



Búsqueda del ADN del virus HTLV-1 en biopsias de pacientes con linfoma cutáneo de células T

 19 min.



Los linfomas cutáneos de células T (LCCT) corresponden a un grupo clínico e histológicamente heterogéneo de neoplasias cutáneas originadas a partir de linfocitos T. Existe evidencia que sugiere que los pacientes con LCCT albergan tanto en los linfocitos circulantes como en los radicados en la piel, la secuencia tax del virus HTLV-1.

En el siguiente trabajo determinaron la presencia del ADN del virus HTLV-1 en biopsias de piel de pacientes con LCCT. La detección de HTLV-1 puede dar información para el diagnóstico diferencial histológico de los infiltrados linfoides de estirpe T y ayudar en su categorización y seguimiento.



Juana Benedetto E.¹,
Montserrat Molgó N.¹,

Sergio González B.²

¹ Departamento Dermatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

² Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Fuente de financiamiento: grant de la liga internacional de sociedades de dermatología, la cual no tuvo influencia en el diseño del estudio, ni en el análisis ni interpretación de los datos.

Miura

Autoanalizadores para Química Clínica



Miura One



Miura 200



Miura 500



I.S.E. S.R.L. es una empresa italiana con 30 años de experiencia en investigación y desarrollo en la producción de instrumental de laboratorio. Autoanalizadores para química clínica e inmunoturbidimetría en sus modelos Miura One, Miura 200 y Miura 500. Con lector de código de barras y posibilidad de incorporar módulo Ion Selectivo. Conexión a sistema de gestión. [Consulte por Planes de Comodato](#)

Sucursal Buenos Aires
Aráoz 86 | C1414DPB | C.A.B.A. | Argentina
Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876 | Fax: 54-11 4856-5652
bga@bganalizadores.com.ar - www.bganalizadores.com.ar

Sucursal Neuquén
Santa Cruz 1629 | CP 8300
Neuquén | Argentina | Tel.: 0299-4471385
bganqn@bganalizadores.com.ar



BG Analizadores
Soluciones Personalizadas

Rev Med Chile 2014; 142: 314-322
 Recibido el 22 de julio de 2013, aceptado el 10 de marzo de 2014



Correspondencia a:

Dra. Juana Benedetto E. Dirección: Servicio de Dermatología.

Clínica Alemana de Santiago, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

E-mail: juanita.benedetto@gmail.com



Los linfomas cutáneos de células T (LCCT) corresponden a un grupo clínica e histológicamente heterogéneo de neoplasias cutáneas originadas a partir de linfocitos T (1).

Según la clasificación europea (EORTC) los LCCT se agrupan, según su conducta clínica, en formas indolentes, agresivas y entidades provisionarias. Dentro del primer grupo están micosis fungoide (MF) y sus variantes, linfoma de células grandes CD30 (+) y papulosis linfomatoide (PL). Entre las formas agresivas se encuentra el síndrome de Sézary (SS) y el linfoma de células grandes CD30 (-). Las entidades provisionarias corresponden al linfoma T pleomórfico de células pequeñas y al linfoma T paniculítico (2).

Los LCCT presentan etiología diversa, dentro de las cuales se encuentra el virus HTLV-1, el cual es retrovirus patogénico humano, principalmente linfotrópico que infecta linfocitos T CD4 (+), células dendríticas sanguíneas y del epitelio sinovial.

Dentro de las enfermedades asociadas a infección por HTLV-1 se encuentran: leucemia-linfoma de células T del adulto (ATCL), LCCT, mielopatía asociada a HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) y dermatitis infectiva (DI).

En los LCCT, la asociación es motivo de activa búsqueda e investigación. En Estados Unidos de Norteamérica y Europa se ha encontrado una presencia variable del virus (1-12%) mediante la técnica de reacción polimerasa en cadena (PCR) *in situ*

(3). En Alemania se ha encontrado virus en linfomas cutáneos T de células grandes CD30 (+) (4) en tejido fresco por Southern Blot y PCR. En Japón, se encontró presencia de HTLV-1 en MF y SS por técnica de hibridación *in situ* en tejido fijado en formalina (5). También se ha aislado ADN viral en tejido tumoral, líneas celulares de pacientes con MF y en sangre periférica de familiares de pacientes con MF (6,7). Otros investigadores no han detectado ADN de HTLV-1 en LCCT (4,8-10).

Existe evidencia que sugiere que los pacientes con LCCT albergan tanto en los linfocitos circulantes como en los radicados en la piel, la secuencia tax del virus HTLV-1, lo cual ocurre también en sus parientes sanos y en donantes sanos (11).

El virus HTLV-1 ha sido ampliamente detectado en sangre, tejido fresco y tejido fijado en formalina (4,5,7,8,12).

En sangre, la pesquisa para HTLV-1 se realiza por método de ELISA. Las técnicas confirmatorias consisten en el método de Western Blot y PCR para detectar material genético del virus. Se han usado partidores que detectan en tejido distintos genes de la estructura genómica de HTLV-1, como: gen pX (5), gen env (5), gen pol (4) y gen tax (9,13).

También se puede detectar el virus en el tejido por el método de hibridación *in situ*.

La evaluación de la presencia de HTLV-1 en los infiltrados linfoides de estirpe T, nos permite contar con una variable importante, necesaria y recomendada internacionalmente para realizar un acabado estudio de estos linfomas (10).

La detección de HTLV-1 puede dar información sobre una relación causal o al menos facilitadora del virus en el desarrollo de LCCT, así como también para el diagnóstico diferencial histológico de los infiltrados linfoides de estirpe T.

Chile es una zona no endémica para HTLV-1, de baja prevalencia, donde no existen datos de la incidencia del virus en tejido tumoral de pacientes con LCCT.

El propósito del presente trabajo es determinar la presencia del ADN del virus HTLV-1 en biopsias de piel de pacientes con LCCT y comparar esos resultados con la presencia del ADN de HTLV-1 en biopsias de pacientes con ATCL y con biopsias de controles sanos no portadores del virus.

Materiales y Métodos

Selección de los casos:

Se seleccionaron 25 casos de pacientes con LCCT pertenecientes al departamento de Dermatología y Anatomía Patológica de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Los pacientes incluidos fueron objeto de una revisión completa de sus antecedentes clínicos e iconográficos para realizar adecuada clasificación clínica.

La histología y la inmunohistoquímica de los pacientes seleccionados fueron nuevamente revisados por dermatólogo y dermatopatólogo especialista en linfoma, con lo cual se pudo clasificar según la EORTC.

Los casos incluidos fueron: 16 MF, 1 LCT con mucinosis folicular, 1 reticulosis pagetoide, 2 papulosis linfomatoide, 4 LCT de células grandes, 1 LT *paniculitis-like*.

Para los controles negativos se eligieron 4 casos de dermatitis perivasculares superficiales. Los pacientes controles no dispusieron de estudio en suero para HTLV-1. Fueron elegidos por ser infiltrados linfoides parecidos a los linfomas T pero con alta probabilidad de ser HTLV-1 negativos (igual que la población general).

Como controles positivos fueron seleccionados 5 casos de leucemia linfoma T del adulto (ATCL). El diagnóstico histológico fue confirmado por el patólogo experto; los pacientes disponían de estudio en suero para HTLV-1 positivo (ELISA y PCR).

Extracción del ADN

Las muestras se obtuvieron a partir de las preparaciones teñidas con hematoxilina eosina mediante microdissección con lupa. Se ubicó la zona del infiltrado linfocitario sospechoso y bajo

visión microscópica se procedió a micro-disecar el tejido. Las muestras se sometieron a centrifugación a 14.000 rpm por 10 min.

El ADN se extrajo por medio de una solución de extracción con proteinasa K, Tris 1M, Tween 20 y agua. Luego se incubaron a 37°C por 48 h. Posteriormente se calentaron a 100°C por 10 min para inactivar la proteinasa K. Posteriormente fueron mantenidas a -20° C hasta su amplificación.

En casos en que hubo duda sobre la calidad de ADN extraído o de la presencia de inhibidores de amplificación, se procedió a purificar el ADN con el método de sílica (QiaGEN).

PCR y electroforesis en gel de agarosa

PCR B-Globina

Para el estudio de calidad de ADN y presencia de inhibidores se utilizaron partidores para el gen humano de B-globina de 268 pb. (P-A + P-S) y de 110 pb (P-110 + P-S).

P-A (partidor antisentido 268bp): GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC

P-110 (partidor antisentido 110bp): ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC

P-S (partidor sentido 268bp-110bp): CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC

Las muestras se amplificaron para B-globina de 268 bp o 110 pb. En aquellas que resultaron negativas se purificó el ADN pasando la muestra por columna QiaGEN y

luego se repitió la PCR.

PCR para HTLV-1

Para el estudio de búsqueda de HTLV-1 se utilizaron partidores para el gen Tax publicados por Vandamme y col. (14). Estos son utilizados rutinariamente por el Laboratorio de Biología Molecular de la PUC para buscar HTLV-1 en suero de pacientes afectados.

Se realizó un PCR anidado (*Nested PCR*) que utiliza dos conjuntos de partidores llamados "externos" e "internos". La secuencia de ADN blanco de los partidores internos se encuentra dentro de la secuencia blanco de los partidores externos.

La muestra de tejido cutáneo se hizo correr primero con los partidores externos AV42 y AV43 (218 pb) y la segunda reacción (que utilizó como ADN blanco el producto de la primera reacción) se hizo correr con los partidores internos AV49 y AV80 (109 pb) (14).

AV42 (sentido): CTC CCC TCC TTC CCC AC

AV43 (antisentido): CCA (G/C)(A/G)(G/T) GGT GTA IAI GTT TTG G

AV49 (sentido): CCC TCC TTC CTC CAG GCC AT

AV80 (antisentido): GGT CTG GAA AAG ACA GGG TTG

Este procedimiento aumenta la sensibilidad del ensayo, reamplificando el producto de la primera reacción en la segunda reacción, y también la especificidad

porque los partidores internos amplifican sólo si de la primera reacción se obtuvo un producto específico.

Se utilizaron controles negativos de tejido, y de agua (para controlar posible contaminación) y luego muestras previamente negativas, al menos uno por corrida de PCR.

Se utilizaron controles positivos para evaluar la eficiencia de la reacción usando muestras de sangre (previamente positivas) diluidas y posteriormente muestras de tejido previamente positivas de pacientes con leucemia linfoma T, al menos una por corrida de PCR.

Para el análisis de los resultados para B-globina y para HTLV-1, las muestras se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 2%, posteriormente se tiñeron con bromuro de etidio 0,05 ug/ ml, y el gel fue examinado bajo luz ultravioleta de longitud de onda 302 nm, para visualizar los productos de PCR.

Enseguida las bandas fueron fotografiadas con cámara digital (modelo Olympus) y también algunos geles fueron fotografiados con cámara instantánea marca Polaroid.

Las fotografías de los geles fueron interpretadas por los autores y por un bioquímico experto en Biología Molecular.

Para la lectura de las líneas de gel, se consideró positiva para B-globina una banda en el tamaño de 268 bp y 110 bp respectivamente.

MEG@NALIZAR

Tecnología y Calidad al servicio de la Salud

- El Megalaboratorio Institucional más completo de Cuyo
- Alta tecnología y bajos costos
- Participación constante en programas de control de calidad Externo

- Endocrinología
- Marcadores Tumorales
- Hematología
- Hemostasia
- Química Clínica
- Inmunoserología
- Virología
- Inmunología



Para el producto de amplificación de HTLV-1 se consideró positiva una banda a la altura de 109 bp en la segunda reacción de PCR.

Resultados

Características de la muestra en estudio

En la Tabla 1 se puede observar las características de los casos estudiados y sus diagnósticos. Trece correspondieron al sexo femenino (52%) y doce a sexo masculino (48%). El promedio de edad fue de 49,8 años.

El promedio de edad para los controles positivos fue de 45 años, todos fueron de sexo femenino. El promedio de edad para los controles negativos fue de 34 años (Tabla 2).

Validación de la técnica de detección de HTLV-1

Se estudió la calidad del ADN para los controles negativos y en todos ellos los resultados muestran positividad para B-globina de 110bp (Figura 1).

Para los casos de ACTL (controles positivos) 4 de 6 los resultados muestran positividad para B-globina. El PCR anidado para HTLV-1 (Figuras 2 y 3), también muestra positividad.

Cabe señalar que aquellos dos casos en que resultó negativa la PCR para HTLV-1 (C4 y C6) también lo fueron para B-globina, por tanto ello sugiere que las muestras son probablemente inhibidas sin ADN susceptible de ser analizado.



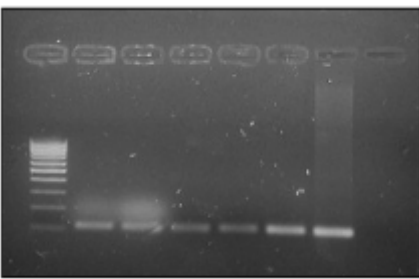
Tabla 1. Características de los casos estudiados y sus diagnósticos clínicos

Paciente	Sexo	Edad	Diagnóstico
T1	M	78	Linfoma T células grandes CD30 (-)
T2	M	78	Micosis fungoide
T3	M		Micosis fungoide
T4	F	19	Micosis fungoide
T5	F	58	Linfoma T células grandes
T6	F	45	Reticulosis pagetoide
T7	F	73	Linfoma T células grandes
T8	F	25	Mucinosis folicular
T9	M	79	Micosis fungoide
T10	F	3	Linfoma T células grandes

T11	F	23	Linfoma T paniculítico
T12	F		Micosis fungoide
T13	F	25	Micosis fungoide
T14	F	20	Micosis fungoide
T15	M	56	Micosis fungoide
T16	M	73	Micosis fungoide
T17	M	64	Micosis fungoide
T18	M	77	Micosis fungoide
T19	M	50	Micosis fungoide
T20	F	30	Micosis fungoide
T21	M	64	Micosis fungoide
T22	M	70	Micosis fungoide
T23	M	33	Micosis fungoide
T24	F	68	Papulosis linfomatoide
T25	F	35	Papulosis linfomatoide



Figura 1. BG 110 para controles negativos: se aprecia que todos los controles negativos (N1, N2, N3 y N4) resultaron positivos para Bg 110 bp. Carril 1 Marcador de peso molecular (100 bp), carril 2 muestra N2, carril 3 muestra N1, carril 4 muestra N4, carril 5 muestra N3, carril 6 control positivo en sangre (diluido 1: 30), carril 7 control (+) en suero directo, carril 8 control (-) (agua).



Detección de HTLV-1 en los casos seleccionados

En la Tabla 3 se observa que del total de 25 casos estudiados, 3 muestran positividad para HTLV-1, (12%). Estos fueron: linfoma de células grandes CD30 (-) (caso T1), MF etapa placas (caso T2) y papulosis linfomatoide (caso T24).



Tabla 2.

Controles positivos	Sexo	Edad	Diagnóstico
C1	F	38	Leucemia linfoma T del adulto
C2	F	48	Leucemia linfoma T del adulto
C3	F	47	Leucemia linfoma T del adulto
C4	F	47	Leucemia linfoma T del adulto
C5	F	52	Leucemia linfoma T del adulto
C6	F	38	Leucemia linfoma T del adulto
Controles negativos	Sexo	Edad	Diagnóstico
N1	F	39	Dermatitis perivascular superficial espongiótica
N2	M	45	Dermatitis perivascular superficial espongiótica
N3	F	12	Dermatitis perivascular superficial espongiótica
N4	F	40	Dermatitis perivascular superficial espongiótica

En el caso T1 el paciente de sexo masculino tenía demostrado HTLV-1 en sangre por Elisa y PCR. Se trató de un linfoma T CD30 (-) agresivo que presentó lesiones secundarias retroperitoneales un año después del diagnóstico (Figuras 4 y 5).



Figura 2. B globina 268 para controles positivos: se aprecia que todos los casos menos c4 y c6 dieron positivo para BG 268. Carril 1: Marcador de peso molecular (100 bp), carril 2: control positivo en suero, carril 3: caso C4, carril 4: caso C3, carril 5: caso C1, carril 6: caso C6, carril 7: caso C5, carril 8: caso C7, carril 9: marcador de peso molecular, carril 10: control positivo en suero, carril 11: control negativo.

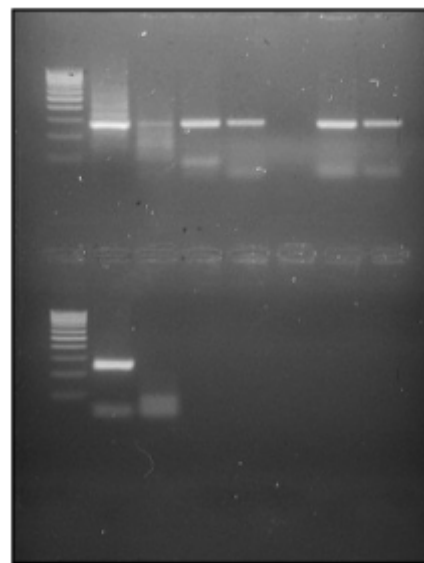


Figura 3. HTLV-1 para controles positivos

La más amplia gama de Analizadores de Electrolitos



- Expandibles hasta 5 electrolitos simultáneos en cualquier combinación



- Lector de código de barras y teclado externo (opcionales)
- Conexión al LIS
- Software de control de calidad incorporado
- El menor costo operativo del mercado

Diestro® 103/103+/103A/103A+



Diseñados y producidos
en Argentina

Comercializados
en todo el mundo



Desde equipos
semiautomáticos
para pocas muestras
diarias, hasta
automáticos de alta
gama y prestación
para una gran
carga de trabajo



DIESTRO 103 AP



(banda a 109 pb): se aprecia que todos los casos menos C4 y C6 dieron positivos para la secuencia tax de HTLV-1. carril 1: Marcador de peso molecular (100 bp), carril 2: caso C1, carril 3: caso C6, carril 4 caso C2, carril 5: caso C3, carril 6 : caso C5, carril 7: caso C4, carril 8: control positivo en suero 1/ 10, carril 9: marcador de peso molecular, carril 10: control negativo agua, carril 11: control positivo 1/10.000.

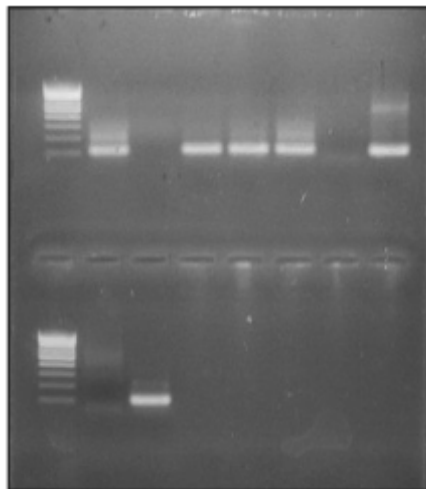


Figura 4. Foto clínica e histológica de caso T1. (A) Se aprecia masa tumoral de color rojo vinoso, bordes solevantados y centro ulcerado en antebrazo izquierdo. (B) infiltración dérmica tumoral infiltración dérmica por tumor de células grandes CD30 (-), con marcado pleomorfismo celular, atipias y mitosis. (C) El infiltrado expresa el marcador Cd25.



Tabla 3. Estudio de búsqueda de HTLV-1 en biopsias de Linfoma cutáneo de células T

Paciente	Diagnóstico	85/110	86/288	HTLV-1
C1	Linfoma linfoc T del adulto	SI	SI	SI
C2	Linfoma linfoc T del adulto	SI	SI	SI
C3	Linfoma linfoc T del adulto	SI	SI	SI
C4	Linfoma linfoc T del adulto	SI	SI	SI
C5	Linfoma linfoc T del adulto	SI	SI	SI
C6	Linfoma linfoc T del adulto	SI	SI	SI
M1	Dermatitosis periancular superficial hipertrófica	SI	SI	SI
M2	Dermatitosis periancular superficial hipertrófica	SI	SI	SI
M3	Dermatitosis periancular superficial hipertrófica	SI	SI	SI
M4	Dermatitosis periancular superficial hipertrófica	SI	SI	SI
T1	Linfoma T células grandes CD30 (-)	SI	SI	SI
T2	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T3	Micosis fungoide fase dermatomatoso	SI	SI	SI
T4	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T5	Linfoma T células grandes	SI	SI	SI
T6	Linfoma T células grandes	SI	SI	SI
T7	Linfoma T células grandes	SI	SI	SI
T8	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T9	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T10	Linfoma T células grandes	SI	SI	SI
T11	Linfoma T peritumoral	SI	SI	SI
T12	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T13	Micosis fungoide	SI	SI	SI

T14	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T15	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T16	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T17	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T18	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T19	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T20	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T21	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T22	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T23	Micosis fungoide	SI	SI	SI
T24	Papulosis linfomatosa	SI	SI	SI
T25	Papulosis linfomatosa	SI	SI	SI

El caso T2 (MF) fue un paciente de 78 años que al ser revisado retrospectivamente no recibió tratamiento ni se estudió la presencia de HTLV-1 en sangre (Figura 6).

El caso T24 es un paciente de sexo femenino de 68 años con papulosis linfomatoide que se trató exitosamente con puvaterapia y presenta brotes ocasionales de lesiones (Figura 7).

En 22 casos de linfoma cutáneo los resultados de la técnica muestran negatividad para HTLV 1. En 11 de estos casos de linfoma se demostró calidad de ADN por B-globina 268 y en 14 de ellos por B-globina 110. De modo que todos los casos tuvieron ADN susceptible de analizar. En la Tabla 3 se demuestra un análisis de calidad de ADN para algunos casos.



Figura 5. Positividad de LT CD30 (-) para HTLV-1 (caso T1), banda a 110 pb. Se aprecia en el carril 2 y 3 que dos muestras de T1 resultaron positivas para HTLV-1. El resto de los casos resultó negativo. Carril 1: marcador de peso molecular, carril 2: control negativo en tejido (N1), carril 3: caso T1 (muestra a), carril 4: caso T1 (muestra b), carril 5: caso T9, carril 6: caso T4, carril 7: caso T3, carril 8: caso T9, carril 9: caso T5, carril10: caso T6, carril 11: caso T7, carril 12: caso T8, carril 13: control positivo en tejido (C2).

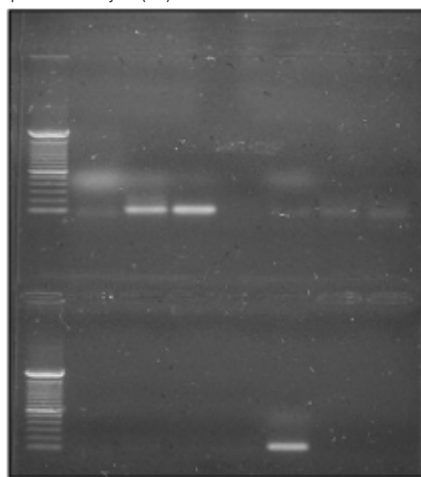


Figura 6. Positividad de MF (caso T2), carril 6, para HTLV-1. Carril 1: marcador de peso molecular, carril 2: control negativo en tejido (N1), carril 3: T8, carril 4: T10, carril 5: T11, carril 6: T2 (muestra a), carril 7: T3, carril 8: T2 (muestra b), carril 9: control peso molecular, carril 10: T8, carril 10: T10, carril 11: control agua, carril 12: control positivo en tejido (C2).

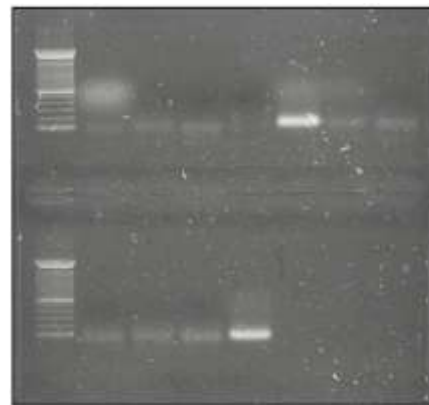
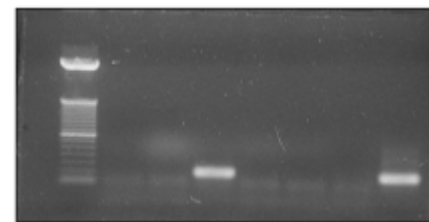


Figura 7. Positividad de papulosis linfomatoide (T24), carril 6, para HTLV -1. Carril 1: marcador de peso molecular, carril 2: control negativo en tejido (N4), carril 3: T17, carril 4: T24, carril 5: T15, carril 6: T2 (muestra a), carril 7: T2 (muestra b), carril 8: control positivo en tejido (C1).



Discusión

En relación a la búsqueda HTLV-1 en biopsias de linfomas cutáneos T, nuestros resultados concuerdan con los publicados en la literatura, en que en la mayoría de los infiltrados de LCCT no se logró evidenciar la presencia de HTLV-1 (7-9).

Sin embargo, al igual que en Japón, Estados Unidos de Norteamérica y Europa es posible observar casos de LCCT con presencia de HTLV-1. En nuestro estudio encontramos un caso de linfoma T CD30 (-), un caso de MF y uno de papulosis linfomatoide.

Todos nuestros controles de ATCL los resultados mostraron positividad para

HTLV-1 en la biopsia, lo que demuestra la calidad técnica del PCR. Se ha observado también que la presencia del genoma del HTLV-1 es una condición necesaria en la producción de la leucemia-linfoma T.

Si bien la PCR para HTLV-1 positiva sugiere la presencia del virus en la biopsia, no informa sobre el tipo de célula infectada por el virus. Para ello sería necesario complementar este estudio con técnicas como la hibridación *in situ* que permite demostrar el virus al interior de las células. Es razonable inferir que las células infectadas son los linfocitos T Cd4(+) presentes en el infiltrado linfoide si bien hay estudios que muestran también integración viral en queratinocitos (15).

Es probable que la proporción de linfomas cutáneos en los que se encuentre el virus dependa además de la prevalencia de la infección por HTLV-1 en un territorio determinado. En Perú, por ejemplo, en áreas endémicas alrededor de 20% de los linfomas T cutáneos son HTLV-1 positivos (16).

En Chile, que es un territorio de baja prevalencia, la proporción de linfomas infectados coincide con las de zonas similares en prevalencia como Europa y Estados Unidos de Norteamérica.

No es descartable sin embargo, que en los casos con resultado positivo para HTLV-1 la presencia del virus pueda jugar un rol de significado pronóstico respecto a la agresividad del tumor, por ejemplo inhibiendo la apoptosis y antioncogenes en las células transformadas.

Es recomendable incluir la búsqueda de este virus en la lesiones proliferativas de estirpe T, pues su presencia influye en el pronóstico y seguimiento de estos pacientes. Su búsqueda ayudaría a realizar el diagnóstico diferencial entre LCCT con formas cutáneas iniciales de ATCL, en que los hallazgos morfológicos pueden ser inespecíficos.

Es interesante notar que el mismo conjunto de partidores y la misma técnica

que se usa rutinariamente en estos pacientes para detectar HTLV-1 en suero, es el que se usó para detectar la presencia del virus en el tejido.

El caso de LT CD30 (-) cuyo resultado fue HTLV1(+) en tejido, lo fue también en sangre. El caso de MF no se realizó estudio en sangre. Ello sugiere que si el paciente tiene presencia del virus demostrada por PCR en sus linfocitos circulantes, es muy probable que el infiltrado linfoide patológico también tenga presencia del virus y es razonable pensar que éste tenga un rol patogénico en la enfermedad.

Respecto a la extracción de ADN, vemos que el material fijado en formalina representa un ADN excelente calidad. Aunque su nivel de preservación es menor que el del tejido fresco, se pudo amplificar fragmentos de 268 y 110 pares de base.

Así, con una buena calidad de ADN y una técnica lo suficientemente sensible, es poco probable que hayamos obtenido falsos



Ilumina lanza el nuevo equipo de Secuenciación de Nueva Generación NextSeq 500.

Sistema integrado (on-instrument) para generación automática de clusters de ADN por amplificación en puente, secuenciación y análisis primario y secundario de los datos.

- Capacidad de generación de datos actual de 120 Gb en modo High Output y 40 Gb en MidOutput.
- Secuenciación de un genoma humano (2 x 150 pb) en 30 horas y 1 exoma (2 x 75 pb) en 18 horas.
- Lecturas paired-end con calidad esperada de Q30 (1 error cada 1000 bases) para más del 75% de las bases leídas durante la secuenciación de fragmentos de 150 pb.
- Servidor para almacenamiento de datos provisto por Illumina (BaseSpace).



www.biosystems.com.ar

negativos.

Los resultados de la búsqueda de HTLV-1 en biopsias infiltrados T son una herramienta más para la mejor categorización de los pacientes, pero deben ser siempre interpretados en el contexto clínico. Si bien la presencia del virus se ha relacionado las enfermedades ya descritas, hay muchos pacientes portadores del virus que no desarrollan enfermedades infiltrativas T y permanecen como portadores.

En conclusión, la búsqueda de HTLV-1 en linfomas de células T es un elemento de utilidad para el análisis de los infiltrados linfoides de estirpe T, ya que ayuda en su categorización y seguimiento.

En Chile, país de baja prevalencia de la infección por HTLV-1, no se había estudiado la presencia del ADN viral en biopsias de pacientes con linfomas cutáneos. Nuestros resultados concuerdan con lo publicado en la literatura, en los que la mayoría de los infiltrados de LCCT no evidencia presencia de HTLV-1. Por ello consideramos un aporte caracterizar el comportamiento de este virus y sus enfermedades asociadas en nuestro país.



Referencias

1. Heald P, Latkowski J. Cutaneous T Cell Lymphomas En: Freedberg I, Eisen A, Wolf K, et al. *Dermatology in General Medicine* Sexta Edición 2003, Nueva York: 1537-58.
2. Willemze R, Kerl H, Sterry W, Berti E, Cerroni L, Chimenti S, et al. EORTC Classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the cutaneous lymphoma study group of the european organization for research and treatment of cancer. *Blood* 1997; 90 (1): 354-71.
3. Zucker-Franklin. The role of human T cell lymphotropic virus type 1 tax in the development of cutaneous T cell lymphoma. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001; 941: 86-96.
4. Anagnostopoulos I, Hummel M, Kaudewitz P, Herbst H, Braun Falco O, Stein H, et al. Detection of HTLV-1 proviral sequences in CD30-positive large cell cutaneous T-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1990; 137 (6): 1317-22.
5. Chang YT, Liu HN, Chen CL, Chow KC. Detection of Epstein-Barr Virus and HTLV-1 in T-cell lymphomas in Taiwan. *Am J Dermatopathol* 1998; 20 (3): 250-4.
6. Ghosh SK, Abrams JT, Terunuma H, Vonderheld EC, De Freitas E. Human T-cell leukemia virus type I Tax/Rex DNA and RNA in cutaneous T cell lymphoma: *Blood* 1994; 84 (8): 2663-71.
7. Zucker-Franklin D, Pancake BA, Marmor M, Legier PM. Reexamination of human T cell lymphotropic virus (HTLV I/II) prevalence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94 (12): 6403-7.
8. Kikuchi A, Nishikawa T, Ikeda Y, Yamaguchi K. Absence of human T-lymphotropic virus type I in Japanese patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1997; 89 (5): 1529-32.
9. Boni R, Davis Daneshfar A, Burg G, Fuchs D, Wood GS. No detection of HTLV-1 proviral DNA in lesional skin biopsies from Swiss and German patients with cutaneous T-cell lymphoma. *British Journal of Dermatology* 1996; 134: 282-4.
10. Noorali S, Yaqoob N, Nasir M, Moatter T, Pervez S. Prevalence of mycosis fungoides and its association with EBV and HTLV-1 in Pakistani patients. *Pathology Oncology Research* 2002; 8 (3): 194-9.
11. Primo JR, Brite C, Oliveira M de F, Moreno-Carvalho O, Machado M, Bittencourt AL. Infective dermatitis and human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis in childhood and adolescence. *Clinical Infectious Disease* 2005; 41 (4): 535-41.
12. Arai E, Chow K, Li CY, Tokunaga M, Katayama I. Differentiation between cutaneous form of adult T cell leukemia/lymphoma and cutaneous T cell lymphoma by *in situ* hybridation using a human T cell leukemia virus-1 DNA probe. *Am J Pathol* 1994; 144 (1): 15-20.
13. Incan M, Antoniotti O, Gasmi M, Fonck Y, Chassagne J, Desgranges C, Souteyrand P. HTLV-1-associated lymphoma presenting as mycosis fungoides in an HTLV-1 non-endemic area: a viro molecular study. *British Journal of Dermatology* 1995; 132 (6): 983-8.
14. Vandamme AM, Laethem KV, Liu HF, Van Brussel M, Delaporte E, De Castro Costa C, et al. Use of a generic polymerase chain reaction assay detecting human T lymphotropic virus (HTLV) types I, II and divergent simian strains in the evaluation of individuals with indeterminate HTLV serology. *Journal of Medical Virology* 1997; 52 (1): 1-7.
15. Zucker-Franklin D. The role of human T cell lymphotropic virus type 1 tax in the development of cutaneous T cell lymphoma. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001; 941: 86-96.
16. Bravo F, Sánchez MR. New and emerging cutaneous infectious diseases in Latin America and other geographic areas. *Dermatol Clin* 2003; 21 (4): 655-68.
17. Poesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Isolation of a new type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T cell lymphoma. *Proc Natl Sci* 77 (12): 7415-9.
18. Barmak K, Harhaj E, Grant C, Alefantos T, Wigdahi B. Human T cell leukemia virus type I-induced disease: pathways to cancer and neurodegeneration. *Virology* 2003; 308 (1): 1-12.
19. Cartier L, Tajima K, Araya F, Castillo JL, Zaninovic V, Hayami M, et al. Estudio preliminar de seroprevalencia de HTLV-1 en población indígena chilena. *Rev Med Chile* 1993; 121: 241-6.
20. Suárez M, Quero M, Ramírez E. Prevalencia de anticuerpos anti HTLV-1 y posibles factores de riesgo en prostitutas chilenas. *Rev Med Chile* 1993; 121 (3): 614-7.
21. Sun S, Yamaoka S. Activation of NF- κ B by HTLV-1 and implications for cell transformation. *Oncogene* 2005; 24 (39): 5952-64.
22. Grassmann R, Aboud M, Jeang KT. Molecular mechanisms of cellular transformation by HTLV-1 Tax. *Oncogene* 2005; 24 (39): 5976-85.
23. Marriotti SJ, Semmes OJ. Impact of HTLV-1 tax on cell cycle progression and the cellular DNA damage repair response. *Oncogene* 2005; 24 (39): 5986-95.
24. Lupi O, Tying SK. Tropical Dermatology: viral tropical diseases. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49 (6): 979-1000.
25. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005; 105 (10): 3768-83.