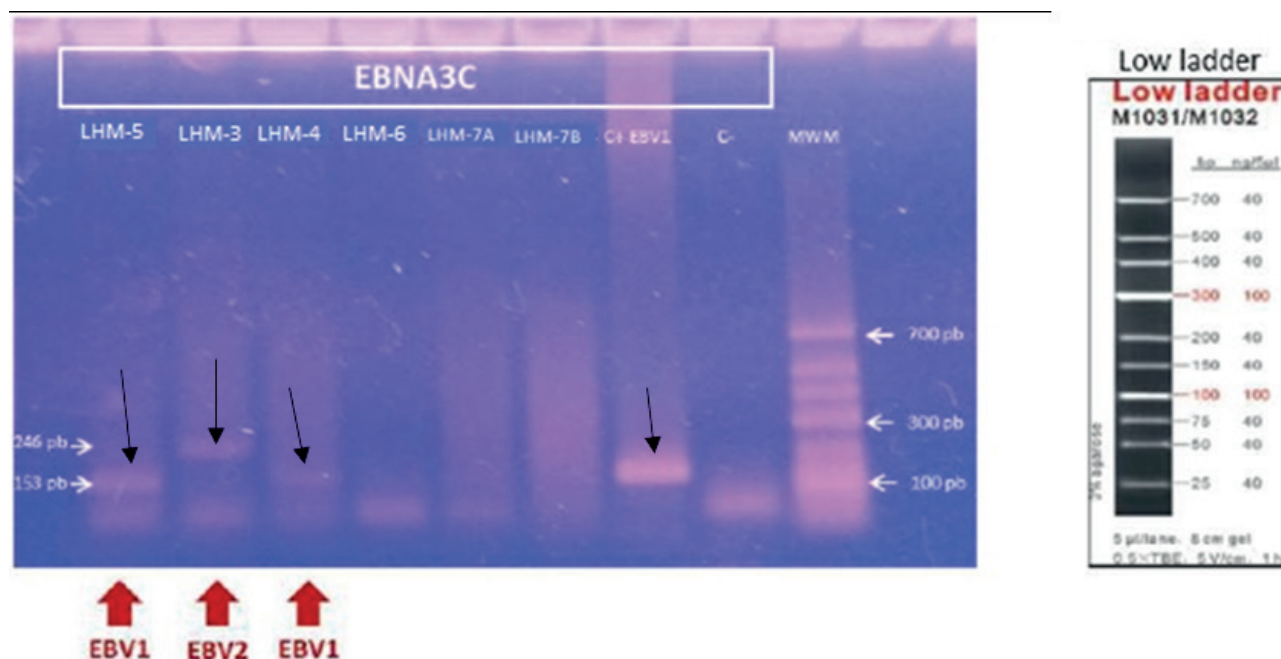
Figura 2. Primer ensayo de genotipificación de VEB



Nota. En la Figura 2: Electroforesis en gel de agarosa 1.8 % de productos amplificados por PCR para B-globina humana y EBNA3C viral del primer ensayo de genotipificación de VEB utilizando ADN genómico total extraído con kit de extracción QIAamp DNA mini kit (Qiagen), sin amplificación de EBNA3C en ninguna de las muestras de LH-EBERs positivas, la flecha naranja señala el control positivo para VEB genotipo 1 que produjo un amplicón de 153 pb, la flecha negra señala control B-globina que fue positivo solo para la muestra LHM 4, y para el control positivo de B-globina.

En el segundo ensayo de genotipificación utilizando ADN genómico total extraído con kit RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation (Invitrogen) de 6 muestras LH positivas a EBERs de 20 micras de espesor, se logró amplificación de EBNA 3C en 3 de las 6 muestras (Figura 3).

Figura 3. Segundo ensayo de genotipificación de VEB



Nota. En la Figura 3: Electroforesis en gel de agarosa 1.8 % de productos amplificados por PCR para EBNA3C. La LHM-6, LHM 7-A y LHM-7B no amplificó para EBNA3C. Muestra LHM 5 produjo un amplicón de 153 pb, correspondiente a VEB1, muestra LHM 3 produjo un amplicón de 246 pb, correspondiente a VEB 2 y, muestra LHM 4 produjo un amplicón de 153 pb correspondiente a VEB1. EL control positivo fue ADN de VEB tipo 1 a partir de línea celular B958 presentó un amplicón esperado de 153pb.

El linfoma de Hodgkin clásico (LHc) en la población pediátrica presenta una asociación significativa con la infección latente por el virus de Epstein-Barr (VEB), especialmente en regiones altamente endémicas y en países de ingresos bajos y medios. En estos contextos, la infección primaria ocurre a edades tempranas y una proporción considerable de casos muestran positividad para VEB en las células tumorales, lo que respalda su posible papel en la patogénesis de la enfermedad.(Shannon-Lowe & Rickinson, 2019; Smatti et al., 2018).

En este estudio, se evidenció expresión nuclear de los pequeños ARN codificados por el VEB (EBERs) en las células tumorales, lo que respalda la estrecha asociación entre la infección por este virus y la patogénesis del linfoma de Hodgkin clásico (LHC) en población pediátrica y en la población general. La técnica de hibridación *in situ* (ISH) permitió detectar la infección por VEB en el núcleo de las células tumorales de Hodgkin y Reed-Sternberg Hodgkin tal como se ha demostrado en otros estudios que han utilizado esta técnica para demostrar la infección viral (Begić et al., 2022; Haleem Abusalah, 2024). No obstante, es importante señalar que el significado pronóstico de la positividad para VEB en los linfomas pediátricos aún no se encuentra claramente definido. Algunos estudios sugieren que su presencia podría asociarse con una mejor respuesta inmunológica al tratamiento, mientras que otros la relacionan con una mayor agresividad clínica, particularmente en pacientes inmunocomprometidos. Estas discrepancias podrían explicarse por la influencia del estado inmunológico del huésped, el

subtipo histológico del linfoma y el genotipo específico del VEB involucrado (Mautner, 2018; Zhang et al., 2023)

La identificación molecular de los genotipos del virus de Epstein-Barr (VEB) mediante la amplificación del gen EBNA3C demostró que sigue siendo una eficaz herramienta para distinguir entre VEB1 y VEB2. En este estudio, por primera vez en El Salvador, se identificaron dos muestras (LHM-4 y LHM-5) con un amplicón de 153 pb, lo que corresponde al genotipo VEB1, y una muestra (LHM-3) con un amplicón de 246 pb, característico de VEB2, resultado que evidencia la circulación de los dos genotipos en esta población. Esto es importante ya que diversos estudios a nivel mundial han documentado una elevada prevalencia del genotipo VEB1 en regiones como América Latina, Asia y Europa, mientras que el genotipo VEB2 se identifica con mayor frecuencia en poblaciones africanas y en individuos inmunocomprometidos. No obstante, otras investigaciones han demostrado que la coinfección o coexistencia de ambos genotipos en poblaciones con características epidemiológicas similares a las nuestras no sólo es posible, sino también relativamente frecuente (Zealiyas et al., 2023; Zhang et al., 2023).

Es importante destacar que el gen EBNA3C, empleado en este estudio para la genotipificación, ha sido ampliamente utilizado en investigaciones realizadas en Europa, Asia y América del Norte y del Sur. Su uso se fundamenta en la presencia de regiones altamente polimórficas, las cuales permiten una diferenciación precisa entre los distintos genotipos del virus, favoreciendo así una adecuada discriminación de los tipos virales en estudios epidemiológicos y moleculares (Begić et al., 2022; Zanella, Riquelme, et al., 2019). Sin embargo, estas diferencias moleculares no se limitan a implicaciones taxonómicas, sino que también poseen relevancia clínica. Se ha descrito que el genotipo VEB 1 presenta una mayor capacidad transformante sobre los linfocitos B, mientras que el VEB 2, aunque exhibe menor potencial transformante, tiende a detectarse con mayor frecuencia en pacientes inmunosuprimidos, como aquellos con infección por VIH o sometidos a trasplante. (Mautner, 2018; Zealiyas et al., 2023).

Por consiguiente, la detección simultánea de ambos genotipos en el presente análisis subraya la importancia de vigilar las variaciones genéticas del virus, dado que estas podrían asociarse con diferencias en su potencial patogénico y en las características clínicas de las enfermedades vinculadas al VEB. En el contexto centroamericano, aún existe una escasez de estudios que caractericen los genotipos del VEB en poblaciones locales, a pesar de la alta carga de enfermedades oncológicas asociadas al virus, como el linfoma de Hodgkin y otros linfomas no Hodgkin. Asimismo, como se señaló previamente, la agrupación de VEB en genotipos 1 y 2 y su utilidad se ven fuertemente influenciadas por la ocurrencia de múltiples eventos de recombinación dentro del genoma del VEB, lo que podría influir en la precisión de los análisis y en la interpretación de su evolución. Esto resalta la necesidad de estudiar el genoma completo del virus, prestando especial atención a los eventos de recombinación, lo que podría permitir obtener datos basados en un enfoque integral que combine el análisis de ambos genotipos, la estructura poblacional y la filogenia, mejorando así la reconstrucción evolutiva del virus en regiones como Centroamérica y Caribe. Esta limitación representa una oportunidad para futuras investigaciones que permitan establecer perfiles moleculares regionales del VEB, analizar su asociación con factores clínicos e inmunológicos y contribuir a una mejor comprensión de su papel en la etiopatogenia de las enfermedades con las que se asocia.

4. Conclusión

Se determinó la presencia de los genotipos VEB1 y VEB2 en las biopsias analizadas mediante el estudio del gen EBNA-3C, coincidiendo con los patrones de circulación de los genotipos de VEB reportados en otras regiones de Latinoamérica. Estos resultados reflejan la presencia de diversidad viral en el ámbito local y son relevantes por sus posibles repercusiones en el diagnóstico, pronóstico y manejo terapéutico de las enfermedades asociadas al VEB. Además, la identificación de la circulación simultánea de ambos genotipos proporciona una base para investigar de manera más profunda la variabilidad genética del virus en la población local y su relación potencial con la presentación clínica y patológica, utilizando herramientas como secuenciación de genoma completo, análisis filogenético y otras.

Limitaciones del estudio

Probablemente el parafinado presente en las biopsias interfirió con la obtención de DNA viral adecuado para genotipificar el total de las 6 biopsias estudiadas. Además, el número reducido de casos y la carencia de información clínica detallada sobre la condición inmunológica y la evolución de los pacientes dificultan la evaluación de la relación entre la infección por VEB, sus genotipos y su posible impacto clínico, patológico, terapéutico y pronóstico en los LH pediátricos. Esto obliga a una siguiente fase de estudio no sólo de detección de genotipos sino también de genomas completos de VEB en un mayor número de casos de LH y a la incorporación de datos clínicos, patológicos, inmunológicos, determinación de marcadores, datos epidemiológicos locales en los futuros trabajos para un análisis integral a nivel local y regional.

Declaración de ética

La investigación con las biopsias parafinadas de LH infantil fue aprobada por el Comité de Ética del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, El Salvador. De igual forma, el proyecto de investigación fue aprobado para su ejecución por la Universidad de El Salvador.

Expresiones de gratitud

A la unidad de patología y unidad de cáncer del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, El Salvador. Al Laboratorio de Virología y Microbiología Molecular del Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, El Salvador. Al Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP), CONICET-GCBA, Laboratorio de Biología Molecular, División Patología-Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, de la ciudad de Buenos Aires, Argentina por el apoyo en el entrenamiento, procesamiento y análisis de resultados. Especial agradecimiento a la Red Iberoamericana de Linfomas-RIALCYTED por la gestión para el entrenamiento en diagnóstico molecular de VEB en linfomas.

Agradecimiento al revisor

La Revista «La Universidad» agradece al revisor por su evaluación y sugerencias en este artículo:

Dr. José Jairo García

Especialista en Gineco-Obstetricia. Posgrado de investigación en USP. Asesor y tutor de investigaciones, trabajos de grado y posgrados disponible en el repositorio de la UNAN-León, Nicaragua. Profesor titular en retiro de la Facultad de Ciencias Médicas, UNAN – León, Nicaragua.

jairojosegarcia@outlook.com

Sus aportes fueron fundamentales para mejorar la calidad y rigor de esta investigación.

5. Referencias bibliográficas

- Aggarwal, P., & Limaïem, F. (2025). *Células de Reed-Sternberg Introducción*. 6–13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542333/>
- Alibrahim, M. N., & Gloghini, A. (2025). *Immune Deficiency / Dysregulation-Associated EBV-Positive Classic Hodgkin Lymphoma*.
- Ambinder, K. and. (2014). EBV Related Lymphomas: New Approaches to Treatment. *Curr Treat Options Oncol*. 2013 June ; 14(2): 224–236, 14(2), 224–236. <https://doi.org/10.1007/s11864-013-0231-y>.EBV
- Arturo-Terranova, D., Giraldo-Ocampo, S., & Castillo, A. (2020). Caracterización molecular de las variantes del virus de Epstein-Barr detectadas en la cavidad oral de adolescentes de Cali, Colombia. *Biomédica*, 40(Supl. 1), 76–88. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4917>
- Bednarska, K., Chowdhury, R., Tobin, J. W. D., Swain, F., Keane, C., Boyle, S., Khanna, R., & Gandhi, M. K. (2024). *Epstein – Barr virus- associated lymphomas decoded*. July 2023, 415–433. <https://doi.org/10.1111/bjh.19255>
- Begić, V., Korać, P., Gašparov, S., Rozman, M., Simicic, P., & Zidovec-Lepej, S. (2022). Molecular Characterisation of Epstein–Barr Virus in Classical Hodgkin Lymphoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24). <https://doi.org/10.3390/ijms232415635>
- Chang, C. M., Yu, K. J., Mbulaiteye, S. M., Hildesheim, A., & Bhatia, K. (2009). The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: A need for reappraisal. *Virus Research*, 143(2), 209–221. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.07.005>
- Damania, B., Kenney, S. C., & Raab-traub, N. (2022). Il Epstein-Barr virus : Biology and clinical disease. *Cell*, 185(20), 3652–3670. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.08.026>
- Dunmire, S. K., Verghese, P. S., & Jr, H. H. B. (2018). Primary Epstein-Barr virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 102(March), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2018.03.001>

- Fujimori, D., Hayashi, H., Tahara, K., Shoda, H., & Sawada, T. (2026). *Successful Reintroduction of Golimumab in a Patient With Rheumatoid Arthritis and Prolonged Epstein-Barr Virus Reactivation With Persistent Anti-Viral Capsid Antigen IgM Antibodies : A Case Report*. 18(1), 1–9. <https://doi.org/10.7759/cureus.100683>
- Haleem Abusalah, et al. (2024). Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein–Barr Virus. *Journal Pathogens*, 10(10), 1–17. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pathogens9030226>
- Huang, W., Bai, L., & Tang, H. (2023). Epstein-Barr virus infection: the micro and macro worlds. *Virology Journal*, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02187-9>
- Kwai Fung Hui & Tsz Fung Chan, et. al. (2018). High risk Epstein-Barr virus variants characterized by distinct polymorphisms in the EBER locus are strongly associated with nasopharyngeal carcinoma Short. *International Journal of Cancer-Infectious Causes of Cancer*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ijc.32049>
- Li, H., Lee, C. Y., & Delecluse, H. J. (2025). Epstein–Barr virus lytic replication and cancer. *Current Opinion in Virology*, 70, 101438. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2024.101438>
- Li, Z., Zhang, X., Dong, L., Pang, J., Xu, M., Zhong, Q., Zeng, M. S., & Yu, X. (2020). CryoEM structure of the tegumented capsid of Epstein-Barr virus. *Cell Research*, 30(10), 873–884. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0363-0>
- Mautner, J. (2018). Clinical implications of Epstein-Barr virus strain diversity. *Journal of Immunological Sciences*, 2(3), 51–55. <https://doi.org/10.29245/2578-3009/2018/3.1145>
- Montes-mojarro, I. A., Fend, F., & Quintanilla-martinez, L. (n.d.). *EBV and the Pathogenesis of NK / T Cell Lymphoma*.
- Sample, J., Young, L., Martin, B., Chatman, T., Kieff, E., Rickinson, A., & Kieff, E. (1990). Epstein-Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA-3B, and EBNA-3C genes. *Journal of Virology*, 64(9), 4084–4092. <https://doi.org/10.1128/jvi.64.9.4084-4092.1990>
- Shannon-Lowe, C., & Rickinson, A. (2019). The Global Landscape of EBV-Associated Tumors. *Frontiers in Oncology*, 9(August), 1–23. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00713>
- Shannon-Lowe, C., Rickinson, A. B., & Bell, A. I. (2017). Epstein-barr virus-associated lymphomas. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1732). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0271>
- Smatti, M. K., Al-Sadeq, D. W., Ali, N. H., Pintus, G., Abou-Saleh, H., & Nasrallah, G. K. (2018). Epstein-barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: An update. *Frontiers in Oncology*, 8(JUN). <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00211>

- Teru Kanda. (2019). Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Science, January*, 1132–1139. <https://doi.org/10.1111/cas.13954>
- Vrzalikova, K., Pugh, M., Mundo, L., & Murray, P. (2021). *The contribution of ebv to the pathogenesis of classical hodgkin lymphoma*. 0–2. <https://doi.org/10.21037/aol-21-8>
- Xie, R., Cao, B., Wu, Z., Ouyang, Y., Chen, H., Zhai, W., Liu, Z., Xu, M., & Guo, G. (2024). *dbEBV : A database of Epstein-Barr virus variants and their correlations with human health*. 23(December 2023), 2076–2082. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2024.04.043>
- Zanella, L., Riquelm, I., Buchegger, K., Abanto, M., Ili, C., & Brebi, P. (2019). A reliable Epstein-Barr Virus classification based on phylogenomic and population analyses. *Scientific Reports, October 2018*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45986-3>
- Zealiyas, K., Teshome, S., Haile, A. F., Weigel, C., Alemu, A., Amogne, W., Yimer, G., Abebe, T., Berhe, N., Ahmed, E. H., & Baiocchi, R. A. (2023). Genotype characterization of Epstein–Barr virus among adults living with human immunodeficiency virus in Ethiopia. *Frontiers in Microbiology, 14*(October). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1270824>
- Zhang, Y., Lyu, H., Guo, R., Cao, X., Feng, J., Jin, X., Lu, W., & Zhao, M. (2023). Epstein-Barr virus-associated cellular immunotherapy. *Cytotherapy, 25*(9), 903–912. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2023.04.003>