



INFECCIÓN POR EL VIRUS DE EPSTEIN-BARR E INTERLEUCINA 10 SÉRICA EN NIÑOS

EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION AND SERUM INTERLEUKIN 10 IN CHILDREN

Jorymar Yoselyn Leal Montiel¹ <https://orcid.org/0000-0002-1110-9824>, Mariela Carolina Rincón Montiel² <https://orcid.org/0000-0002-5414-1664>, Pablo Ortega Fernández³ <https://orcid.org/0000-0002-0069-8264>, Miriam Echeverría Velázquez <https://orcid.org/0000-0002-5685-0931>⁴

¹Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Biológicas, Laboratorio de Investigación en Malnutrición Infantil y Retardo Mental. Coordinadora del Laboratorio de Investigación en Malnutrición Infantil y Retardo Mental. Directora de la División de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, Venezuela

²Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Programa de Postgrado de Maestría en Inmunología, Mención: Inmunología Experimental, Venezuela

³Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Biológicas, Laboratorio de Investigación en Malnutrición Infantil y Retardo Mental. Profesor Emérito de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, Venezuela

⁴Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Programa de Postgrado Maestría en Inmunología, mención: Inmunología Experimental, Venezuela

2477-9172 / 2550-6692 Derechos Reservados © 2023 Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Enfermería. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons, que permite uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original es debidamente citada.

Recibido: 10 de noviembre 2022

Aceptado: 30 de diciembre 2022

RESUMEN

Introducción: el Virus de Epstein-Barr (VEB), ha desarrollado estrategias para evadir el sistema inmunológico y permanecer en estado de latencia, resaltando la importancia de la IL-10 en la persistencia viral, la seroconversión y las complicaciones en el hospedero. **Objetivo:** determinar las concentraciones séricas de IL-10 en escolares y adolescentes con infección por el VEB. **Métodos:** se realizó un estudio descriptivo, transversal, no experimental en 73 niños de ambos géneros, con infección por el VEB, clasificados en 3 grupos serológicos: Grupo A: IgM (-), IgG (-); Grupo B: IgM (+), IgG (+) y Grupo C: IgM (-), IgG (+). Las concentraciones séricas de IL-10 fueron determinadas por ELISA. Los datos fueron analizados con el programa SAS/STAT, versión 8.1, considerando significancia $p < 0,05$. **Resultados:** las concentraciones séricas promedio más bajas de IL-10 fueron detectadas en escolares del Grupo B al comparar con adolescentes del mismo grupo, y las más altas en los Grupo B y C con más de 3 síntomas. La concentración de IL-10 mostró una disminución progresiva asociada al mayor tiempo de evolución en los Grupos A y C, mientras que, en el Grupo B, se observó elevación de IL-10 durante los 4 a 6 meses de evolución clínica. **Conclusiones:** los valores séricos promedio de IL-10 en individuos infectados por el VEB disminuyen a mayor tiempo de evolución, sin embargo, el incremento de IL-10 observado entre los 4 y 6 meses coincide con la producción y positividad de la IgM e IgG contra el virus, lo que podría explicar su reactivación.

Palabras clave: Infecciones por Virus de Epstein-Barr, Interleucina-10, Niño, Seroconversión

ABSTRACT

Introduction: Epstein-Barr Virus (EBV) has developed strategies to evade the immune system and remain latent, highlighting the importance of IL-10 in viral persistence, seroconversion, and complications in the host. **Objective:** to determine the serum concentrations of IL-10 in schoolchildren and adolescents with EBV infection. **Methods:** a descriptive, cross-sectional, non-experimental study was carried out in 73 children of both genders, with EBV infection, classified into 3 serological groups: Group A: IgM (-), IgG (-); Group B: IgM (+), IgG (+) and Group C: IgM (-), IgG (+). Serum IL-10 concentrations were determined by ELISA. The data were analyzed with the SAS/STAT program, version 8.1., considering significance $p < 0.05$. **Results:** the lowest mean serum concentrations of IL-10 were detected in schoolchildren from Group B when compared with adolescents from the same group, and the highest in Groups B and C with more than 3 symptoms. The concentration of IL-10 showed a progressive decrease associated with the longer evolution time in Groups A and C, while in Group B, an elevation of IL-10 was observed during the 4 to 6 months of clinical evolution. **Conclusions:** the average serum values of IL-10 in individuals infected with EBV decrease with longer evolution, however, the increase in IL-10 observed between 4 and 6 months coincides with the production and positivity of IgM and IgG. against the virus, which could explain its reactivation

Keywords: Epstein-Barr Virus Infections, Interleukin-10, Child, Seroconversion

Autor de correspondencia: Dra. Jorymar Yoselyn Leal Montiel. **Correo electrónico:** jorymarleal@gmail.com.

INTRODUCCIÓN

El Virus de Epstein-Barr (VEB) fue el primer patógeno que mostró ser causa de disfunción inmunitaria como resultado de la infección directa de las células del sistema inmune. Es un miembro de la familia Herpesviridae, conocido también como Herpes Virus Humano tipo 4. Se caracteriza por ser un virus linfotrópico, encapsulado, y como tal, puede ocasionar infección persistente y latente, pues, aunque la respuesta inmune que desencadena conduce a su aparente eliminación, el genoma viral persiste en varios tipos celulares y la reactivación de la infección puede no suceder nunca o bien ocurrir a intervalos irregulares (1,2).

El VEB puede transformar los linfocitos B, por lo que, ha sido descrito como el primer virus oncogénico relevante desde el punto de vista clínico, asociado con el desarrollo de determinados tipos de cáncer como Linfoma de Burkitt, Carcinoma Nasofaríngeo Anaplásico, Linfoma de Hodgkin y no Hodgkin. Según la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), el VEB se clasifica como un carcinógeno del grupo 1 asociado con tumores como el Linfoma de Burkitt, Linfoma de Hodgkin, no Hodgkin y el carcinoma nasofaríngeo (3). Sin embargo, aún no está totalmente dilucidada la etiopatogenia del VEB para el desarrollo de neoplasias malignas. Así mismo, el virus parece estimular la formación de autoanticuerpos, lo que mantendría un estado proinflamatorio en enfermedades autoinmunes como Lupus Eritematoso Sistémico, Colitis ulcerosa y Artritis reumatoide (4).

La infección por el VEB en los niños generalmente no causa síntomas, o los síntomas no se distinguen de los de otras enfermedades leves y breves de la niñez. Las personas que presentan síntomas de una infección por el VEB, por lo general los adolescentes o los adultos, se mejoran en dos a cuatro semanas. Sin embargo, algunas personas pueden sentirse fatigadas durante varias semanas o incluso meses (5). Se estima que alrededor del 95% de los adultos con edades comprendidas entre los 18 y 40 años han sido afectados, la infección es más prevalente y ocurre a edades más tempranas en un rango de 3 a 16 años, no obstante, este virus puede afectar a cualquier individuo con independencia de su edad (5,6).

La enfermedad más común causada por el VEB es la Mononucleosis Infecciosa (MI); ésta ocurre con mayor frecuencia en adultos jóvenes. Sin embargo, la primoinfección en niños pequeños suele ser asintomática o producir síntomas inespecíficos, por lo que frecuentemente suele ser subdiagnosticada (3). Las manifestaciones típicas incluyen la tríada: faringitis (84%), fiebre (85-98%) y linfadenopatía cervical (94-100%); entre otras manifestaciones menos frecuentes como la hepatoesplenomegalia y el exantema maculopapuloso (5%). Las complicaciones poco frecuentes de la MI incluyen Meningoencefalitis, Síndrome de Guillain Barré, obstrucción laríngea y rotura esplénica (5,6).

El patrón de seroprevalencia del virus varía según ciertas variables sociodemográficas, países con un desarrollo socioeconómico medio y bajo similar al de Venezuela, reportan un modelo de infección precoz en sus poblaciones, en contraposición a lo observado en países industrializados, en donde es en la edad adulta cuando se contrae la infección (7). Este virus presenta una amplia distribución y prevalencia, particularmente común en niños y adolescentes; sin embargo, se estima que más del 90% de la población adulta a nivel mundial es seropositiva y portan el virus a lo largo de su vida (3,5). Los niños pueden padecer la infección al desaparecer los anticuerpos protectores maternos entre los seis a ocho meses de vida, lo cual explica la baja seroconversión en menores de un año. Por lo que, los individuos no infectados durante la niñez se contagian durante la adolescencia (7).

La vía de transmisión más frecuente del VEB, es por contacto con las secreciones orales mediante los besos, muy común entre adolescentes y adultos jóvenes, o por el intercambio de fómites contaminados con saliva de niño a niño, como sucede en los hogares de cuidado diario infantil. También se ha podido aislar en sangre, epitelio vaginal y semen, haciendo probable que se transmita por contacto sexual en la población adulta, siendo el hombre el único reservorio conocido (8-10).

Inicialmente el virus infecta las células epiteliales de la orofaringe y posteriormente los linfocitos B del tejido linfoide, responsables de la diseminación del virus por todo el sistema reticuloendotelial. Los linfocitos circulantes causan la infección generalizada. Después de la infección aguda, el VEB permanece latente en la población de linfocitos B, representando estas células un reservorio para el virus de por vida. La liberación intermitente del virus del epitelio faríngeo con tasas bajas de replicación en esas células, permite la transmisión potencial de la infección a miembros susceptibles de la comunidad. El periodo de incubación de la infección, varía entre 1 y 3 semanas, pero en jóvenes y adultos puede prolongarse hasta 30 a 50 días; por lo que adolescentes y adultos jóvenes desarrollan infección sintomática con mayor frecuencia (11).

Después de la infección por el VEB, la mayor parte de los pacientes presentan respuesta inmunitaria humoral y celular vigorosa. La primera se dirige contra diversas proteínas virales, los anticuerpos contra las proteínas virales gp350 y contra antígenos de membrana son neutralizantes, pero no participan en el control de la infección establecida. La respuesta inmunitaria celular al VEB es extremadamente intensa, las células asesinas naturales y los linfocitos T citotóxicos CD8+ activados controlan la proliferación del virus durante la infección primaria (12,13).

El diagnóstico de MI es fundamentalmente clínico, pero la confirmación se realiza a través de pruebas de laboratorio; por lo general hay leucopenia leve que precede al desarrollo de leucocitosis 2-4 semanas tras la infección, acompañada de una linfocitosis mayor del 50% y al menos 10% de linfocitos atípicos en la hematología completa, sugerentes de infección. Puede haber trombocitopenia y neutropenia, sobre todo en el primer mes de la enfermedad. Las pruebas de función hepática están

alteradas en el 90% de los niños, siendo típica la elevación de las transaminasas, fosfatasa alcalina y lactato deshidrogenasa (13).

El patrón de respuesta de los anticuerpos contra el VEB inicialmente refleja la síntesis de los antígenos virales implicados en la lisis celular. El conocimiento de la naturaleza de estos antígenos que inducen anticuerpos específicos contra el VEB es útil para la interpretación de la serología específica del virus (Cuadro 1) (14), así tenemos, antígenos tempranos (AT), antígenos tardíos, que incluyen el antígeno de la cápside viral (ACV) y el antígeno de membrana (AM), y el antígeno nuclear del VEB (ANEB) expresado en la fase de latencia (13-15). Para la detección de anticuerpos específicos frente al VEB se utilizan técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), con una sensibilidad y especificidad elevada (80-100%).

Los anticuerpos IgM contra AT, aparecen tempranamente en la infección, usualmente persisten por meses y pueden reaparecer en cualquier momento, como respuesta espontánea, no específica a diversos estímulos. Los anticuerpos IgG contra AT, comienzan a elevarse con el inicio de los síntomas, alcanzando concentraciones máximas cerca de las 3 a 4 semanas después del inicio de los mismos (13-16).

Los anticuerpos IgM contra ACV, aparecen en el inicio de los síntomas, persisten por semanas a meses y después desaparecen de forma permanente, por lo que su detección es evidencia presuntiva de infección primaria aguda. Los anticuerpos IgG contra ACV, comienzan a incrementarse poco después del inicio de los síntomas, alcanzando su concentración máxima a los 2-3 meses, disminuyendo gradualmente y persistiendo durante toda la vida. Los anticuerpos contra el ANEB, usualmente no aparecen hasta 2-4 semanas después del inicio de los síntomas, durante la convalecencia y persisten durante toda la vida (13-16).

CUADRO 1
CLASIFICACIÓN DEL ESTADO DE INFECCIÓN POR EL VEB, SEGÚN EL TIEMPO DESPUÉS DEL COMIENZO DE LOS SÍNTOMAS Y SEROLOGÍA VIRAL

| Estado de infección | Tiempo después del comienzo de los síntomas | IgM-ACV | IgG-ACV |
|---------------------------------|---------------------------------------------|---------------------|---------------------|
| Sano Susceptible | - | Negativo | Negativo |
| Infección primaria aguda | 0-3 semanas | Positivo | Negativo o Positivo |
| Infección subaguda | 4 semanas-3 meses | Positivo | Positivo |
| Infección convaleciente | 4-6 meses | Negativo o Positivo | Positivo |
| Infección pasada | > 6 meses | Negativo | Positivo |

Antígeno de la cápside viral (ACV)

Fuente: Balfour et al. (14)

Finalmente, el VEB ha desarrollado diversas estrategias para evadir el sistema inmunológico y permanecer en estado de latencia, resaltando la importancia de la IL-10 en la persistencia viral. Es así como el virus, tiene la capacidad de codificar un homólogo viral de la IL-10 (vIL-10), que comparte el 70% de la secuencia de aminoácidos de la IL-10 humana (hIL-10), para modular la respuesta inmunitaria y facilitar su replicación, propagación y persistencia (17,18).

Por todo lo antes expuesto, aunado a la alta prevalencia de infección por el VEB, la gran complejidad con que se manifiesta el virus en la población, la escasa información científica relacionada con la respuesta inmunitaria protectora frente a la enfermedad y sus complicaciones, así como la participación de la IL-10 en la evolución, variabilidad clínica y seroconversión del virus en el individuo, es que, la presente investigación tiene como objetivo general determinar las concentraciones séricas de IL-10 en escolares y adolescentes eutróficos infectados por el virus de Epstein-Barr.

MÉTODOS

Se llevó a cabo una investigación de tipo descriptivo, transversal, no experimental (19). La población estudiada estuvo representada por 90 individuos en edad pediátrica con signos y síntomas de infección viral y remitidos por un Médico Especialista al Laboratorio Regional de Referencia Viroológica del Instituto de Investigaciones Clínicas ubicado en la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, en el período enero-diciembre 2017. La investigación se llevó a cabo siguiendo los principios éticos en la investigación médica en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki (20) por lo que fue aprobado por el Consejo Técnico del Instituto de Investigaciones Biológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia y la Comisión de Bioética de la Universidad del Zulia (Proyecto PEI N°: 2012000757), y por el Comité de Ética de la División de Estudios para Graduados de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Los padres o representantes legales de los escolares, una vez informados, dieron su consentimiento verbal y escrito para su inclusión en la investigación.

Para calcular el tamaño de la muestra se aplicó la siguiente fórmula (21):

$$n = \frac{Z^2 pqN}{e^2 (N-1) + Z^2 pq}$$

Donde:

n: número de elementos de la muestra.
 N: número de elementos del universo (90).
 p/q: probabilidades con la que se presenta el fenómeno (50%).
 Z2: valor crítico correspondiente al nivel de confianza elegido: siempre se opera con valor sigma (1,96).
 e: margen de error o de imprecisión permitido (5%).
 Resultando un tamaño muestral de 73 individuos.

El desarrollo de la investigación estuvo enmarcado en el área de la Inmunología y dirigido a evaluar las concentraciones séricas de IL-10 en la muestra seleccionada que cumplía con los siguientes criterios de inclusión:

Criterios de Inclusión

- Niños y niñas, en edades comprendidas entre los 6 y los 11 años de edad (escolares) y entre los 12 y los 18 años de edad (adolescentes), según la OMS.
- Eutróficos según evaluación antropométrica.
- Con signos y síntomas sugestivos de Mononucleosis Infecciosa (fiebre, cefalea, mialgias, artralgias, erupciones, adenopatías, odinofagia, prurito, dolor abdominal, ictericia, náuseas, vómitos, otros).

Criterios de Exclusión

- Niños y niñas menores de 6 años y mayores de 18 años.
- Desnutridos o con exceso de peso, según evaluación antropométrica.
- Con diagnóstico serológico de infección por Citomegalovirus, Toxoplasma gondii y virus del Herpes simple.

La recolección de los datos se llevó a cabo por una especialista en Puericultura y Pediatría, mediante la revisión organizada de historias médicas en un formato computarizado aplicado por el personal médico que trabaja en el Laboratorio Regional de Referencia Viroológica del Instituto de Investigaciones Clínicas. Todos estos datos fueron posteriormente recogidos en una ficha clínica elaborada por la misma especialista.

La información recolectada:

Datos Antropométricos: peso en kilogramo (Kg) y talla en metros (m). A partir de estos datos, se procedió a calcular el IMC dividiendo el peso en kilos sobre la talla en metros cuadrados (kg/m²). Se utilizaron como valores de referencia las tablas de IMC para la edad, de niños, niñas y adolescentes de 5 a 18 años. Los escolares y adolescentes considerados como eutróficos fueron los que presentaron un IMC ≥ -2 a $\leq +1$ DE. (22)

Datos Clínicos: sobre los signos y síntomas (fiebre, cefalea, mialgias, artralgias, erupciones, adenopatías, odinofagia, prurito, dolor abdominal, ictericia, náuseas, vómitos, otros), que presentaron los escolares y adolescentes de las historias médicas revisadas. De esta manera se separó la muestra en 2 grupos, un primer grupo que presentó menos de 3 signos y

síntomas, y un segundo grupo que presentó más de 3 signos y síntomas clínicos. Se consideró infección por el VEB, aquellos individuos con la tríada típica de odinofagia, fiebre y adenopatías cervicales (5).

Datos Bioquímicos y Serológicos: de las muestras de sangre que fueron tomadas por una Licenciada en Bioanálisis, y a las cuales se les realizó hematología completa que complementó la evaluación clínica, y prueba inmunoenzimática indirecta para determinar anticuerpos IgM e IgG frente al ACV (Antígeno de la Cápside Viral) del VEB en suero (VIRCELL microbiologists, Epstein-Barr ACV ELISA IgM e IgG) (23).

En base al resultado de serología para el VEB, la muestra fue clasificada en 3 grandes grupos a continuación: **Grupo A:** IgM (-), IgG (-); **Grupo B:** IgM (+), IgG (+) y **Grupo C:** IgM (-), IgG (+). El grupo correspondiente al diagnóstico serológico: IgM (+), IgG (-), no fue tomado en consideración, ya que ninguno de los escolares y adolescentes de la muestra obtuvo dicho resultado (23).

El suero obtenido, debidamente identificado y preservado bajo medidas de congelación a -70 °C en el banco de muestras del referido laboratorio, fue posteriormente descongelado y utilizado para la determinación de IL-10 a través del método de ELISA tipo sándwich (método basado en la unión Ag-Ac) (24). El método de ELISA es un sistema indicador de antígenos proteicos (Ags) o anticuerpos (Acs), combinados con enzimas. En la prueba, uno de los componentes (Ag ó Ac) se adhiere sobre una superficie conocida como la fase sólida, éste reacciona con el Ac ó con el Ag de la muestra. El otro reactivo es el conjugado enzimático que se activa y degrada un sustrato específico, el cual desarrolla un color cuya intensidad se mide en unidades de absorbancia (24).

Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los resultados se realizó con el uso del software estadístico (SAS/STAT, versión 8.1, 1999, SAS Institute, Cary, NC, USA). Los datos cuantitativos obtenidos se mostraron como valores Promedio (\bar{x}) \pm Desviación Estándar (DE). La organización de los datos se realizó mediante el uso de tablas de contingencia. Se aplicó la prueba de Kolmogorov–Smirnov a cada variable, y en el caso de una distribución normal, se aplicó una prueba “t” de Student a cada una de ellas y Análisis de la Varianza (ANOVA), tomando el 95% como índice de confiabilidad estadística y considerando significancia estadística una $p < 0,05$ (19).

RESULTADOS:

La presente investigación se realizó en 73 individuos= 40 escolares (6-11 años) y 33 adolescentes (12-18 años), eutróficos, con signos y síntomas clínicos de infección viral. De los cuales 18 (24,65%) mostraron diagnóstico serológico negativo para el VEB (Grupo A), que correspondería a los individuos sanos susceptibles y 55 (75,34%) presentaron diagnóstico serológico positivo para el VEB (Grupos B y C).

La Tabla 1, presenta las concentraciones séricas de IL-10 en escolares y adolescentes no infectados e infectados por el VEB. No se observó diferencia significativa en las concentraciones séricas promedio de IL-10 entre los escolares y adolescentes estudiados.

TABLA 1
CONCENTRACIONES SÉRICAS DE IL-10 EN ESCOLARES Y ADOLESCENTES NO INFECTADOS E INFECTADOS POR EL VEB
Escolares y Adolescentes (n=73)

| Citocina | No infectados por el VEB (n=18) □ ± DE | Infectados por el VEB (n=55) □ ± DE |
|---------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| IL-10 (pg/mL) | 8,83±5,58 | 8,64±6,51 |

□: promedio; DE: desviación estándar.

La Tabla 2, muestra las concentraciones séricas de IL-10 en escolares y adolescentes infectados y no infectados por el VEB clasificados de acuerdo al diagnóstico serológico, la edad y el número de síntomas. Nótese que las concentraciones séricas promedio de IL-10 entre escolares y adolescentes de los diferentes grupos serológicos, no mostraron diferencias significativas. Sin embargo, las concentraciones séricas promedio de IL-10 fueron menores en escolares del **Grupo B** (6,11±2,62 pg/mL), y superiores en adolescentes del mismo grupo (12,46±10,49 pg/mL). Además, en escolares y adolescentes con

más de 3 síntomas, las concentraciones séricas promedio de IL-10 fueron superiores en el **Grupo B** (10,52±7,88 pg/mL) y el **Grupo C** (9,39±7,15 pg/mL), al comparar con el **Grupo A** (8,46±4,55 pg/mL). Por su parte los escolares y adolescentes con menos de 3 síntomas del **Grupo A**, presentaron concentraciones séricas promedio de IL-10 superiores (10,71±10,63 pg/mL), al comparar con el resto de los grupos serológicos. Estas diferencias no resultaron significativas.

TABLA 2
CONCENTRACIONES SÉRICAS DE IL-10 EN ESCOLARES Y ADOLESCENTES INFECTADOS Y NO INFECTADOS POR EL VEB, SEGÚN GRUPO ETARIO Y NÚMERO DE SÍNTOMAS

| | Concentraciones séricas de IL-10 en escolares y adolescentes infectados y no infectados por el VEB | | | | | |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------|--------------|---------|-------------|
| | Grupo A | | Grupo B | | Grupo C | |
| | n | □ ± DE | n | □ ± DE | n | □ ± DE |
| <u>Grupo Etario:</u> | | | | | | |
| < 12 años | 13 | 8,95±5,86 | 3 | 6,11±2,62 | 24 | 9,06±6,63 |
| 12-18 años | 5 | 8,52± 5,38 | 3 | 12,46 ±10,49 | 25 | 8,08 ± 6,36 |
| <u>Número de Síntomas:</u> | | | | | | |
| < 3 síntomas | 3 | 10,71 ± 10,63 | 1 | 3,09±1,38 | 15 | 6,68 ± 4,06 |
| > 3 síntomas | 15 | 8,46±4,55 | 5 | 10,52 ±7,88 | 34 | 9,39 ± 7,15 |

□: promedio; DE: desviación estándar.

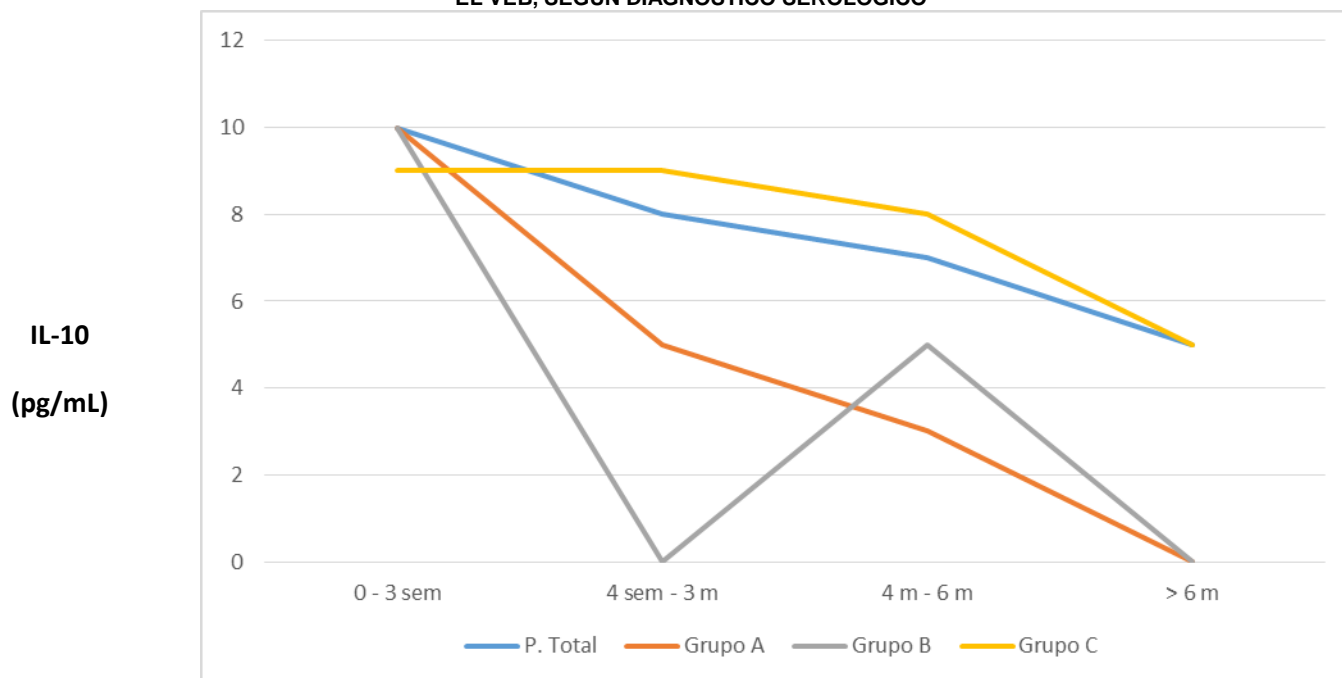
Grupo A: IgM (-), IgG (-); **Grupo B:** IgM (+), IgG (+) y **Grupo C:** IgM (-), IgG (+).

No se encontró diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones séricas de IL-10 (ANOVA).

La Figura 1, muestra la evolución de las concentraciones séricas de IL-10 en escolares y adolescentes infectados y no infectados por el VEB y clasificados en grupos serológicos, según el tiempo después del comienzo de los síntomas. Obsérvese que en los escolares y adolescentes estudiados, las concentraciones séricas promedio de IL-10 mostraron una disminución relacionada con el mayor tiempo de evolución de la enfermedad. Esta evolución se

corresponde en los Grupos A y C. Por el contrario, en el Grupo B, se observó un descenso de las concentraciones séricas promedio de IL-10 entre las 4 semanas y 3 meses, con posterior elevación entre los 4 a 6 meses, hasta alcanzar sus valores más bajos después de los 6 meses.

FIGURA 1
EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE IL-10 EN ESCOLARES Y ADOLESCENTES INFECTADOS Y NO INFECTADOS POR EL VEB, SEGÚN DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO



Grupo A: IgM (-), IgG (-); **Grupo B:** IgM (+), IgG (+) y **Grupo C:** IgM (-), IgG (+).

No se encontró diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones séricas de IL-10 (ANOVA).

DISCUSIÓN

Las infecciones virales crónicas o persistentes, no se eliminan con la simple respuesta inmunológica del huésped, por lo que el resultado a largo plazo es un estado de equilibrio entre el huésped y el virus. Diversos factores como, los mecanismos de evasión inmune viral, el estado de inmunosupresión del huésped, o, en el caso de los herpesvirus, la manipulación del estado inmunológico, facilitan la persistencia (latencia) de la infección dificultando la eliminación del virus (18). Diferentes mecanismos han sido utilizados por los virus para inducir cronicidad o persistencia, en el que la IL-10 secretada por el huésped participa como una citocina reguladora, sin embargo, algunos virus como el VEB han desarrollado mecanismos que les permiten secretar sustancias e imitar las funciones de la IL-10 humana, denominados homólogos virales de la IL-10 (18,25).

En la presente investigación, los escolares y adolescentes estudiados en su totalidad mostraron síntomas clínicos de infección viral, sin embargo, de los 73 individuos estudiados, sólo 55 presentaron serología positiva para el VEB [Grupo B: IgM (+), IgG (+) y Grupo C: IgM (-), IgG (+)], y los 18 restantes mostraron serología negativa [Grupo A: IgM (-), IgG (-)], considerados sanos susceptibles, es decir, no infectados por el VEB. Esto puede ser debido a que la primoinfección en niños pequeños suele ser asintomática o producir síntomas inespecíficos, por lo

que frecuentemente suele ser subdiagnosticada (5). De allí que, al aumentar el número de individuos de la muestra y/o el rango de edad, se pudiera obtener mayor número de casos de individuos asintomáticos con serología positiva para el VEB.

En relación con las concentraciones séricas promedio de IL-10 entre escolares y adolescentes eutróficos infectados por el VEB (Grupo B y C), y no infectados (Grupo A), no mostraron diferencias significativas (Tabla 2). A pesar de que el Grupo A presentó serología negativa para VEB, Citomegalovirus, Toxoplasma gondii y virus del Herpes simple, es probable que la sintomatología que presentaron los individuos de este grupo sea debido a otros virus no estudiados en la presente investigación, como el Adenovirus o el virus de la Influenza, entre otros, y que por tanto la respuesta inmunológica del huésped frente a estos virus sea similar a la inducida por el VEB, o bien existir otros posibles agentes etiológicos de MI no conocidos hasta el momento, que pudieran explicar algunos patrones serológicos atípicos, y la similitud en las concentraciones séricas de IL-10 entre infectados y no infectados (25).

Por otro lado, aun cuando la técnica utilizada para la detección de anticuerpos específicos frente al VEB haya sido el ELISA, la cual presenta una sensibilidad y especificidad elevada (80-100%) (13), es probable que algunos de los individuos del Grupo A estén incluidos en el 20% del margen de error de la prueba, y

por tanto reportar falsos negativos, para lo cual sería necesario la aplicación de otras técnicas como la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), para corroborar la presencia del virus, más aun cuando este grupo presentó síntomas sugestivos de MI. De allí que, algunos individuos del Grupo A pudieran estar realmente infectados por el VEB y por tanto presentar valores séricos de IL-10 similares a los individuos infectados del Grupo B y C.

En lo que respecta al Grupo B, puede observarse que, en los escolares, las concentraciones séricas promedio de IL-10 fueron bajas, alcanzando cifras promedio más altas en los adolescentes del mismo grupo, esto puede deberse al mayor grado de inmadurez inmunológica de los escolares con respecto a los adolescentes ante la infección primaria aguda, subaguda y convaleciente ocasionadas por el VEB (2).

Por otro lado, las concentraciones séricas promedio de IL-10 fueron superiores en los individuos infectados por el VEB con más de 3 síntomas (Grupo B y C), considerando que ambos grupos corresponden a escolares y adolescentes en etapa aguda/subaguda y convaleciente/pasada respectivamente, en donde es frecuente observar mayor variabilidad clínica y número de síntomas, así como valores elevados de IL-10 en virtud de alcanzar un equilibrio entre el huésped y el virus ante el proceso infeccioso, aunado al hecho de que la IL-10 viral (vIL-10) podría contribuir a tal aumento (17,18).

Cabe destacar, que tanto la IL-10 humana como la vIL-10 tienen actividad inmunosupresora similar, y la capacidad de estimular la proliferación, diferenciación y producción de anticuerpos por parte de la célula B (17,18).

La IL-10 viral (vIL-10) es utilizada como estrategia por el VEB para establecer infecciones latentes. Es codificada por el gen BCRF1, clasificado como un gen tardío pero expresado tempranamente en las células B después de la infección. Se ha demostrado que la vIL-10 tiene la capacidad de unirse al receptor de IL-10 humano (IL-10R) con una muy baja afinidad, lo que impide la expresión del MHC clase II en las células B, la producción de IL-2 por las células T CD4+, la proliferación de timocitos y mastocitos, pero sí conservar la capacidad de suprimir la producción de citocinas proinflamatorias y mejorar la viabilidad de la célula B (17,18,25,26).

Hatton y col., han realizado revisiones sobre estudios donde han encontrado valores elevados de IL-10 humana e IL-10 viral en la circulación de humanos receptores de trasplante infectados por el VEB (27). Resultados similares fueron reportados por Martínez y col., en un estudio in vitro realizado en ratones con Síndrome de Inmunodeficiencia Combinada Severa (SCID) a los cuales se les inyectó líneas de células B infectadas por el VEB, provenientes de pacientes con Enfermedad Linfoproliferativa Postrasplante (28). Estos hallazgos sugieren que, la IL-10 viral (no medida en este estudio) pudiera influir en el aumento de los valores séricos de IL-10 humana en individuos infectados por el VEB como en los Grupos B y C con más de 3 síntomas, y por tanto podría ser considerada su determinación en futuras investigaciones.

Además, en los escolares y adolescentes estudiados, las concentraciones séricas promedio de IL-10 mostraron una disminución relacionada con el mayor tiempo de evolución (Figura 1). Por el contrario, en el Grupo B se observó un

descenso de las concentraciones séricas de IL-10 de 4 semanas a 3 meses, y luego elevación entre los 4 a 6 meses, para luego llegar a sus valores más bajos después de los 6 meses. Estas variaciones en los valores séricos de IL-10 pudieran tener relación con la producción y doble positividad de los anticuerpos de tipo IgM e IgG (Grupo B) que se produce durante las etapas subaguda y convaleciente que corresponden a dichos periodos evolutivos (17,18).

La elevación de las concentraciones séricas de IL-10 en el Grupo B durante los 4 a 6 meses, pudieran explicar los periodos de reactivación del virus en algunos individuos (29). Durante la infección por el VEB, también aumenta 5-10 veces el número absoluto de células T CD8+ en sangre periférica en comparación con individuos asintomáticos. Con esta expansión de células T CD8+ activadas aumentan también las concentraciones séricas de citocinas proinflamatorias e inmunoreguladoras (IFN- γ , TNF, IL-6, IL-10 y TGF- β) (2). Por otro lado, la vIL-10 también desempeña un papel importante durante la infección, el cual protege a las células B infectadas, alterando la producción de citocinas, inhibiendo la respuesta de las células TCD4+ y NK, y en última instancia, facilitando la diseminación del virus (17,18,25,26).

Sin embargo, la presente investigación de tipo transversal, no permite analizar realmente las alteraciones de las concentraciones séricas de IL-10 en individuos infectados por el VEB en un periodo de tiempo prolongado, y para lo cual sería necesario realizar mediciones sucesivas de IL-10 en la misma muestra y grupo serológico.

Savitri y col., evaluaron la correlación entre la carga viral en plasma del VEB y las concentraciones séricas de IL-8 e IL-10, en la evolución de los diferentes estadios del Carcinoma Nasofaríngeo. Los resultados indicaron que la carga viral en plasma puede ser un buen indicador de la progresión de la enfermedad, asimismo la correlación positiva entre la carga viral e IL-8, y finalmente, valores de IL-10 elevados en el estadio II de la enfermedad al comparar con la etapa III, y en el estadio III al comparar con el estadio IV (30). De allí, la importancia de la carga viral en relación con los valores séricos de IL-10 y la evolución clínica del individuo infectado por el VEB, a través del tiempo (31-33). Aun cuando la presente investigación no contó con mediciones de carga viral, es posible que sus valores según el estado serológico, expliquen las variaciones séricas de IL-10 en individuos infectados, sobre todo lo que corresponden al Grupo B entre los 4 a 6 meses.

Actualmente no existen estudios similares, ni literatura científica que permita realizar comparaciones con los resultados obtenidos. Aunado a que los reportes realizados por otros autores sobre el estudio de las concentraciones séricas de IL-10 en patologías o infecciones virales son diferentes a la infección por el VEB, por lo que se recomienda continuar con investigaciones en humanos y animales que contribuyan con información científica que aclare la participación de la IL-10 viral (vIL-10) y la IL-10 humana (hIL-10), en la modulación de la respuesta inmunitaria en la replicación, propagación y persistencia de la infección por el VEB.

CONCLUSIONES

Las concentraciones séricas promedio de IL-10 no varían entre individuos eutróficos infectados y no infectados por el VEB. Los Adolescentes con Mononucleosis Infecciosa en etapa aguda, subaguda y convaleciente [IgM (+), IgG (+)], presentaron valores séricos de IL-10 más elevados que los escolares del mismo grupo, lo cual contribuye a su variabilidad clínica. Por su parte, los Escolares y adolescentes infectados por el VEB, con más de 3 síntomas para Mononucleosis Infecciosa, mostraron concentraciones séricas promedio de IL-10 superiores a las encontradas en individuos sanos susceptibles. Los valores séricos promedio de IL-10 disminuyen a medida que aumenta el tiempo de evolución, con las etapas de convalecencia e infección pasada. Sin embargo, la doble seropositividad [IgM (+) e IgG (+)] en escolares y adolescentes infectados por el VEB, induce un aumento de los valores séricos de IL-10 entre los 4 a 6 meses después del comienzo de los síntomas, pudiendo coincidir con la reactivación del virus en algunos individuos.

Se sugiere, para futuras investigaciones sobre infección por el VEB e IL-10, contar con determinaciones séricas de otras

citocinas como IFN- γ , IL-6, TGF- β y TNF- α que también participan en la infección viral, así como parámetros bioquímicos modificables tales como bilirrubina, transaminasas y lactato deshidrogenasa, además de determinación de la carga viral e IL-10 viral, como factores influyentes en las concentraciones séricas de IL-10 humana, y por tanto, en la respuesta inmunológica frente al VEB.

INFORMACIÓN SOBRE FUENTES DE FINANCIACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN:

Financiado por la Universidad del Zulia y el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia Tecnología e Innovación, a través del programa de estímulo al investigador, Proyecto PEI N°: 2012000757.

CONFLICTO DE INTERESES

Todos los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Dunmire SK, Verghese PS, Balfour HH Jr. Primary Epstein-Barr virus infection. *J Clin Virol.* 2018;102:84-92. doi: 10.1016/j.jcv.2018.03.001.
- Tangye SG, Palendira U, Edwards ES. Human immunity against EBV-lessons from the clinic. *J Exp Med.* 2017;214(2):269-283. doi: 10.1084/jem.20161846. Epub 2017 Jan 20. PMID: 28108590; PMCID: PMC5294862.
- Valero-Cedeño NJ, Fuentes-Parrales JE, Zambrano-Calderón SA, Razo-Romero MP. Prevalencia e inmunopatogénesis de la infección por el virus Epstein Barr: una actualización. *Kasmera.* 2021;49(Supl-1):e49S136099. doi: 10.5281/zenodo.5575069
- Xu Y, Hiyoshi A, Smith KA, Piehl F, Olsson T, Fall K, Montgomery S. Association of Infectious Mononucleosis in Childhood and Adolescence With Risk for a Subsequent Multiple Sclerosis Diagnosis Among Siblings. *JAMA Netw Open.* 2021;4(10):e2124932. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.24932.
- Aronson MD., Auwaerter PG. Infectious Mononucleosis in Adults and Adolescents. *American Family Physician.* 2013; 70 (7): 1279-1287.
- García-Peris M, Jiménez Candel MI, Mañes Jiménez Y, Pariente Martí M, González Granda D, Calvo Rigual F. Primoinfección por el virus de Epstein-Barr en niños sanos [Epstein-Barr virus primary infection in healthy children]. *An Pediatr (Engl Ed).* 2019;90(6):376-385. Spanish. doi: 10.1016/j.anpedi.2018.09.003. Epub 2018 Oct 24. PMID: 30529045.
- Chacón de Petrola M. R., Naveda O., Castillo de Febres O., Flores M. E., Casanova de Escalona L., Castro L. y Naveda M. Prevalencia de anticuerpos anti-citomegalovirus y anti-virus Epstein-Barr en Valencia, Estado Carabobo, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 2002; 22 (2): 131-135
- Rostgaard K, Balfour HH Jr, Jarrett R, Erikstrup C, Pedersen O, Ullum H, Nielsen LP, Voldstedlund M, Hjalgrim H. Primary Epstein-Barr virus infection with and without infectious mononucleosis. *PLoS One.* 2019;14(12):e0226436. doi: 10.1371/journal.pone.0226436.
- Welch JL, Holland D. What Elements Suggest Infectious Mononucleosis? *Ann Emerg Med.* 2018;71(4):521-522. doi: 10.1016/j.annemergmed.2017.06.014. Epub 2017 Jul 14. PMID: 28712603.
- Vogler K, Schmidt LS. Clinical manifestations of Epstein-Barr virus infection in children and adolescents. *Ugeskr Laeger.* 2018;180(20):V09170644. Danish. PMID: 29761777.
- Ruano Martín J., Ramos Lázaro J. Mononucleosis infecciosa en la infancia. *Pediatría Integral.* 2014; XVIII (3): 141-152.
- Lara Vega PH. Mononucleosis Infecciosa. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica.* 2009. LXVI (587): 73-77.
- Vera Izaguirre DS., Chávez Tapia NC., Lizardi Cervera J., Méndez Sánchez N. Mononucleosis infecciosa. *Med Sur.* 2003;10(2):76-89.
- Balfour HH Jr, Dunmire SK, Hogquist KA. Infectious mononucleosis. *Clin Transl Immunology.* 2015;4(2):e33. doi: 10.1038/cti.2015.1.
- Guerrero-Ramos A, Patel M, Kadakia K, Haque T. Performance of the architect EBV antibody panel for determination of Epstein-Barr virus infection stage in immunocompetent adolescents and young adults with clinical suspicion of infectious mononucleosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(6):817-823. doi: 10.1128/CVI.00754-13.
- Arai A. Advances in the Study of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection: Clinical Features Under the 2016 WHO Classification and Mechanisms of Development. *Front Pediatr.* 2019;7:14. doi: 10.3389/fped.2019.00014.
- Wilson EB, Brooks DG. The role of IL-10 in regulating immunity to persistent viral infections. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2011;350:39-65. doi: 10.1007/82_2010_96.
- Rojas JM, Avia M, Martín V, Sevilla N. IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections. *J Immunol Res.* 2017;2017:6104054. doi: 10.1155/2017/6104054.

19. Palella S; Martins F. Metodología de la Investigación Cuantitativa. 2da edición. Caracas Venezuela. Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador. 2006: 188-195.
20. Declaración De Helsinki De La Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 2008. Disponible en http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c_es.pdf.
21. Montesano JR. Manual del protocolo de investigación. México, D.F.: Editorial Auroch;1999.
22. Weir CB, Jan A. BMI Classification Percentile And Cut Off Points. 2021. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 31082114
23. Jenson HB, Ench Y, Sumaya CV. Epstein-Barr virus. En: Rose NR, Conway de Macario E, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM.(eds). Manual of Clinical Laboratory Immunology (5ª ed). American Society for Microbiology. Washington, 1997; 634-643
24. Cox Karen L, Devanarayan Viswanath, Kriauciunas Aidas, Manetta Joseph, Montrose Chahrzad, Sittampalam Sitta. Immunoassay Methods. Assay Guidance Manual. 2014: 1-44.
25. Jog NR, Chakravarty EF, Guthridge JM, James JA. Epstein Barr Virus Interleukin 10 Suppresses Anti-inflammatory Phenotype in Human Monocytes. Front Immunol. 2018;9:2198. doi: 10.3389/fimmu.2018.02198.
26. Lindquister GJ, Greer KA, Stewart JP, Sample JT. Epstein-Barr virus IL-10 gene expression by a recombinant murine gammaherpesvirus in vivo enhances acute pathogenicity but does not affect latency or reactivation. Herpesviridae. 2014;5:1. doi: 10.1186/2042-4280-5-1.
27. Hatton OL, Harris-Arnold A, Schaffert S, Krams SM, Martinez OM. The interplay between Epstein-Barr virus and B lymphocytes: implications for infection, immunity, and disease. Immunol Res. 2014;58(2-3):268-276. doi: 10.1007/s12026-014-8496-1.
28. Martinez OM, Villanueva JC, Lawrence-Miyasaki L, Quinn MB, Cox K, Krams SM. Viral and immunologic aspects of Epstein-Barr virus infection in pediatric liver transplant recipients. Transplantation. 1995;59(4):519-24. PMID: 7878757.
29. Trifunović J, Miller L, Debeljak Ž, Horvat V. Pathologic patterns of interleukin 10 expression--a review. Biochem Med (Zagreb). 2015;25(1):36-48. doi: 10.11613/BM.2015.004.
30. Savitri E, Haryana MS. Expression of interleukin-8, interleukin-10 and Epstein-Barr viral-load as prognostic indicator in nasopharyngeal carcinoma. Glob J Health Sci. 2015;7(3):364-372. doi: 10.5539/gjhs.v7n3p364.
31. Kai Qu, Qing Pang, Ting Lin, Li Zhang, Mingliang Gu, Wenquan Niu, Chang Liu, Ming Zhang. Circulating interleukin-10 levels, human papilloma virus, and Epstein-Barr virus-associated cancers: evidence from a Mendelian randomization meta-analysis based on 11,170 subjects. Onco Targets and Therapy. 2016; 9: 1251-1267.
32. Zhang Z, Doel C, Bashiruddin JB. Interleukin-10 production at the early stage of infection with foot-and-mouth disease virus related to the likelihood of persistent infection in cattle. Vet Res. 2015;46:132. doi: 10.1186/s13567-015-0276-y.
33. Xu ZG, Iwatsuki K, Oyama N, Ohtsuka M, Satoh M, Kikuchi S, Akiba H, Kaneko F. The latency pattern of Epstein-Barr virus infection and viral IL-10 expression in cutaneous natural killer/T-cell lymphomas. Br J Cancer. 2001;84(7):920-925. doi: 10.1054/bjoc.2000.1687.