

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



**“EXPRESIÓN DE RAD51 EN LINFOMAS NO HODGKIN DIFUSOS DE
CÉLULAS B GRANDES”**

POR

DRA. HAYDE SARAHI RAMOS MARRERO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO

DICIEMBRE 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL UNIVERSITARIO “DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ”
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA



**“EXPRESIÓN DE RAD51 EN LINFOMAS NO HODGKIN DIFUSOS DE
CÉLULAS B GRANDES”**

POR

DRA. HAYDE SARAHI RAMOS MARRERO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

DIRECTORA: DRA. ITZEL ARACELI ORTIZ MEZA


CODIRECTORA: DRA. BÁRBARA SÁENZ IBARRA

MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO

DICIEMBRE 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO "DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ"
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA
"EXPRESIÓN DE RAD51 EN LINFOMAS NO HODGKIN DIFUSOS DE
CÉLULAS B GRANDES"

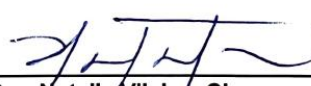
Aprobación de Tesis




Dra. Itzel Araceli Ortiz Meza
Directora de tesis




Dra. Bárbara Sáenz Ibarra
Codirectora de tesis



Dra. Natalia Vilches Cisneros
Coordinadora de Enseñanza



Dr. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez
Coordinador de Investigación



Dra. Med. Oralia Barboza Quintana
Jefa del Departamento



Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

**"EXPRESIÓN DE RAD51 EN LINFOMAS NO HODGKIN DIFUSOS DE
CÉLULAS B GRANDES"**

PRESENTADA POR:

DRA. HAYDE SARAHI RAMOS MARRERO

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA
PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO "JOSÉ
ELEUTERIO GONZÁLEZ", BAJO LA DIRECCIÓN DE LA DRA. ITZEL ARACELI
ORTIZ MEZA Y LA CODIRECCIÓN DE LA DRA. BÁRBARA SAÉNZ IBARRA.



Dra. Med. Oralia Barboza Quintana
Jefa del Departamento de Anatomía Patológica y Citopatología

DICIEMBRE 2025

DEDICATORIA

A Verito y Mario, por acompañarme en este camino y brindarme su apoyo y amistad día con día. Gracias por enseñarme tanto y por hacerme reír siempre.

Al personal del Departamento, en especial a Hilda, Abel y a Alex, por el esfuerzo dedicado a la realización de este trabajo.

A mis maestros, por su dedicación y compromiso con mi formación durante estos cuatro años.

A la Dra. Itzel, por ser mi guía en este proyecto y un ejemplo a seguir para mí.

A Javier, por animarme y apoyarme incondicionalmente, por su comprensión y por hacer de mis días los más felices y serenos.

Y, finalmente, a mis hermanos Jorgito y Nidia, y a mis padres Jorge Luis y Ausencia, por creer en mí desde el inicio de este sueño. Los amo.

CONTENIDO

I. RESUMEN.....	VII
II. INTRODUCCIÓN.....	13
1. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL ADN.....	13
2. TIPOS DE DAÑO AL ADN.....	13
3. ESTABILIDAD DEL ADN.....	14
4. MECANISMOS DE REPARACIÓN DEL ADN.....	14
4.1 ROTURAS DEL ADN.....	15
4.1.1 ROTURAS DE UNA HEBRA.....	15
4.1.2 ROTURAS DE DOBLE HEBRA.....	16
5. REPARACIÓN MEDIANTE UNIÓN DE EXTREMOS NO HOMÓLOGOS..	17
6. REPARACIÓN POR RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA.....	17
7. RAD51.....	18
7.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE RAD51.....	18
7.2 MEDIADORES DE RAD51.....	19
7.3 ROL DE RAD51 EN ONCOLOGÍA.....	20
7.4 RAD51 Y MECANISMOS DE RESISTENCIA TUMORAL.....	21
7.5 EXPRESIÓN DE RAD51 EN NEOPLASIAS MALIGNAS.....	22
8. EXPRESIÓN DE RAD51 EN NEOPLASIAS HEMATOLINFOIDES.....	22
8.1 LINFOMA NO HODGKIN DIFUSO DE CÉLULAS B GRANDES.....	23
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
IV. JUSTIFICACIÓN.....	27
V. HIPÓTESIS	27

VI. OBJETIVOS	27
1. OBJETIVO GENERAL	27
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
VII. MATERIAL Y MÉTODOS	29
1. DISEÑO DE ESTUDIO	29
2. LUGAR DE TRABAJO	29
3. POBLACIÓN DE ESTUDIO	29
4. TAMAÑO DE LA MUESTRA	29
5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	29
6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	30
7. SELECCIÓN DE CASOS	30
8. VARIABLES	30
9. PROCESAMIENTO	31
9.1 MICROARREGLOS DE TEJIDO	31
9.2 INMUNOHISTOQUÍMICA	32
10. ANÁLISIS	35
11. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	36
12. CONSIDERACIONES ÉTICAS	37
VIII. RESULTADOS	38
IX. DISCUSIÓN	55
X. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	59
XI. CONCLUSIONES	60
XII. BIBLIOGRAFÍA	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables del estudio: tipo, clasificación y escala de medición.....	31
Tabla 2. Distribución de la expresión de RAD51 por inmunohistoquímica en la cohorte estudiada.....	39
Tabla 3. Distribución del porcentaje de expresión de RAD51 por inmunohistoquímica.....	41
Tabla 4. Distribución por grupo de expresión de RAD51 y presentación nodal/extranodal.....	43
Tabla 5. Asociación entre los grupos de expresión de RAD51 y la presentación nodal o extranodal.....	43
Tabla 6. Intensidad de tinción de RAD51 en los casos analizados.....	44
Tabla 7. Asociación entre los grupos de RAD51 y la expresión de BCL-2.....	46
Tabla 8. Asociación entre los grupos de RAD51 y la expresión de BCL-2.....	47
Tabla 9. Asociación entre los grupos de RAD51 y la expresión de C-MYC.....	47
Tabla 10. Asociación entre los grupos de RAD51 y la expresión de C-MYC....	48
Tabla 11. Distribución entre los grupos de RAD51 y la expresión de EBER-RISH.....	49
Tabla 12. Análisis entre grupo de RAD51 y expresión de EBER-RISH.....	49
Tabla 13. Intensidad de RAD51 en linfomas doble expresores.....	52
Tabla 14. Asociación entre la intensidad de expresión de RAD51 y linfomas doble expresores.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de selección de tejido y creación de microarreglos mediante el sistema automatizado TMA Master.....	32
Figura 2. Proceso de elaboración simplificado de tinción y marcadores de inmunohistoquímica	35
Figura 3. Distribución de las regiones anatómicas en los casos extranodales de linfoma difuso de células B grandes	38
Figura 4. Distribución de los grupos según el porcentaje de expresión de RAD51.....	40
Figura 5. Intensidades de RAD51.....	45
Figura 6. LDCGB con mayor positividad para EBER-RISH.....	50
Figura 7. Positividad de RAD51 en linfomas doble expresores.....	51
Figura 8. Caso doble expresor de BCL-2 y C-MYC.....	54

ABREVIATURAS

ABC: célula B activada (activated B cell)

ADN: ácido desoxirribonucleico

ARN: ácido ribonucleico

DAB: 3,3'-diaminobencidina

EBER RISH: hibridación in situ para ARN codificado por Epstein–Barr

GCB: célula B tipo centro germinal (germinal Center B-Cell like)

IHQ: inmunohistoquímica

LDCBG: linfoma difuso de células B grandes

LNH: linfoma no Hodgkin

OMS: Organización Mundial de la Salud

PARP1: poli(ADP-ribosa) polimerasa 1

Pol α , Pol δ , Pol ϵ : polimerasas α , δ y ϵ

TMA: microarreglo tisular (tissue microarray)

VEB: virus de Epstein–Barr

XRCC1: proteína 1 complementaria a rayos X

I. RESUMEN

Introducción y objetivos

RAD51 tiene un rol fundamental en el mecanismo de reparación del ADN por recombinación homóloga. Se ha descrito su sobreexpresado en carcinomas de mama, páncreas, ovario, entre otras y está asociado a mayor agresividad tumoral y pobre respuesta a tratamiento. Ha sido poco estudiado en neoplasias hematolinfoides pero se ha logrado corroborar su expresión en linfomas difusos de células grandes B por técnicas moleculares. El objetivo de este estudio fue el describir la expresión de RAD51 en linfomas difusos de células B grandes por inmunohistoquímica y determinar si hay asociación entre características de linfomas de alto grado (expresión de BCL-2 y C-MYC), la infección por Virus de Epstein-Barr y el porcentaje de expresión de Ki-67.

Metodología

Se incluyeron 106 pacientes con diagnóstico de linfoma difuso de células B grandes diagnosticados entre enero del 2013 a diciembre del 2023. Se realizaron microarreglos de tejido tumoral, sobre los cuales se realizaron los marcadores de inmunohistoquímica RAD51, BCL2- C-MYC, EBER-RISH y Ki-67. Se evaluó el porcentaje de células positivas de RAD51 y se clasificaron los resultados en 5 grupos (0-<1%, 1-25%, 26-50%, 51-75%, 76-100%), la intensidad de RAD51 se evaluó como negativa, débil, moderada y fuerte. Se determinó la positividad o negatividad de BCL2, C-MYC y EBER-RISH. Se calculó el porcentaje de positividad de Ki-67.

Resultados

96% de los casos mostraron expresión positiva de RAD51 por inmunohistoquímica. La intensidad de expresión de RAD51 fue variable entre los distintos grupos evaluados. En cuanto a la presentación clínica, se identificó una asociación significativa entre la presentación nodal en los grupos 4 y 5 (71% y

60%, respectivamente). C-MYC resultó positivo en el 36% de los casos incluidos en el grupo 5, mostrando significancia estadística. De manera relevante, los linfomas doble expresores presentaron un mayor porcentaje promedio de positividad para RAD51 (80%), en comparación con los linfomas no doble expresores (60%).

Conclusiones

RAD51 es una proteína ampliamente expresada en los linfomas difusos de células grandes B. Su expresión es significativamente mayor en los linfomas doble expresores (C-MYC+/BCL-2+). La sobreexpresión de RAD51 en este subgrupo podría relacionarse con la biología más agresiva que caracteriza a estos tumores. Este estudio contribuye al conocimiento sobre RAD51 en el linfoma difuso de células B grandes.

II. INTRODUCCIÓN

1. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL ADN

El ácido desoxirribonucleico (ADN) contiene el material genético que hace posible el funcionamiento y replicación de los organismos. Está compuesto por dos cadenas o hebras que a su vez están formadas por subunidades de nucleótidos. Cada nucleótido está constituido por desoxirribosa, un grupo fosfato y por una base púrica o pirimídica. Las bases que conforman el ADN son adenina, citosina, guanina y timina. La unión covalente entre la desoxirribosa y los grupos fosfato de los nucleótidos forma la estructura en cadena o hebra. Es necesario que dos hebras se unan mediante un enlace de hidrógeno para dar lugar a la estructura tridimensional de doble hélice del ADN.

Un gen es una unidad de información contenida en un fragmento de ADN. El orden de los nucleótidos en ese fragmento determina la información de cada gen, que posteriormente será empleada en la producción de una proteína con una estructura y función biológica específicas. En los organismos eucariotas, la gran mayoría del ADN se encuentra en el núcleo de cada célula¹.

2. TIPOS DE DAÑO AL ADN

La integridad estructural del ADN es crucial para asegurar la estabilidad genómica del individuo y especie, sin embargo, esta estabilidad puede verse comprometida por diversos factores, los cuales son considerados como intrínsecos o extrínsecos². Los factores intrínsecos resultan de varios procesos celulares como lo son la discordancia de bases por errores en la replicación del ADN, modificaciones epigenéticas, oxidación de nucleótidos a través de las especies reactivas del oxígeno y otros procesos químicos como la alquilación y la hidrólisis sobre la molécula genética³. Entre los factores extrínsecos relacionados con el daño al ADN se encuentran la radiación ultravioleta, radiación ionizante y la presencia de químicos ambientales.

3. ESTABILIDAD DEL ADN

El tipo de daño al ADN condiciona la significancia de la inestabilidad genómica producida, que puede ir desde pequeñas variaciones estructurales como mutaciones en pares de bases o inestabilidad microsatelital hasta daños estructurales significativos que condicionen inestabilidad cromosómica⁴. Los errores en el código genético celular son determinantes para la aparición de una amplia gama de enfermedades y el principal impulsor de la carcinogénesis.

4. MECANISMOS DE REPARACIÓN DEL ADN

En los organismos eucariotas existe una variedad de mecanismos altamente eficaces y regulados que se activan en respuesta a los daños producidos al ADN y son cruciales para determinar el desenlace de las células comprometidas, incluyendo la detección inicial de la lesión, la inducción del punto de control del ciclo celular, la reparación del ADN y la inducción de la vía de muerte celular programada⁵.

Cuando el daño al ADN excede la capacidad celular de repararlo, una multitud de señales moleculares inicia el proceso de apoptosis. En el caso contrario, cuando se determina que el daño presente en el ADN es reparable, son cinco los mecanismos generales que están involucrados en la reparación de distintos tipos de anomalías en el ADN: reparación por escisión de base, reparación por escisión de nucleótido, reparación por apareamiento erróneo, reparación por unión de extremos terminales no homólogos y reparación por recombinación homóloga⁶.

El principal determinante para la elección del mecanismo de reparación del daño al ADN es la propia lesión que lo induce. Cuando los daños producidos no alteran en gran medida la estructura de la molécula del ADN y no interfieren con la acción de las polimerasas encargadas de la replicación del ADN (polimerasa α (Pol α), δ (Pol δ), and ϵ (Pol ϵ)), los mecanismos involucrados son la reparación por escisión de nucleótidos y la reparación de apareamiento erróneo.

4.1 Roturas del ADN

Las lesiones que modifican la estructura helicoidal del ADN o la actividad de las polimerasas requieren de las vías más precisas de reparación o en caso contrario, la activación de la cascada de moléculas que culminan con la muerte celular⁷.

4.1.1 Roturas de una hebra

Entre los tipos de daños que puede sufrir el ADN, las roturas del ADN son las más importantes, ya que comprometen la estabilidad estructural de esta molécula y pueden culminar en la muerte celular si no son reparados con éxito². Las roturas de única hebra son discontinuidades en una sola de las cadenas que conforman la doble hélice del ADN. Son de las lesiones más comunes del ADN, ya que se producen miles cada día⁸. Una de las causas más comunes de roturas de una sola hebra es el daño oxidativo generado por especies reactivas del oxígeno, como lo son los radicales anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y los radicales hidroxilos. Pueden surgir por la oxidación de una base, oxidación de una desoxirribosa. También aparecen como consecuencia de la actividad errónea de enzimas celulares como la topoisomerasa¹.

Las consecuencias de las roturas de una hebra son distintas dependiendo del estado de proliferación de la célula. En células que se están replicando, un daño al ADN de esta magnitud implica la aparición de un bloqueo o colapso de la horquilla de replicación del ADN durante la fase S. En células estables, las rupturas de una hebra detienen la polimerasa de ácido ribonucleico (ARN) durante el proceso de transcripción. Ambos eventos pueden activar procesos de reparación, producir inestabilidad genética o culminar en la muerte celular⁹.

El principal mecanismo de reparación de las roturas de una hebra es la reparación por escisión de bases mediante la interacción de la poli-(ADP-ribosa)–polimerasa-1 (PARP1) y la proteína 1 complementaria a rayos X (XRCC1), en donde se identifica la rotura y se remueven los extremos de la hebra rota. Posteriormente, se añaden los nucleótidos faltantes, copiando la secuencia de la

hebra complementaria sana, para que después una ligasa pueda sellar el ADN y así restaurar la continuidad de la cadena¹⁰.

4.1.2 Roturas de doble hebra

Las roturas de doble hebra del ADN ocurren cuando ambas hebras complementarias se cortan simultáneamente en posiciones cercanas. Esto provoca que los extremos del ADN pierdan la continuidad estructural y no puedan mantenerse alineados únicamente por el apareamiento de bases. Este tipo de lesión genera una separación física de la doble hélice en ese punto y constituye uno de los daños más graves para la célula^{7,11}.

Pueden generarse por factores exógenos como lo son la radiación ionizante y algunos agentes químicos o por factores endógenos como la replicación del ADN, por detención o colapso de la horquilla de replicación¹².

Mientras que las roturas de una única hebra no representan un peligro severo, las roturas de doble hebra son una de las lesiones más tóxicas para el ADN y pueden resultar en una regulación deficiente del crecimiento o la muerte celulares. Su reparación errónea también puede conducir a reordenamientos cromosómicos, los cuales son eventos que propician el desarrollo de neoplasias⁵.

La respuesta al daño del ADN constituye un sistema complejo integrado por diversas rutas biológicas que permiten identificar distintos tipos de alteraciones en el ADN y activar mecanismos celulares destinados a contrarrestarlas. Se estima que en las células humanas ocurren aproximadamente 100,000 lesiones en el ADN por día, por lo que la coordinación precisa de este sistema es imprescindible¹³.

La reparación de roturas de doble hebra del ADN puede llevarse a cabo principalmente a través de dos mecanismos, que se distinguen por la necesidad de contar o no con una secuencia homóloga que sirva como molde, la reparación

mediante unión de extremos no homólogos y la reparación por recombinación homóloga¹⁴.

5. REPARACIÓN MEDIANTE UNIÓN DE EXTREMOS NO HOMÓLOGOS

La unión de extremos no homólogos es un mecanismo disponible en todas las fases del ciclo celular ya que no necesita de la presencia de una cromátide hermana para llevar a cabo la reparación, es eficaz y rápido porque no requiere seguir la secuencia de ADN de forma precisa, pero esta misma ventaja la hace propensa a errores, como pequeñas inserciones o deleciones¹⁵. A partir de la detección de la rotura de doble hebra, la proteína Ku se une a las terminaciones libres de las cadenas de ADN. Posteriormente, la kinasa DNA-PKc se une a este complejo e inicia un proceso de fosforilación que activa las moléculas XRCC4, PAXX y la ligasa IV, que culmina con el ligamiento de los dos extremos. La ligasa IV puede tolerar cierta cantidad de discordancia terminal, por lo que esta vía de reparación contendrá una mayor cantidad de errores¹⁶.

6. REPARACIÓN POR RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA

La recombinación homóloga es un proceso altamente especializado que solo puede activarse durante las fases S y G2 del ciclo celular, depende de cromátides hermanas recién replicadas que se utilizan como plantillas para asegurar una reparación precisa.

El proceso comienza por la resección de los extremos rotos, mediante el cual se genera ADN monocatenario (una hebra de ADN). Este paso está dirigido por el complejo MRE11–RAD50–NBS1, en conjunto con CtIP. En esta fase participan también EXO1, la helicasa BLM y la endonucleasa DNA2, que amplían el fragmento reseado y preparan el sustrato para las etapas posteriores¹⁷.

El ADN monocatenario generado se recubre de manera transitoria con el complejo RPA, que estabiliza la hebra y previene interacciones no deseadas. Para que la recombinación homóloga continúe, RPA debe ser reemplazada por RAD51, recombinasa eucariota cuya función depende de las proteínas

mediadoras como BRCA1 y BRCA2, que coordinan tanto la resección como la formación del filamento presináptico de RAD51. La formación del filamento presináptico de RAD51 permite la búsqueda e invasión de la secuencia homóloga en la cromátida hermana, generando una estructura conocida como unión en D (D-loop). Esta invasión permite el apareamiento de bases con la cromátida hermana y la extensión del extremo invasor mediante la acción de la polimerasa δ .

El proceso continúa con una serie de modificaciones estructurales mediadas por helicasas como BLM, RTEL1 y FANCM, que regulan la estabilidad de los D-loops y previenen recombinaciones inadecuadas.

Como paso final, se resuelven las estructuras temporales de unión entre la cromátida hermana que actúa como plantilla y la molécula de ADN previamente dañada, incluidas las uniones tipo Holliday. De esta manera concluye este mecanismo de reparación, lo que permite restablecer la continuidad cromosómica con una fidelidad excepcional¹⁸.

7. RAD51

La proteína RAD51 es miembro de la superfamilia de proteínas RAD51 y se distingue por tener un dominio de unos 230 aminoácidos con dos motivos ATPasa conocidos como Walker A y Walker B. En los seres humanos, el RAD51 se une activamente al ADN monocatenario mediante su porción N-terminal y facilita la recombinación homóloga entre hebras de ADN que son homólogas¹⁹.

7.1 Mecanismo de acción de RAD51

En el evento de una ruptura de doble hebra del ADN, dos proteínas, ATM y ATR fosforilan la histona H2AX. Esto actúa como una señal para el reclutamiento de las proteínas de reparación del ADN al sitio de ruptura. En la fase G1 del ciclo celular, la proteína TP53BP1 se une al sitio de ruptura. En las fases S y G2 del ciclo celular, entra en juego la proteína BRCA1, la cual es fosforilada y activada

por las proteínas CDK1 y CDK2, lo cual inicia la cascada de reparación por recombinación homóloga. Posteriormente, BRCA1 se une a la proteína que interactúa con CtBP (CtIP), la cual elimina competitivamente a TP53BP1 del sitio de doble ruptura. CtIP recluta el complejo de exonucleasa MRN, que reseca el ADN de 5' a 3', dejando largos salientes de ADN monocatenario de 3' en cada lado de la ruptura. Los salientes expuestos son cubiertos y protegidos por la proteína A de replicación. Luego, la proteína BRCA1 recluta a BRCA2 al sitio de ruptura. BRCA2, a su vez, recluta a la recombinasa RAD51, la cual es crucial para la reparación por recombinación homóloga debido a que forma filamentos alrededor de cada hebra, induce la invasión de la cromátide hermana y empareja correctamente la secuencia homóloga²⁰.

La proteína RAD51 presenta además otras funciones relacionadas a la protección de la integridad del genoma. Participa en la reparación y reinicio de la horquilla de replicación detenidas que son vulnerables para el desarrollo de una rotura de hebra del ADN.

7.2 Mediadores de RAD51

Los mediadores de RAD51 son numerosos y promueven su acción, continuando la secuencia de pasos que permiten una reparación efectiva.

La formación del filamento de RAD51 depende de múltiples reguladores. Un paso limitante en este proceso es el desplazamiento de la proteína RPA del ADN monocatenario, ya que RPA posee mayor afinidad por este sustrato que RAD51. Por ello, diversas proteínas mediadoras facilitan la carga y estabilización de RAD51 sobre el ADN²¹.

El principal mediador de RAD51 es BRCA2, interactúa con RAD51 mediante sus repeticiones BRC y su dominio C-terminal y lo deposita de manera específica sobre ADN monocatenario para que este cumpla su función en la molécula de

ADN dañada. BRCA2 también coordina a otros factores como DSS1 y PALB2 para promover la actividad de RAD51.

Además de BRCA2, existen los parálogos de RAD51, proteínas estructuralmente similares que colaboran en la regulación del filamento. En humanos incluyen RAD51B, RAD51C, RAD51D, XRCC2, XRCC3 y SWSAP1. Se considera que estabilizan y remodelan el filamento de RAD51 para facilitar la búsqueda de secuencias homólogas.

Existen además reguladores negativos, como lo son FBH2, RECQL5, FANCM, RTEL, los cuales actúan como antirrecombinasas, separando al RAD51 de la cadena de ADN o desmontando otras moléculas unidas durante el proceso de reparación²².

7.3 Rol de RAD51 en oncología

En la era moderna, el tratamiento principal de las neoplasias malignas se ha concentrado en el uso de agentes quimioterapéuticos, ya sea que se administren antes o después de un abordaje quirúrgico o como tratamiento único en el caso de neoplasias hematolinfoides o neoplasias irresecables. Con el paso de las décadas, los tipos de fármacos y sus esquemas de administración han estado en constante evolución para encontrar el mejor equilibrio entre el máximo efecto terapéutico y la menor toxicidad para el paciente.

Los agentes de quimioterapia ejercen su función primordialmente al interferir con procesos esenciales para la supervivencia y proliferación celular, lo que culmina en detención del ciclo celular y muerte de la célula tumoral.

Los agentes antimicrotúbulos bloquean la mitosis, los inhibidores de topoisomerasas interfieren con el ADN durante la replicación, favoreciendo la aparición de roturas de doble cadena. Los agentes alquilantes y los platinos, producen daño directo al ADN al unirse a la molécula mediante enlaces

covalentes, lo que interfiere con la replicación, la transcripción y los mecanismos de reparación. Finalmente, los antimetabolitos actúan inhibiendo enzimas clave de la síntesis de ADN²³.

La resistencia de un tumor a la quimioterapia representa, por lo tanto, la pérdida de un mecanismo terapéutico central y un gran reto para oncólogos y pacientes.

7.4 RAD51 y mecanismos de resistencia tumoral

Los mecanismos de resistencia son variados, entre ellos se encuentran factores independientes como la carga tumoral, barreras físicas (como la barrera hematoencefálica), tumores pobremente vascularizados, entre otros²⁴. Entre los mecanismos inherentes a las células tumorales se encuentran la heterogeneidad génica del tumor, el microambiente tumoral, la evasión del sistema inmune y la presencia de mutaciones oncogénicas que promueven el desarrollo y persistencia de las células neoplásicas²⁵.

En el estudio genómico de una variedad de neoplasias malignas, se ha encontrado un aumento en la transcripción del gen que codifica la proteína RAD51, lo que sugiere diversos roles para las células tumorales; el papel principal de la sobreexpresión del RAD51 se traduce en un aumento en la capacidad de las células tumorales de reparar errores en su ADN mediante el uso del mecanismo de recombinación homóloga²⁶.

La expresión de los oncogenes C-MYC y β -catenina, así como del gen E7 del virus del papiloma humano, está ligada a la inducción de RAD51 y un aumento de los niveles de proteína²⁷. Además, se ha comprobado que algunas mutaciones puntuales o deleciones de TP53 y las fusiones de BCR/Abl están asociadas a la regulación al alza de RAD51.

7.5 Expresión de RAD51 en neoplasias malignas

Como una regla general, las células neoplásicas de un tumor maligno experimentan un crecimiento y duplicación acelerada debido a factores estimulantes que permiten su replicación. Un proceso mitótico acelerado puede llevar a la formación de múltiples errores en el proceso de duplicación y transcripción del ADN, sin embargo, la sobreexpresión de RAD51 en una variedad de neoplasias malignas les confiere un grado de protección ante este problema, ya que así hay una mayor capacidad de reparación del ADN.

Desde inicios de la década de los 2000, se ha estudiado el funcionamiento de RAD51 y también su expresión en linajes celulares específicos y neoplasias malignas como el adenocarcinoma de páncreas, el carcinoma de ovario y el carcinoma ductal de glándula mamaria^{28, 29, 30}.

Ha sido descrito que RAD51 está involucrado en el desarrollo de la capacidad metastásica de tumores malignos, como el carcinoma de esófago y próstata, gracias a las vías de señalización p38/AKT/snail y la vía EGFR-Erk-1/2/AKT-RAD51, respectivamente. La presencia de metástasis en un paciente cambia drásticamente su pronóstico y disminuye la sobrevida. Otra característica de RAD51 como potenciador de las neoplasias malignas es el desarrollo de resistencia a agentes quimioterapéuticos, los cuales son armas clave en el tratamiento del cáncer por su efectividad y accesibilidad. El eje BMI1-Rad51 es imprescindible para reducir el daño del ADN ocasionado por el cisplatino. Se ha demostrado que en las células tumorales del cáncer de mama la vía BMI1 recluta a RAD51 para promover la reparación del ADN dañado^{31, 32}.

8. EXPRESIÓN DE RAD51 EN NEOPLASIAS HEMATOLINFOIDES

RAD51 ha sido estudiado en una gran variedad de neoplasias malignas como el cáncer de mama, próstata, ovario y páncreas, sin embargo, poco se ha descrito su participación en el desarrollo y progresión de las neoplasias hematolinfoides.

Uno de los primeros antecedentes de RAD51 y las neoplasias hematolinfoides fue reportado por Rollinson y colaboradores (2006), quienes investigaron la relación entre los haplotipos del gen de RAD51 y el riesgo de desarrollar leucemia mieloide aguda. El estudio sugirió que el haplotipo 135/172 C-G RAD51 podría estar asociado con un mayor riesgo de leucemia mieloide aguda³³, destacando la importancia de los mecanismos de reparación del ADN en la susceptibilidad a esta enfermedad.

Yang y colaboradores (2018) reportaron que la inhibición de RAD51 puede aumentar la sensibilidad a la quimioterapia en células de leucemia-linfoma de células T en adultos. El estudio reveló que al reducir la capacidad de estas células cancerosas para reparar el daño en su ADN mediante la inhibición de RAD51, se potencia el efecto de los tratamientos quimioterapéuticos, lo que conduce a una mayor muerte celular³⁴. La inhibición de RAD51 se logró mediante knockout del gen en un cultivo de células Jurkat y los agentes quimioterapéuticos utilizados fueron el imatinib y el etopósido.

Mansoor y colaboradores (2023) encontraron que ciertos genes de reparación del ADN, como lo son BRCA1, FANCA, FEN1, PLOD1, PCNA y RAD51, están significativamente sobreexpresados en el linfoma no Hodgkin difuso de células B grandes en comparación con linfomas foliculares³⁵. Esto sugiere que estos genes podrían ser objetivos terapéuticos clave, aprovechando el concepto de letalidad sintética para mejorar el tratamiento del linfoma no Hodgkin difuso de células B grandes. Se realizó extracción de ARN que fue analizado posteriormente para evaluar la expresión de genes. Fueron utilizadas bases de datos genómicas.

8.1 Linfoma no Hodgkin difuso de células B grandes

El linfoma difuso de células B grandes es el subtipo más común de linfoma, representando aproximadamente el 25-30% de todos los casos de linfomas no Hodgkin³⁶. Es una neoplasia agresiva de células B maduras que se caracteriza por un crecimiento rápido y desorganizado de linfocitos B en los ganglios

linfáticos, aunque puede afectar también otros órganos, como el tracto gastrointestinal, la piel, el sistema nervioso central y otros. Se presenta con mayor frecuencia en personas mayores, con una media de edad entre los 60-70 años. Los síntomas que pueden presentar los pacientes incluyen fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso y linfadenopatías³⁷.

Es una entidad heterogénea y se clasifica en subtipos basados en el perfil genético y molecular, estos son el subtipo de células B activadas (ABC) y el subtipo de células del centro germinal (GCB).

El subtipo GCB se origina en los linfocitos B del centro germinal de los folículos linfáticos y tiene una expresión positiva de los marcadores CD10, BCL-6, y es negativo para MUM1³⁸. Se asocia con mayor frecuencia a la translocación t(14;18)(q32;q21), que involucra al gen BCL-2, así como a alteraciones en el brazo corto del cromosoma 2, incluyendo amplificación del gen c-REL³⁹.

El subtipo ABC se origina a partir de células B activadas fuera del centro germinal. Los marcadores de inmunohistoquímica típicos incluyen MUM1 positivo, BCL-6 variable y CD10 negativo. Este subtipo se caracteriza por la presencia recurrente de trisomía 3, delección del locus INK4A/ARF y activación de la vía de señalización del factor nuclear kappa B (NF-κB), la cual se asocia con mecanismos de resistencia a la apoptosis⁴⁰.

Estos subtipos tienen implicaciones pronósticas, ya que el subtipo ABC generalmente está asociado con un peor pronóstico comparado con el subtipo de centro germinal⁴¹.

El diagnóstico diferencial entre los subtipos GCB y ABC se realiza principalmente a través de inmunohistoquímica mediante el uso de algoritmos, como el algoritmo de Hans, este es uno de los más utilizados y se basa en la expresión de marcadores como CD10, BCL-6 y MUM1⁴². Las características genéticas y

moleculares, incluyendo mutaciones en genes como MYC, BCL-2 y BCL-6, también son relevantes para el pronóstico y la selección de tratamiento.

Una entidad reconocida dentro del espectro del linfoma difuso de células B grandes es aquella que presenta reordenamientos oncogénicos en MYC y BCL-2⁴⁰. El comportamiento frecuentemente agresivo de estos linfomas se relaciona con la expresión aberrante de BCL-2, que confiere mayor resistencia a la apoptosis, y con la activación de MYC, la cual impulsa la proliferación celular.

El gen BCL-2, localizado en 18q21, se transloca principalmente al locus IGH en 14q32. En contraste, las translocaciones que involucran a MYC, localizado en 8q24, son más heterogéneas y ocurren en loci de inmunoglobulina en aproximadamente 55–58% de los casos, predominantemente a IGH, o alternativamente a IGL mediante la translocación t(8;22)(q24;q11), o con menor frecuencia a IGK a través de la translocación t(2;8)(p11;q24)^{40, 43}. Entre los socios no inmunoglobulina de MYC se incluyen BCL-6, la región potenciadora de PAX5 y RFTN1. La presencia de estas alteraciones permite clasificar a estos linfomas como neoplasias de alto grado.

Resulta fundamental distinguir estas entidades de los llamados linfomas doble expresores, definidos por la expresión concomitante de C-MYC y BCL-2 evaluada mediante inmunohistoquímica. Este grupo de linfomas difusos de células B grandes suele asociarse con un pronóstico menos favorable; su evolución clínica es mejor que la observada en los linfomas de células B con alteraciones genéticas específicas, como los linfomas con reordenamientos de MYC en combinación con BCL-2 y/o BCL-6, detectados mediante estudios de hibridación in situ fluorescente (FISH)⁴⁴.

El tratamiento de los linfomas difusos de células grandes B incluye quimioterapia combinada con rituximab (R-CHOP). En casos refractarios o recurrentes, se

pueden considerar terapias adicionales como el trasplante de células madre autólogas e inhibidores de la tirosin cinasa⁴⁵.

El pronóstico del linfoma difuso de células B grandes depende de múltiples factores, incluyendo la edad del paciente, el estadio de la enfermedad al diagnóstico, la respuesta al tratamiento inicial y características moleculares del tumor. Aunque es potencialmente curable en muchos casos, la tasa de supervivencia a cinco años varía ampliamente, desde más del 70% en pacientes con características favorables hasta menos del 50% en aquellos con factores de riesgo adversos.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque las vías de reparación del ADN, incluida la mediada por RAD51, desempeñan un papel importante en la biología de múltiples tumores, se desconoce cuál es el patrón de expresión de RAD51 en el linfoma difuso de células B grandes y si este marcador se relaciona con características de mayor agresividad, como la doble expresión de C-MYC y BCL-2. La falta de información en este campo limita la comprensión de su posible relevancia diagnóstica o pronóstica.

IV. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha descrito la sobreexpresión de RAD51 en diversos tumores sólidos y su asociación con rasgos de peor pronóstico. Sin embargo, su comportamiento en linfomas continúa siendo poco claro. Evaluar la expresión de RAD51 en el linfoma difuso de células B grandes podría aportar información útil para futuras aplicaciones pronósticas o incluso terapéuticas. Además, estudiar este marcador en la neoplasia linfoide más frecuente a nivel mundial resulta clínicamente relevante.

V. HIPÓTESIS

Hipótesis alterna: RAD51 se expresa en los linfomas no Hodgkin difusos de células B grandes.

Hipótesis nula: RAD51 no se expresa en los linfomas no Hodgkin difusos de células B grandes.

VI. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Describir la expresión de RAD51 por inmunohistoquímica en linfomas no Hodgkin difusos de células B grandes.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar si la expresión de RAD51 en linfomas no Hodgkin difusos de células B grandes está asociado a características de linfomas de alto grado: expresión de BCL-2 y C-MYC.

Determinar si existe una asociación entre la expresión de RAD51 y la expresión del virus Epstein Barr y el Ki-67.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DE ESTUDIO

Estudio observacional, descriptivo y retrospectivo de corte transversal.

2. LUGAR DE TRABAJO

El estudio se realizó en el Departamento de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “José Eleuterio González”.

3. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes con diagnóstico de linfoma no Hodgkin difusos de células grandes B diagnosticados entre el periodo del 1 de enero del 2013 al 31 de diciembre del 2023.

4. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a que el RAD51 es un biomarcador poco estudiado previamente en linfomas difusos de células B grandes y se cuenta con escasa literatura que hable sobre la relación de RAD51 con neoplasias hematolinfoides, se incluyeron todos los casos que cumplieron con los criterios de inclusión en este estudio y fueron diagnosticados en el periodo de tiempo previamente mencionado.

5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes mayores de 18 años.
- Paciente con diagnóstico de linfomas no Hodgkin difusos de células grandes B. El diagnóstico debe haber sido emitido por el Departamento de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “José Eleuterio González”.
- Pacientes que dispongan de bloques de tejido en parafina representativos de la patología para estudios de inmunohistoquímica.

- Pacientes que dispongan de laminillas para la obtención de parámetros histológicos.
- Pacientes en los que el diagnóstico haya sido realizado mediante biopsia incisional o escisional.

6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Casos que no cuenten con bloques de parafina o en el caso de que el material sea escaso o se encuentre en mal estado de conservación.
- Casos en los que diagnóstico haya sido realizado mediante biopsia con aguja gruesa (trucut).
- Pacientes que no cuenten con laminillas para la obtención de parámetros histológicos.

7. SELECCIÓN DE CASOS

Se utilizó el motor de búsqueda del sistema PATHOX, programa en el que se almacena toda la información pertinente a los casos/especímenes ingresados al Departamento de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “José Eleuterio González”. Los casos fueron revisados para evaluar el estado y suficiencia del tejido en los bloques de parafina. Se evaluaron las laminillas con tinción de hematoxilina y eosina, así como las laminillas de inmunohistoquímica para la confirmación del diagnóstico histopatológico y la selección del bloque de tejido en parafina a utilizar si el caso contaba con múltiples bloques de tejido disponibles.

8. VARIABLES

Se determinaron las siguientes variables:

- Edad.
- Género
- Sitio de origen del linfoma
- Expresión de BCL-2

- Expresión de C-MYC
- Expresión de virus de Epstein-Barr
- Porcentaje de Ki-67
- Porcentaje de células positivas para RAD51
- Intensidad de expresión de RAD51.

Variable	Tipo de variable	Clasificación	Escala de medición
Edad	Cuantitativa	Continua	Razón
Género	Cualitativa	Nominal dicotómica (hombre/mujer)	Nominal
Sitio de origen del linfoma	Cualitativa	Nominal	Nominal
Expresión de BCL-2	Cualitativa	Dicotómica (positivo/negativo)	Nominal
Expresión de c-MYC	Cualitativa	Dicotómica (positivo/negativo)	Nominal
Expresión del virus de Epstein-Barr (EBER-RISH)	Cualitativa	Dicotómica (positivo/negativo)	Nominal
Porcentaje de Ki67	Cuantitativa	Continua	Razón
Porcentaje de células positivas para RAD51	Cuantitativa	Ordinal (1-5 según rangos)	Ordinal
Intensidad de expresión de RAD51	Cualitativa	Ordinal (negativo, débil, moderado, fuerte)	Ordinal

Tabla 1. Variables del estudio: tipo, clasificación y escala de medición

9. PROCESAMIENTO

9.1 Microarreglos de tejido

Se realizaron microarreglos tomando un fragmento de tejido tumoral de 3 milímetros del bloque de parafina previamente evaluado, seleccionando el área con mayor tejido tumoral y menor cantidad de necrosis o tejido no tumoral.

Cada microarreglo contenía 16 casos y un fragmento de tejido control, organizados en 4 hileras, con 4 casos por hilera. Cada bloque de microarreglos fue elaborado mediante el equipo automatizado TMA Master de 3DHISTTECH.

Se obtuvo una laminilla teñida con hematoxilina y eosina para utilizarla como control y evaluación del tejido de cada bloque de microarreglos.

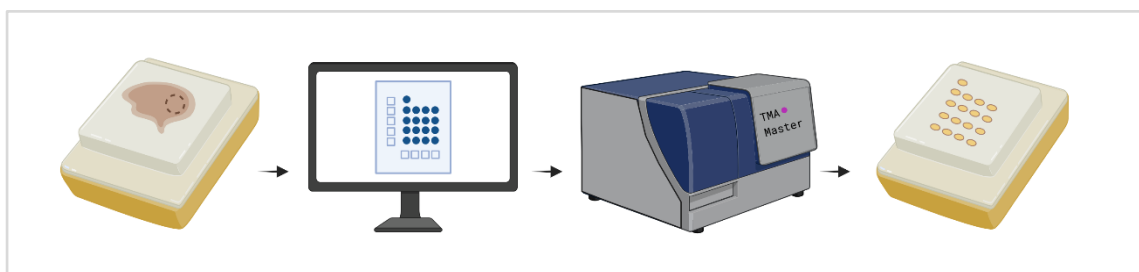


Figura 1. Proceso de selección de tejido y creación de microarreglos mediante el sistema automatizado TMA Master. Creado en <https://BioRender.com>

9.2 Inmunohistoquímica

RAD51

Se realizó inmunohistoquímica para RAD51 utilizando cortes de 4 μm obtenidos de bloques de microarreglos preparados a partir de tejido fijado en formaldehído al 10% y parafinizado. Los cortes fueron montados en laminillas con carga positiva. Se utilizó el anticuerpo monoclonal de ratón anti-RAD51 clona F11 (Santa Cruz Biotechnology), a dilución 1:50, la cual es la dilución inicial recomendada, dentro de un rango de 1:50 a 1:500. La tinción se llevó a cabo en el sistema automatizado BenchMark IHC/ISH UltraPlus, empleando el sistema de detección UltraView; el revelado se realizó con DAB y el contraste con hematoxilina. Se incluyó como control positivo una muestra de testículo no tumoral. La expresión de RAD51 se identificó como tinción citoplasmática y fue evaluada mediante microscopía de luz, clasificándose de manera ordinal con base en el porcentaje de células tumorales con tinción citoplasmática y la intensidad de la tinción.

BCL-2

Se realizó inmunohistoquímica para BCL-2 utilizando cortes de 4 µm obtenidos de bloques de microarreglos preparados a partir de tejido fijado en formaldehído al 10% y parafinizado. Los cortes fueron montados en laminillas con carga positiva. Se utilizó el anticuerpo monoclonal de ratón anti-c-BCL-2 clona 124 (VENTANA), en sistema prediluido, con concentración de aproximadamente 17 µg/mL. La tinción se llevó a cabo en el sistema automatizado BenchMark IHC/ISH UltraPlus, empleando el sistema de detección OptiView; el revelado se realizó con DAB y el contraste con hematoxilina. Se incluyeron controles positivos y negativos en cada corrida de tinción. La expresión de BCL-2 se identificó como tinción nuclear y fue evaluada mediante microscopía de luz, clasificándose de manera nominal como positiva o negativa con base en un punto de corte del 50% de células tumorales con tinción nuclear.

C-MYC

Se realizó inmunohistoquímica para c-MYC utilizando cortes de 4 µm obtenidos de bloques de microarreglos preparados a partir de tejido fijado en formaldehído al 10% y parafinizado. Los cortes fueron montados en laminillas con carga positiva. Se utilizó el anticuerpo monoclonal de conejo anti-c-MYC, clona Y69 (VENTANA), en sistema prediluido, con concentración de aproximadamente 24 µg/mL. La tinción se llevó a cabo en el sistema automatizado BenchMark IHC/ISH UltraPlus, empleando el sistema de detección OptiView; el revelado se realizó con DAB y el contraste con hematoxilina. Se incluyeron controles positivos y negativos en cada corrida de tinción. La expresión de c-MYC se identificó como tinción nuclear y fue evaluada mediante microscopía de luz, clasificándose de manera nominal como positiva o negativa con base en un punto de corte del 40% de células tumorales con tinción nuclear.

VIRUS EPSTEIN-BARR

Se realizó hibridación in situ (RISH) para la detección del virus de Epstein-Barr (VEB) utilizando cortes de 4 µm obtenidos de bloques de microarreglos preparados a partir de tejido fijado en formaldehído al 10% y parafinizado. Los cortes fueron montados en laminillas con carga positiva. Se utilizó la sonda VENTANA EBER Probe, marcada con digoxigenina (DIG), de VENTANA. La tinción se llevó a cabo en el sistema automatizado BenchMark IHC/ISH UltraPlus, empleando un sistema de detección iView blue basado en un anticuerpo monoclonal de ratón anti-DIG conjugado a peroxidasa, con amplificación por tiramida y cromógeno magenta. Se incluyeron controles positivos y negativos en cada corrida de tinción. La positividad para VEB se identificó como señal nuclear magenta y fue evaluada mediante microscopía de luz.

KI-67

Se realizó inmunohistoquímica para Ki-67 utilizando cortes de 4 µm obtenidos de bloques de microarreglos preparados a partir de tejido fijado en formaldehído al 10% y parafinizado. Los cortes fueron montados en laminillas con carga positiva. Se utilizó el anticuerpo monoclonal de conejo anti-Ki-67, clona 30-9 (VENTANA), en sistema prediluido, con concentración de aproximadamente 2 µg/mL. La tinción se llevó a cabo en el sistema automatizado BenchMark IHC/ISH UltraPlus, empleando el sistema de detección UltraView; el revelado se realizó con DAB y el contraste con hematoxilina. Se incluyeron controles positivos en cada corrida de tinción. La expresión de Ki-67 se identificó como tinción nuclear y fue evaluada mediante microscopía de luz, otorgándose un valor numérico en porcentaje con base en el total de células tumorales con tinción nuclear.



Figura 2. Proceso de elaboración simplificado de tinción con H&E y marcadores de inmunohistoquímica en el sistema Benchmark de Roche Diagnostics. Creado en <https://BioRender.com>

10. ANÁLISIS

La evaluación de la expresión de RAD51, de acuerdo con el porcentaje de células positivas y la intensidad de la tinción, se basó en el trabajo de Li et al. (2020)⁴⁶.

Se describió la expresión de RAD51 por inmunohistoquímica, clasificando los resultados en los siguientes grupos de acuerdo con el porcentaje de células positivas y a la intensidad de tinción. Se consideró como células positivas aquellas que presentaron una tinción color café según las especificaciones del fabricante del anticuerpo).

Porcentaje de células positivas: grupo 1: 0 a <1% de positividad, grupo 2: 1 a 25% de positividad, grupo 3: 26 a 50% de positividad, grupo 4: 51 a 75% de positividad, grupo 5: 76 a 100% de positividad.

Intensidad de expresión: negativo (sin tinción observable), intensidad débil, intensidad moderada, intensidad fuerte.

Porcentaje de células positivas

- 1: 0- <1 % de positividad.
- 2: 1 - 25% de positividad
- 3: 26 - 50% de positividad.
- 4: 51 - 75% de positividad.
- 5: 76% - 100% de positividad.

Intensidad de expresión

- Negativo.
- Débil.
- Moderado.
- Fuerte.

Se evaluó la expresión de BCL-2, C-MYC, EBER-RISH y Ki-67 en base a los porcentajes y categorías previamente descritos.

Todos los casos fueron evaluados por dos patólogos de manera independiente. En los casos en donde existió una discrepancia en la puntuación otorgada fueron evaluados nuevamente por los dos patólogos para lograr un consenso con la puntuación de todas las variables analizadas.

11. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

El análisis estadístico se realizó utilizando el software IBM SPSS Statistics, mediante estadística descriptiva.

Para las medidas de tendencia central se utilizaron medias y desviación estándar. El análisis estadístico de las variables demográficas se representó en tablas y gráficos. Se aplicaron pruebas de chi-cuadrada para probar la existencia de diferencias significativas según edad, género, sitio de origen de linfoma,

expresión de BCL-2, C-MYC, virus de Epstein-Barr y Ki-67, en comparación con los resultados de la expresión de RAD51.

12. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Subdirección de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Todos los bloques y laminillas recolectadas y usadas en este estudio volvieron a ser almacenados en el archivo de bloques y laminillas del Departamento de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “José Eleuterio González”, en donde continuarán siendo almacenadas según su tiempo de antigüedad. La NOM-037-SSA3-2016 establece que este tipo de material debe ser resguardado en un archivo propio del laboratorio. El Departamento de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “José Eleuterio González” almacena bloques de parafina y laminillas por 10 años y posteriormente son depurados. Únicamente se utilizaron los bloques de tejido en parafina que presentaron cantidad suficiente de muestra, de tal forma que esta no se acabó al ser utilizada en este estudio.

VIII. RESULTADOS

SEXO Y EDAD

La muestra total fue 106 sujetos, de los cuales 48 son femeninos (45.3%) y 58 son masculinos (54.7%).

La edad de los pacientes osciló entre 21 y 86 años, con una media de 60.41 años y una desviación estándar de 14.17, lo que indica que la mayoría de los pacientes se concentraron en la sexta década de la vida, con dispersión moderada.

SITIO DE PRESENTACIÓN

- 55 casos (51.9%) fueron de localización nodal
- 51 casos (48.1%) correspondieron a localización extranodal

Se observa una distribución prácticamente equitativa entre presentación nodal y extranodal.

REGIÓN ANATÓMICA DE LOS CASOS EXTRANODALES

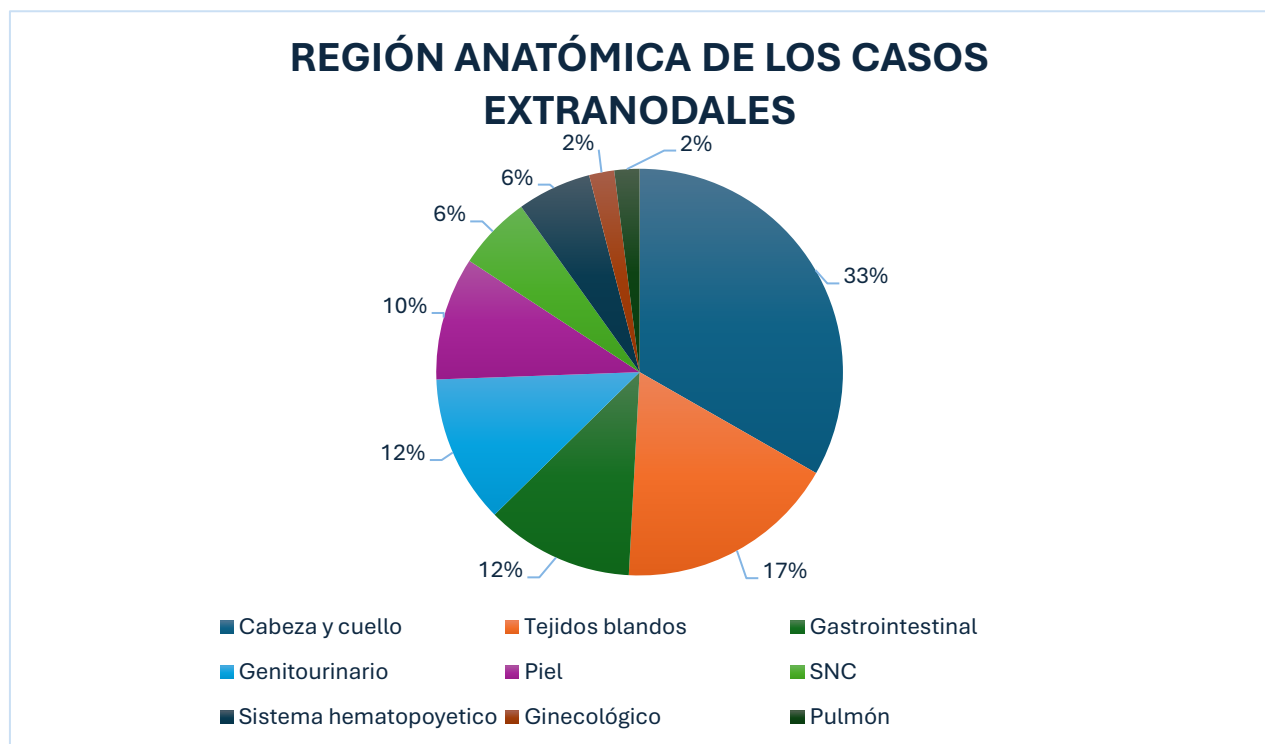


Figura 3. Distribución de las regiones anatómicas en los casos extranodales de linfoma difuso de células B grandes (n = 51).

Se observó la siguiente distribución:

- **Cabeza y cuello:** 17 casos (33.3.0%)
- **Tejidos blandos:** 9 casos (17.6%)
- **Tracto gastrointestinal:** 6 casos (11.8%)
- **Genitourinario:** 6 casos (11.8%)
- **Piel:** 5 casos (9.8%)
- **Sistema nervioso central:** 3 casos (5.9%)
- **Sistema hematopoyético:** 3 casos (5.9%)
- **Ginecológico:** 1 caso (2%)
- **Pulmón:** 1 caso (2%)

La región más frecuentemente afectada entre los casos con presentación extranodal fue cabeza y cuello, seguida de tejidos blandos y del tracto gastrointestinal y genitourinario.

EXPRESIÓN DE RAD51

De los 106 casos analizados, la expresión de RAD51 fue positiva en 102 casos (96.2%), mientras que únicamente 4 casos (3.8%) fueron negativos. La gran mayoría de los tumores en la población estudiada expresan RAD51.

Expresión RAD51	Frecuencia	Porcentaje
No	4	3.8%
Sí	102	96.2%
Total	106	100%

Tabla 2. Distribución de la expresión de RAD51 por inmunohistoquímica en el grupo de casos estudiado.

DISTRIBUCIÓN DE LOS GRUPOS SEGÚN EL PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE RAD51

- **Grupo 1:** 6 casos (5.7%)
- **Grupo 2:** 24 casos (22.6%)
- **Grupo 3:** 11 casos (10.4%)
- **Grupo 4:** 7 casos (6.6%)
- **Grupo 5:** 58 casos (54.7%)

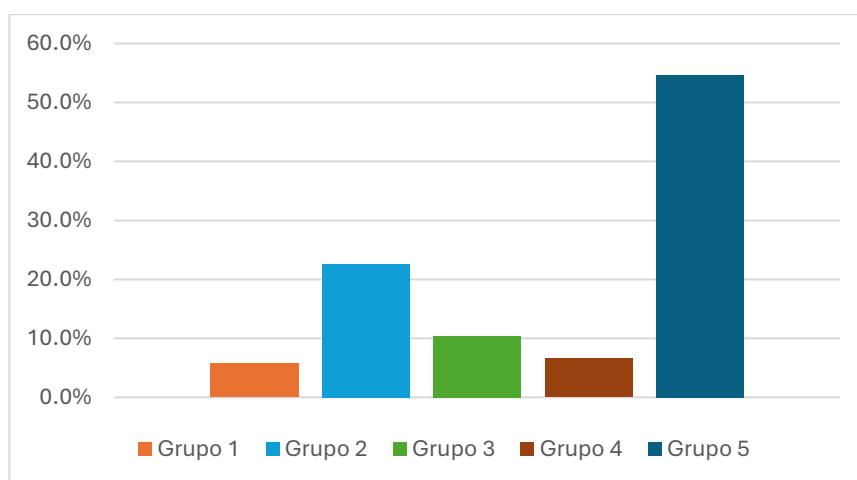


Figura 4. Distribución de los grupos según el porcentaje de expresión de RAD51.

Se observa que más de la mitad de la muestra pertenece al Grupo 5, lo que indica una distribución asimétrica con predominio de este grupo. Los grupos 1 y 4 fueron los menos representados.

DISTRIBUCIÓN DEL PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE RAD51

En los 106 casos analizados, el porcentaje de células positivas para RAD51 mostró una amplia variabilidad, con valores que oscilaron entre 0% y 100%, con

una media de 60.93% y una desviación estándar de 37.18. Esto indica una alta variabilidad interindividual, lo que sugiere que la expresión de RAD51 es heterogénea dentro de la población estudiada.

Variable	n	Mínimo (%)	Máximo (%)	Media (%)	Desviación estándar
% RAD51	106	0	100	60.93	37.18

Tabla 3. Distribución del porcentaje de expresión de RAD51 por inmunohistoquímica.

Los valores más frecuentes se encontraron en los rangos altos, particularmente:

- o 90% de expresión: 21 casos (19.8%)
- o 95% de expresión: 22 casos (20.8%)

Estos dos valores representan 40.6% de toda la muestra, lo que indica una marcada tendencia hacia una expresión elevada de RAD51 en una proporción considerable de los casos.

Valores intermedios (20–50%) fueron menos frecuentes, sumando aproximadamente 18.9% del total.

Un grupo pequeño de casos presentó baja expresión (1–10%), representando aproximadamente 19%.

La expresión nula (0%) se observó únicamente en 4 casos (3.8%), lo cual coincide con la positividad global previamente descrita (96.2%).

La expresión porcentual de RAD51 presenta una distribución asimétrica, con un claro desplazamiento hacia valores altos, reforzando que RAD51 es un marcador ampliamente expresado en la muestra estudiada.

DISTRIBUCIÓN POR GRUPO Y SEXO

La distribución de los casos por grupo mostró variaciones en cuanto al sexo:

- **Grupo 1:** 2 mujeres y 4 hombres (n = 6)
- **Grupo 2:** 9 mujeres y 15 hombres (n = 24)
- **Grupo 3:** 4 mujeres y 7 hombres (n = 11)
- **Grupo 4:** 5 mujeres y 2 hombres (n = 7)
- **Grupo 5:** 28 mujeres y 30 hombres (n = 58)

Se observa que en los grupos 1, 2, 3 y 5 predominó el sexo masculino, mientras que en el grupo 4 se observó predominio femenino, con diferencia estadísticamente no significativa entre ambos sexos ($p=0.489$). El grupo 5 concentró la mayoría de los casos de ambos sexos.

DISTRIBUCIÓN POR GRUPO Y PRESENTACIÓN NODAL/EXTRANODAL

La distribución de los casos nodales y extranodales mostró diferencias significativas entre los cinco grupos analizados. El grupo 2 presentó predominio de enfermedad extranodal (75%), mientras que los grupos 4 y 5 mostraron principalmente enfermedad nodal (71% y 60%, respectivamente). Los grupos 1 y 3 presentaron distribuciones casi equilibradas.

Grupo	Extranodal n (%)	Nodal n (%)	Total
1	3 (50.0%)	3 (50.0%)	6
2	18 (75.0%)	6 (25.0%)	24
3	5 (45.5%)	6 (54.5%)	11
4	2 (28.6%)	5 (71.4%)	7
5	23 (39.7%)	35 (60.3%)	58
Total	51 (48.1%)	55 (51.9%)	106

Tabla 4. Distribución por grupo de expresión de RAD51 y presentación nodal/extranodal.

Prueba	Valor	gl	p
Chi-cuadrada de Pearson	9.722	4	0.045
Razón de verosimilitud	10.048	4	0.040
Casos válidos	106	—	—

Tabla 5. Asociación entre los grupos de expresión de RAD51 y la presentación nodal o extranodal.

El análisis de chi-cuadrada confirmó que esta variación no fue aleatoria ($\chi^2(4) = 9.722$; $p = 0.045$), indicando una asociación significativa entre el grupo y la localización nodal/extranodal. Este hallazgo sugiere que la localización anatómica de la enfermedad difiere de manera consistente entre los grupos.

INTENSIDAD DE EXPRESIÓN DE RAD51

Intensidad de RAD51	Frecuencia	Porcentaje
Débil	51	48.1%
Moderada	34	32.1%
Fuerte	17	16.0%
Negativa	4	3.8%
Total	106	100%

Tabla 6. Intensidad de tinción de RAD51 en los casos analizados.

Se observa que la mayoría de los casos mostró expresión débil a moderada de RAD51 (80.2%), mientras que la expresión fuerte fue menos frecuente (16.0%).

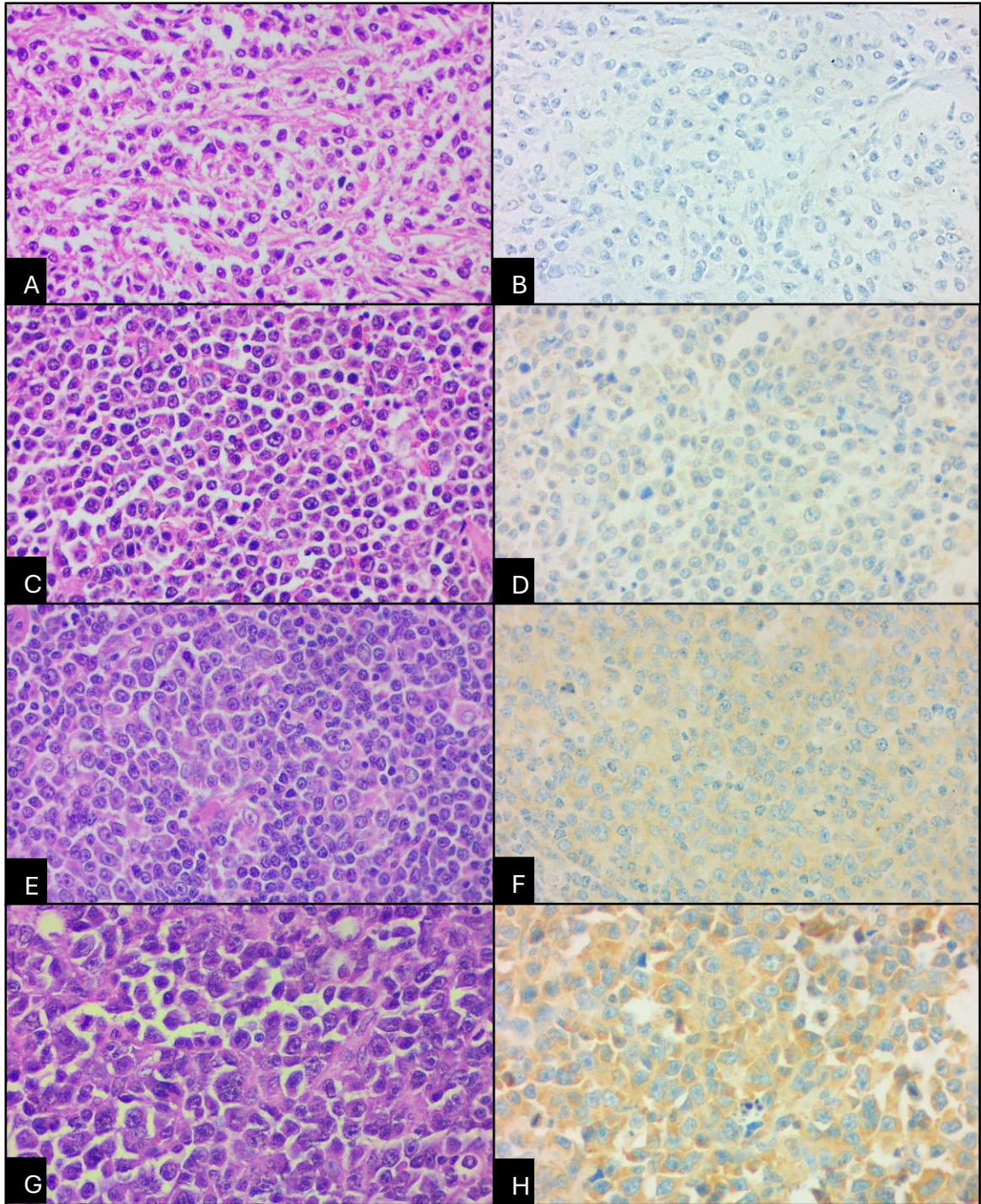


Figura 5. Intensidades de RAD51.

A, B) LDCGB negativo para RAD51 por IHQ. (40X). C, D) LDCGB con intensidad débil de RAD51 por IHQ (40X).

E, F) LDCGB con intensidad moderada para RAD51 por IHQ (40X).

G, H) LDCBG con intensidad fuerte para RAD51 por IHQ (40X).

INTEGRACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RAD51 (PORCENTAJE + INTENSIDAD)

En conjunto, la correlación entre ambas variables muestra que:

- RAD51 es altamente expresado en esta cohorte.
- Aunque la intensidad fuerte no es la más frecuente, los valores porcentuales altos ($\geq 80\%$) son comunes, lo que indica que el número de células positivas puede ser elevado aun cuando la intensidad no sea máxima.

EXPRESIÓN DE BCL-2

La expresión de BCL-2 se observó en el 59.4% de los casos (63/106).

DISTRIBUCIÓN POR GRUPO Y EXPRESIÓN DE BCL-2

Al analizar su distribución entre los grupos, no se identificó un patrón diferencial claro: todos los grupos mostraron proporciones variables de positividad para BCL-2. La prueba de chi-cuadrada no mostró una asociación significativa entre el grupo y la expresión de BCL-2 ($p = 0.876$), por lo que no se evidenció relación entre esta característica inmunofenotípica y los grupos estudiados.

Grupo	BCL-2 Negativo	BCL-2 Positivo	Total
1	3	3 (50.0%)	6
2	7	17 (70.8%)	24
3	3	8 (72.7%)	11
4	3	4 (57.1%)	7
5	27	31 (53.4%)	58
Total	43	63	106

Tabla 7. Asociación entre los grupos de RAD51 y la expresión de BCL-2.

Prueba	Valor	gl	p
Chi-cuadrada de Pearson	3.79	4	0.876
Casos válidos	106	—	—

Tabla 8. Resultados de la prueba de chi-cuadrada, No se encontró una diferencia significativa entre los grupos de RAD51 y la expresión de BCL-2 ($p = 0.876$).

EXPRESIÓN DE C-MYC

En cuanto a la expresión de c-MYC, se observó positividad en 26 casos (24.5%), mientras que 80 casos (75.5%) fueron negativos.

DISTRIBUCIÓN POR GRUPO Y EXPRESIÓN DE C-MYC

Grupo %RAD51	C-MYC Negativo	C-MYC Positivo	Total
1	6	0 (0%)	6
2	22	2 (8.3%)	24
3	9	2 (18.2%)	11
4	6	1 (14.3%)	7
5	37	21 (36.2%)	58
Total	80	26	106

Tabla 9. Asociación entre los grupos de RAD51 y la expresión de C-MYC.

Prueba	Valor	gl	p
Chi-cuadrada de Pearson	10.260	4	0.036
Razón de verosimilitud	12.229	4	0.016
Casos válidos	106	—	—

Tabla 10. Resultados de la prueba de chi-cuadrada que muestran una asociación significativa entre los grupos de RAD51 y la expresión de C-MYC ($p = 0.036$).

La expresión de C-MYC mostró una distribución heterogénea entre los grupos analizados. Mientras que los grupos 1 y 2 presentaron muy baja positividad (0–8.3%), el grupo 5 concentró la mayor proporción de casos C-MYC positivos (36.2%). La prueba de chi cuadrada evidenció una asociación significativa entre el grupo y la expresión de C-MYC ($\chi^2(4) = 10.260$; $p = 0.036$), lo que indica que los grupos superiores presentan con mayor frecuencia positividad para este marcador asociado a alto grado.

EXPRESIÓN DE EBER POR RISH

En los 106 casos analizados, la técnica de hibridación in situ para EBER (EBER-RISH) fue negativa en 92 casos (86.8%) y positiva en 14 casos (13.2%).

DISTRIBUCIÓN POR GRUPO Y EXPRESIÓN DE POSITIVIDAD PARA EBER-RISH

Grupo	EBER Negativo	EBER Positivo	Total
1	6	0 (0%)	6
2	22	2 (8.3%)	24
3	11	0 (0%)	11
4	6	1 (14.3%)	7
5	47	11 (19%)	58
Total	92	14	106

Tabla 11. Distribución entre los grupos de RAD51 y la expresión de EBER-RISH.

Prueba	Valor	gl	p
Chi-cuadrada de Pearson	4.769	4	0.312
Razón de verosimilitud	6.893	4	0.142
Casos válidos	106	—	—

Tabla 12. Análisis entre grupo de RAD51 y expresión de EBER-RISH.

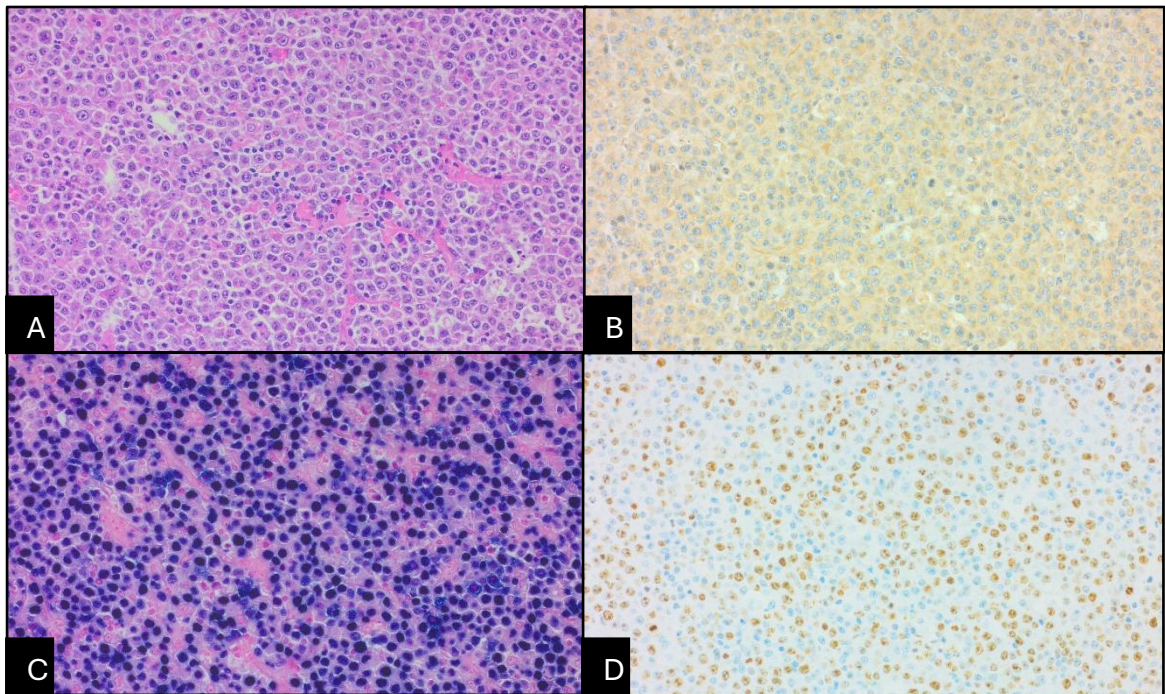


Figura 6. Caso de esta cohorte de LDCGB con mayor positividad para EBER-RISH. A) LDCBG (H&E, 40X). B) RAD51 se evaluó como positivo en el 100% de las células, con intensidad de tinción moderada (40X). C) Células positivas para EBER-RISH muestran tinción de color azul-morada (40X). D) El índice de proliferación celular Ki67 se contabilizó en 80% (40X).

La positividad para EBER-RISH se observó en el 13.2% de los casos. Al analizar la distribución por grupo, la positividad fue de 0% en los grupos 1 y 3, 8.3% en el grupo 2, 14.3% en el grupo 4 y 19.0% en el grupo 5. Aunque el grupo 5 concentró la mayor cantidad absoluta de casos positivos, los porcentajes dentro de cada grupo fueron bajos y no mostraron un patrón consistente. La prueba de chi cuadrada no demostró asociación significativa entre el grupo y la expresión de EBER-RISH ($\chi^2(4) = 4.769$, $p = 0.312$).

PORCENTAJE DE KI-67

El índice proliferativo Ki-67 presentó valores entre 10% y 100%, con una media de 67.86% y una desviación estándar de 21.53, lo que refleja en general una alta actividad proliferativa tumoral, aunque con variabilidad moderada entre los casos.

ANALISIS DE CASOS DOBLE EXPRESORES (BCL-2 Y C-MYC)

En total se identificaron 16 casos doble expresores, que corresponde al 15.1% de toda la cohorte (n = 106).

- Media de porcentaje de RAD51: 81.6%

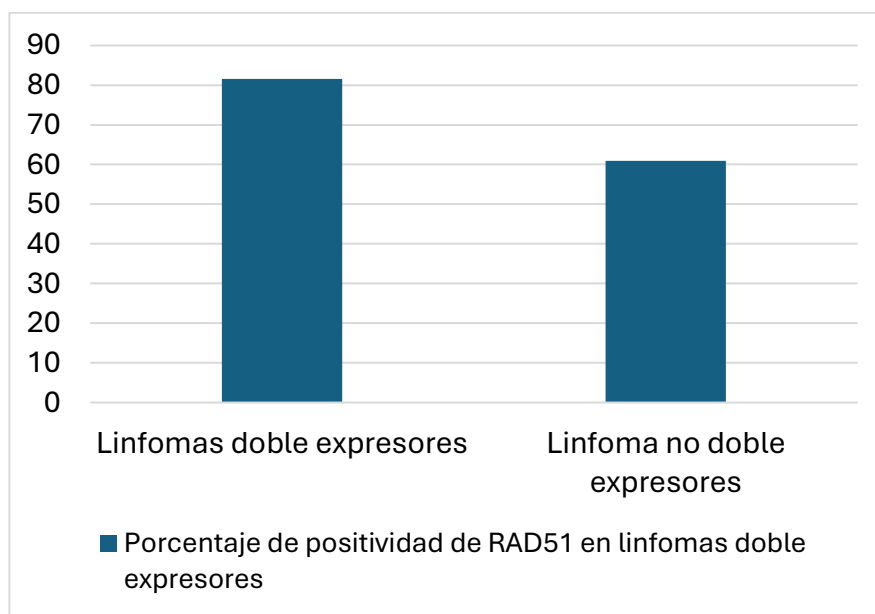


Figura 7. Porcentaje de positividad de RAD51 en linfomas doble expresores.

- Intensidad de RAD51: 69% de los linfomas doble expresores presentan RAD51 moderada o fuerte.

Intensidad	Frecuencia (n)	Porcentaje
Fuerte	7	43.8%
Moderada	4	25.0%
Débil	5	31.2%
Negativa	0	0%
Total	16	100%

Tabla 13. Intensidad de RAD51 en linfomas doble expresores.

- Índice de proliferación % Ki-67: 81.9%
- Distribución por grupo de expresión de RAD51
 - Grupo 2: 1 caso (6.2%)
 - Grupo 3: 2 casos (12.5%)
 - Grupo 5: 13 casos (81.2%)
- Distribución anatómica (nodal / extranodal): el predominio nodal resultó evidente, el tercio de casos extranodales se presentaron en SNC, sistema gastrointestinal y tejidos blandos.
 - Nodal: 11 casos (68.8%)
 - Extranodal: 5 casos (31.2%)

Se identificaron 16 casos doble expresores (C-MYC+ y BCL-2+), lo que corresponde al 15.1% de la cohorte total.

El porcentaje de células positivas para RAD51 fue significativamente mayor en los linfomas doble expresores (c-MYC+/BCL-2+) en comparación con los casos

no doble expresores. La media de % de RAD51 en los doble expresores fue de 81.6%, mientras que en el resto de la cohorte fue de 60.9%. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($t = 3.66$; $p = 0.00079$).

La intensidad de RAD51 mostró diferencias significativas entre los linfomas doble expresores y los no doble expresores. En los casos doble expresores, la intensidad fue fuerte en el 43.8%, moderada en el 25% y débil en el 31.2%, sin casos negativos. En contraste, los casos no doble expresores presentaron predominantemente intensidades débiles o moderadas. La prueba de chi-cuadrada demostró una asociación significativa entre la intensidad de RAD51 y la condición de doble expresor ($\chi^2 = 11.22$; $p = 0.024$).

Prueba	Valor	gl	p
Chi-cuadrada de Pearson	11.10	3	0.024
Casos válidos	102	—	—

Tabla 14. Asociación entre la intensidad de expresión de RAD51 y linfomas doble expresores.

De igual manera, los casos doble expresores presentaron un índice proliferativo alto (Ki-67 medio de 81.9%). La distribución anatómica mostró predominio de afectación nodal (68.8%). Estos hallazgos sugieren que los linfomas doble expresores en esta cohorte se asocian con mayor expresión de RAD51.

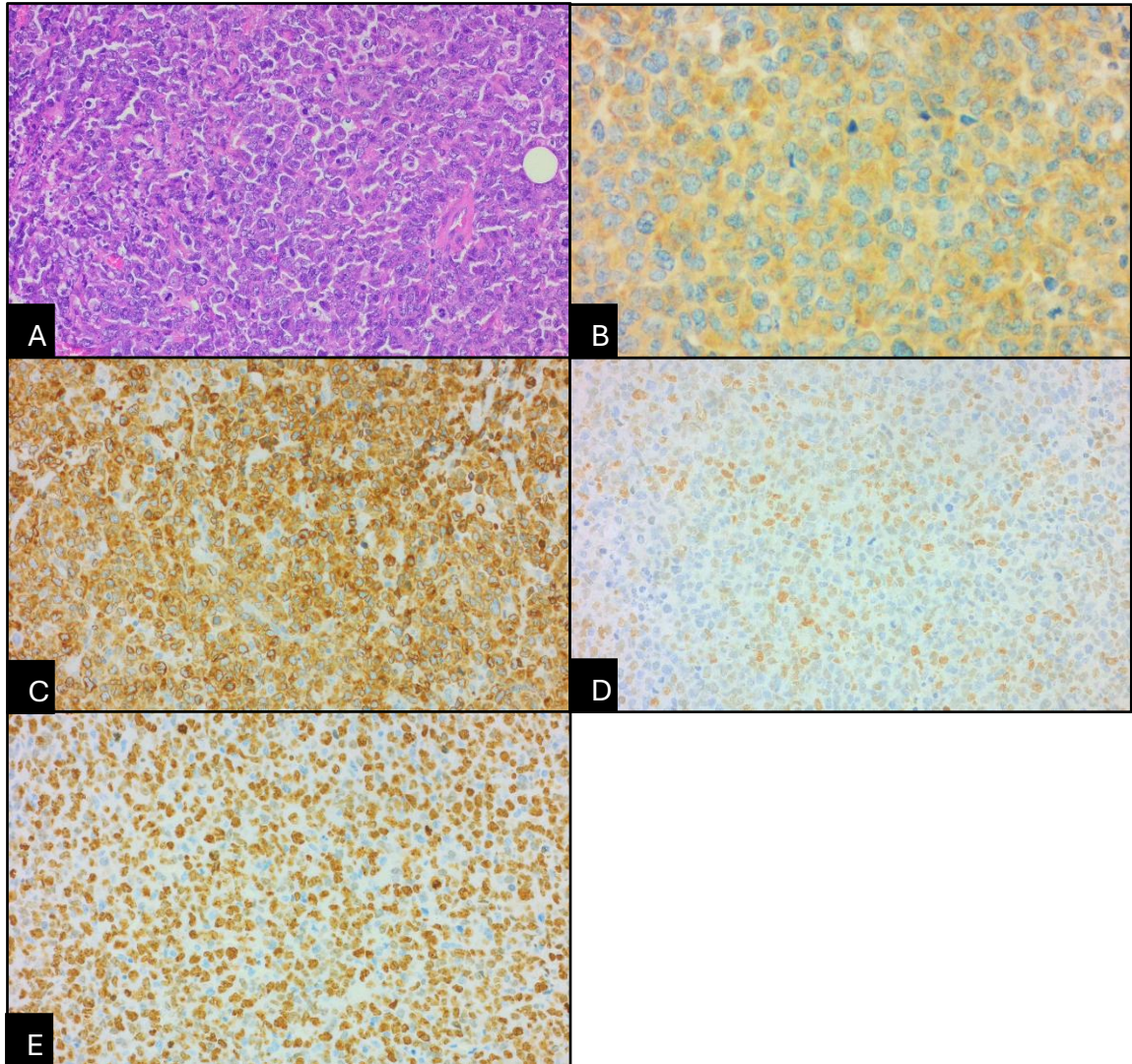


Figura 8. Caso doble expesor de BCL-2 y c-MYC. A) LDCGB (H&E 20X). B) RAD51 se evualuó como positivo en el 95% de las células, con intensidad de tinción fuerte (40X). C) Expresión difusa y fuerte de BCL-2 (20X). D) c-MYC positivo en el 40% de las células evualuadas (20X). E) El índice de proliferación celular Ki67 se contabilizó en 95% (20X).

IX. DISCUSIÓN

RAD51 es una recombinasa que juega un papel central en la reparación de las roturas de doble cadena del ADN, ya que participa directamente en la vía de recombinación homóloga. En años recientes, estudios como el de Ovejero et al. (2025)⁴⁷ han mostrado que los linfomas difusos de células B grandes dependen en gran medida de varias proteínas relacionadas con la respuesta al daño del ADN, entre ellas ATR, Chk1, WEE1 y la propia RAD51. Esta dependencia parece estar relacionada con la necesidad de las células tumorales de mantener su estabilidad y sobrevivir a los daños que se generan tanto por la alta tasa de replicación como por el efecto de algunos tratamientos quimioterapéuticos. Además, se ha visto que RAD51 puede estar sobreexpresada en distintos carcinomas, como los de próstata, mama y ovario, y que en estos tumores se ha asociado con un comportamiento más agresivo y un peor pronóstico.

El propósito de este estudio fue evaluar la expresión de RAD51 por inmunohistoquímica, ya que es una técnica accesible y, hasta ahora, existen muy pocos trabajos que describan este marcador en linfomas. En nuestra cohorte encontramos una expresión muy alta de RAD51: el 96% de los casos fueron positivos y, además, el porcentaje de células tumorales que expresaron la proteína también fue elevado (60.9% en promedio). Este hallazgo coincide con lo que se ha reportado en la literatura, donde se ha descrito una relación importante entre RAD51 y los linfomas difusos de células B grandes.

Li et al. (2020)⁴⁶ evaluó la expresión de RAD51 considerando tanto el porcentaje de células positivas como la intensidad de la tinción, y encontró que la expresión era mayor en los carcinomas escamosos poco diferenciados en comparación con los tumores bien o moderadamente diferenciados. De manera similar, en nuestro estudio observamos que la intensidad de RAD51 fue variable, incluso en aquellos tumores que presentaban un porcentaje elevado de células positivas, lo que sugiere que la cantidad de células que expresan la proteína y la fuerza con la que se expresa no siempre van de la mano.

En este estudio solo se identificaron cuatro casos negativos para RAD51 (3.8%). Dado que la literatura sugiere que la ausencia de RAD51 podría asociarse con un mejor pronóstico en algunos tumores, sería importante que futuros trabajos incluyan el seguimiento clínico de los pacientes con expresión negativa por inmunohistoquímica. Esto permitiría determinar si la falta de expresión de RAD51 realmente se relaciona con una mejor respuesta al tratamiento o con una mayor supervivencia en comparación con los casos positivos.

Los linfomas doble expresores (BCL-2+ y C-MYC+) representan entre el 10 y el 15% de los linfomas difusos de células B grandes⁴⁸ y se han asociado con un peor pronóstico en comparación con los casos que no presentan esta doble expresión. En nuestra cohorte, el 15% de los casos correspondió a este subtipo, lo cual coincide con lo reportado en la literatura. En este estudio, los doble expresores mostraron un porcentaje significativamente mayor de células positivas para RAD51, así como intensidades de tinción moderada a fuerte. Esto resulta coherente con la función intrínseca de C-MYC y BCL-2, ya que ambos genes están implicados en el aumento de la proliferación celular y en la evasión de la apoptosis.

La replicación acelerada y la resistencia a la muerte celular favorecen la supervivencia tumoral, pero también generan un aumento en el daño al ADN. En este contexto, la sobreexpresión de RAD51 puede actuar como un mecanismo que permite reparar ese daño de manera más eficiente, contribuyendo así a mantener la viabilidad de las células tumorales. La interacción funcional de RAD51 con distintos tipos de neoplasias, incluidos los linfomas, sugiere que podría convertirse en un blanco de interés para el desarrollo de terapias dirigidas en el futuro.

Esto también se observa con el marcador Ki-67, que se utiliza para estimar el índice de proliferación celular, ya que solo se expresa en células que se

encuentran activamente replicándose. En nuestra cohorte, el Ki-67 mostró una media de 67.86%, un valor que ya se considera elevado en linfomas. Este porcentaje fue aún mayor dentro del subgrupo de linfomas doble expresores, lo cual concuerda con su naturaleza biológicamente más agresiva y con la elevada actividad proliferativa que se ha descrito en este tipo de tumores.

La asociación entre los linfomas difusos de células B grandes y la infección por VEB está bien descrita⁴⁹ y existe como una entidad reconocida por la Organización Mundial de la Salud, sin embargo, distintos estudios han mostrado variabilidad en cuanto al impacto del VEB en el pronóstico, y en general se considera que su presencia no necesariamente confiere un peor desenlace clínico. En nuestra cohorte no se encontró una asociación significativa entre la positividad para EBER y la expresión de RAD51, por lo que ambos parecen comportarse como variables independientes. Es importante señalar que en todos los casos doble expresores, la prueba de EBER-RISH fue negativa.

En cuanto a las características clínicas y demográficas de la cohorte, no se identificaron patrones particulares que influyeran de manera evidente en la expresión de RAD51. La distribución por edad, sexo y localización anatómica (nodal o extranodal) fue similar a lo reportado en otras series de linfoma difuso de células B grandes, lo que sugiere que estos factores no condicionaron de manera relevante los resultados observados. Por lo tanto, la alta expresión de RAD51 y su relación con los linfomas doble expresores parecen depender más de las características biológicas del tumor que de variables clínicas basales.

A partir de los hallazgos de este estudio, RAD51 podría tener un papel potencial como marcador pronóstico en los linfomas difusos de células B grandes, especialmente en el subgrupo de linfomas doble expresores donde su sobreexpresión fue más evidente. Dado que RAD51 participa en la reparación del ADN mediante la recombinación homóloga, su actividad podría contribuir a la resistencia al daño genómico inducido por quimioterapia, lo cual abre la

posibilidad de considerarlo como un blanco terapéutico. En otros tumores ya se han explorado inhibidores de proteínas involucradas en la respuesta al daño del ADN, y RAD51 podría integrarse en esta línea de investigación, particularmente en casos con resistencia al tratamiento convencional o en pacientes con recaídas.

Este trabajo aporta nueva evidencia sobre la expresión de RAD51 en linfomas difusos de células B grandes, al evaluar de manera cualitativa y cuantitativa su comportamiento mediante inmunohistoquímica. La correlación encontrada entre RAD51 y los linfomas doble expresores añade un elemento novedoso a la comprensión de la biología de estos tumores. Aunque se requieren estudios moleculares y análisis clínicos de seguimiento para profundizar en su valor pronóstico y predictivo, este estudio representa un primer paso para considerar a RAD51 como un biomarcador relevante en esta neoplasia y como un posible punto de partida para futuras estrategias terapéuticas.

X. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Este estudio presenta varias limitaciones inherentes a su diseño retrospectivo y al hecho de haberse realizado en un solo centro. Aunque se incluyeron todos los casos disponibles que cumplieran los criterios de selección, un número considerable de ellos tuvo que ser excluido debido a la escasez de tejido remanente. Esto está relacionado con la naturaleza del linfoma y la necesidad de múltiples estudios inmunohistoquímicos durante el diagnóstico inicial, lo cual reduce de manera importante el material útil para análisis posteriores.

Asimismo, el uso de microarreglos tisulares para optimizar recursos, introduce el riesgo de obtener resultados falsos negativos. Esto es especialmente relevante para BCL-2 y C-MYC, los cuales suelen presentar una expresión heterogénea dentro del mismo tumor. Debido a ello, el cilindro seleccionado para el microarreglo puede no ser completamente representativo de la totalidad del tejido en un corte completo.

Otra limitación importante deriva del tipo de tejido evaluado. Los linfomas son altamente sensibles a defectos en la conservación, y la fijación inadecuada puede ocasionar pérdida de antígenos, lo cual afecta la interpretación inmunohistoquímica y podría subestimar la expresión de ciertos marcadores.

Adicionalmente, la evaluación de RAD51 mediante inmunohistoquímica ha sido poco descrita en la literatura, y su aplicación en neoplasias hematolinfoides es aún más limitada. Por ello, sería ideal complementar estos hallazgos con estudios moleculares que permitan corroborar la expresión y función de RAD51 en este contexto.

Finalmente, este estudio no incluyó un análisis de supervivencia de los pacientes, lo cual limita la capacidad de establecer conclusiones sobre el valor pronóstico de RAD51 y su relación con la evolución clínica.

XI. CONCLUSIONES

En conclusión, RAD51 es una proteína ampliamente expresada en los linfomas difusos de células B grandes, y su expresión es significativamente mayor en los linfomas doble expresores (C-MYC+/BCL-2+). La sobreexpresión de RAD51 en este subgrupo podría relacionarse con la biología más agresiva que caracteriza a estos tumores, dada su función en la reparación del ADN y en la supervivencia celular.

Si bien estos hallazgos sugieren un posible papel de RAD51 como marcador biológico de agresividad tumoral, será necesario correlacionar su expresión con estudios moleculares y con datos clínicos de los pacientes para determinar su valor pronóstico y su utilidad real en la práctica clínica.

Este estudio contribuye al conocimiento sobre RAD51 en el linfoma difuso de células B grandes y abre la posibilidad de explorar su papel como potencial marcador pronóstico o terapéutico en investigaciones futuras.

XII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). The structure and function of DNA. In *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26821/>

2. Goldstein, M., & Kastan, M. B. (2015). The DNA damage response: Implications for tumor responses to radiation and chemotherapy. *Annual Review of Medicine*, 66, 129–143. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-081313-121208>

3. Laurini, E., Marson, D., Fermeglia, A., Aulic, S., Fermeglia, M., & Pricl, S. (2020). Role of Rad51 and DNA repair in cancer: A molecular perspective. *Pharmacology & Therapeutics*, 208, 107492. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107492>

4. Yao, Y., & Dai, W. (2014). Genomic instability and cancer. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, 5, 1000165. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000165>

5. Ranjha, L., Howard, S. M., & Cejka, P. (2018). Main steps in DNA double-strand break repair: An introduction to homologous recombination and related processes. *Chromosoma*, 127(2), 187–214. <https://doi.org/10.1007/s00412-017-0658-1>

6. Doig, K. D., Fellowes, A. P., & Fox, S. B. (2023). Homologous recombination repair deficiency: An overview for pathologists. *Modern Pathology*, 36(3), 100049. <https://doi.org/10.1016/j.modpat.2022.100049>

7. Jiang, M., Jia, K., Wang, L., Li, W., Chen, B., Liu, Y., Wang, H., Zhao, S., He, Y., & Zhou, C. (2021). Alterations of DNA damage response pathway: Biomarker and therapeutic strategy for cancer immunotherapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(10), 2983–2994. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.01.003>

8. Hossain, M. A., Lin, Y., & Yan, S. (2018). Single-strand break end resection in genome integrity: Mechanism and regulation by APE2. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2389. <https://doi.org/10.3390/ijms19082389>

9. Caldecott, K. W. (2014). DNA single-strand break repair. *Experimental Cell Research*, 329(1), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.08.027>

10. Abbotts, R., & Wilson, D. M., III. (2017). Coordination of DNA single strand break repair. *Free Radical Biology & Medicine*, 107, 228–244. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.039>

11. Shibata, A., & Jeggo, P. A. (2014). DNA double-strand break repair in a cellular context. *Clinical Oncology*, 26(5), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2014.02.004>

12. Thompson, L. H., & Limoli, C. L. (2013). Origin, recognition, signaling and repair of DNA double-strand breaks in mammalian cells. In *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]. Landes Bioscience. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6555/>

13. Kieffer, S. R., & Lowndes, N. F. (2022). Immediate-early, early, and late responses to DNA double stranded breaks. *Frontiers in Genetics*, 13, 793884. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.793884>
14. Jackson, S., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461, 1071–1078. <https://doi.org/10.1038/nature08467>
15. Gartner, A., & Engebrecht, J. (2022). DNA repair, recombination, and damage signaling. *Genetics*, 220(2), iyab178. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyab178>
16. Stinson, B. M., & Loparo, J. J. (2021). Repair of DNA double-strand breaks by the nonhomologous end joining pathway. *Annual Review of Biochemistry*, 90, 137–164. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-080320-110356>
17. De Bragança, S., Dillingham, M. S., & Moreno-Herrero, F. (2023). Recent insights into eukaryotic double-strand DNA break repair unveiled by single-molecule methods. *Trends in Genetics*, 39(12), 924–940. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.09.004>
18. Scully, R., Panday, A., Elango, R., & Willis, N. A. (2019). DNA double-strand break repair–pathway choice in somatic mammalian cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(11), 698–714. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0152-0>

19. Orhan, E., Velazquez, C., Tabet, I., Sardet, C., & Theillet, C. (2021). Regulation of RAD51 at the Transcriptional and Functional Levels: What Prospects for Cancer Therapy?. *Cancers*, 13(12), 2930. <https://doi.org/10.3390/cancers13122930>
20. Wassing, I. E., & Esashi, F. (2021). RAD51: Beyond the break. *Seminars in cell & developmental biology*, 113, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.08.010>
21. Ma, C. J., Gibb, B., Kwon, Y., Sung, P., & Greene, E. C. (2017). Protein dynamics of human RPA and RAD51 on ssDNA during assembly and disassembly of the RAD51 filament. *Nucleic acids research*, 45(2), 749–761. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1125>
- 22.- Sullivan, M. R., & Bernstein, K. A. (2018). RAD-ical New Insights into RAD51 Regulation. *Genes*, 9(12), 629. <https://doi.org/10.3390/genes9120629>
- 23.- Tilsed, C. M., Fisher, S. A., Nowak, A. K., Lake, R. A., & Lesterhuis, W. J. (2022). Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Frontiers in oncology*, 12, 960317. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.960317>
- 24.- Silva, A. S., & Gatenby, R. A. (2010). A theoretical quantitative model for evolution of cancer chemotherapy resistance. *Biology direct*, 5, 25. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-5-25>

- 25.- Vasan, N., Baselga, J., & Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782), 299–309. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-173>
- 26.- Schild D, Wiese C. Overexpression of RAD51 suppresses recombination defects: a possible mechanism to reverse genomic instability. *Nucleic Acids Res.* 2010 Mar;38(4):1061-70. doi: 10.1093/nar/gkp1063.
- 27.- Klein HL. The consequences of Rad51 overexpression for normal and tumor cells. *DNA Repair (Amst)*. 2008 May 3;7(5):686-93. doi: 10.1016/j.dnarep.2007.12.008.
- 28.- Wilhelm Henning, Horst-Werner Stürzbecher, Homologous recombination and cell cycle checkpoints: Rad51 in tumour progression and therapy resistance. *Toxicology*. Volume 193, Issues 1–2, 2003 Pages 91-109. Doi:10.1016/S0300-483X(03)00291-9.
- 29.- Maacke, H., Opitz, S., Jost, K., Hamdorf, W., Henning, W., Krüger, S., Feller, A. C., Lopens, A., Diedrich, K., Schwinger, E., & Stürzbecher, H. W. (2000). Overexpression of wild-type Rad51 correlates with histological grading of invasive ductal breast cancer. *International journal of cancer*, 88(6), 907–913. [https://doi.org/10.1002/1097_0215\(20001215\)88:6<907::aid-ijc11>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/1097_0215(20001215)88:6<907::aid-ijc11>3.0.co;2-4)
- 30.- Maacke, H., Jost, K., Opitz, S., Miska, S., Yuan, Y., Hasselbach, L., Lüttges, J., Kalthoff, H., & Stürzbecher, H. W. (2000). DNA repair and recombination factor Rad51 is over-expressed in human pancreatic adenocarcinoma. *Oncogene*, 19(23), 2791–2795. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203578>

31.- Wang, Z., Jia, R., Wang, L., Yang, Q., Hu, X., Fu, Q., Zhang, X., Li, W., & Ren, Y. (2022). The Emerging Roles of Rad51 in Cancer and Its Potential as a Therapeutic Target. *Frontiers in oncology*, 12, 935593. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.935593>

32.- Azzoni, V., Wicinski, J., Macario, M. et al. BMI1 nuclear location is critical for RAD51-dependent response to replication stress and drives chemoresistance in breast cancer stem cells. *Cell Death Dis* 13, 96 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04538-w>

33.- Rollinson, S., Smith, A. G., Allan, J. M., Adamson, P. J., Scott, K., Skibola, C. F., Smith, M. T., & Morgan, G. J. (2007). RAD51 homologous recombination repair gene haplotypes and risk of acute myeloid leukaemia. *Leukemia research*, 31(2), 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2006.05.028>

34.- Yang, M., Tian, X., Fan, Z., Yu, W., Li, Z., Zhou, J., Zhang, W., & Liang, A. (2019). Targeting RAD51 enhances chemosensitivity of adult T cell leukemia lymphoma cells by reducing DNA double strand break repair. *Oncology reports*, 42(6), 2426–2434. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7384>

35.- Mansoor, A., Kamran, H., Rizwan, H., Akhter, A., Roshan, T. M., Shabani-Rad, M. T., Bavi, P., & Stewart, D. (2024). Expression of "DNA damage response" pathway genes in diffuse large B-cell lymphoma: The potential for exploiting synthetic lethality. *Hematological oncology*, 42(1), e3225. <https://doi.org/10.1002/hon.3225>

36.- Padala, S. A., & Kallam, A. (2023). Diffuse large B-cell lymphoma. En StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557796/>

37.- Sehn, L. H., & Salles, G. (2021). Diffuse large B-cell lymphoma. *New England Journal of Medicine*, 384(9), 842-858. DOI:10.1056/NEJMra2027612.

38.- Fernández-Rañada J. M. Linfoma difuso de celula grande B. *Real Academia Nacional de Medicina de España; An RANM*· Año 2020· Número 137(01):27-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.32440/ar.2020.137.01.rev03>

39.- Crombie, J. L., & Armand, P. (2019). Diffuse Large B-Cell Lymphoma and High-Grade B-Cell Lymphoma: Genetic Classification and Its Implications for Prognosis and Treatment. *Hematology/oncology clinics of North America*, 33(4), 575–585. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2019.03.001>

40.- Chapuy, B., Stewart, C., Dunford, A. J., Kim, J., Kamburov, A., Redd, R. A., Lawrence, M. S., Roemer, M. G. M., Li, A. J., Ziepert, M., Staiger, A. M., Wala, J. A., Ducar, M. D., Leshchiner, I., Rheinbay, E., Taylor-Weiner, A., Coughlin, C. A., Hess, J. M., Pedamallu, C. S., Livitz, D., ... Shipp, M. A. (2018). Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nature medicine*, 24(5), 679–690. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0016-8>

41.- Alduaij, W., Collinge, B., Ben-Neriah, S., Jiang, A., Hilton, L. K., Boyle, M., Meissner, B., Chong, L., Miyata-Takata, T., Slack, G. W., Farinha, P., Craig, J. W.,

Lytle, A., Savage, K. J., Villa, D., Gerrie, A. S., Freeman, C. L., Gascoyne, R. D., Connors, J. M., Morin, R. D., ... Scott, D. W. (2023). Molecular determinants of clinical outcomes in a real-world diffuse large B-cell lymphoma population. *Blood*, 141(20), 2493–2507. <https://doi.org/10.1182/blood.2022018248>

42.- Abdulla, M., Hollander, P., Pandzic, T., Mansouri, L., Ednersson, S. B., Andersson, P. O., Hultdin, M., Fors, M., Erlanson, M., Degerman, S., Petersen, H. M., Asmar, F., Grønbaek, K., Enblad, G., Cavelier, L., Rosenquist, R., & Amini, R. M. (2020). Cell-of-origin determined by both gene expression profiling and immunohistochemistry is the strongest predictor of survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *American journal of hematology*, 95(1), 57–67. <https://doi.org/10.1002/ajh.25666>

43.- Riedell, P. A., & Smith, S. M. (2018). Double hit and double expressors in lymphoma: Definition and treatment. *Cancer*, 124(24), 4622–4632. <https://doi.org/10.1002/cncr.31646>

44.- Hashmi, A. A., Iftikhar, S. N., Nargus, G., Ahmed, O., Asghar, I. A., Shirazi, U. A., Afzal, A., Irfan, M., & Ali, J. (2021). Double-Expressor Phenotype (BCL-2/c-MYC Co-expression) of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Its Clinicopathological Correlation. *Cureus*, 13(2), e13155. <https://doi.org/10.7759/cureus.13155>

45.- Liu, Y., & Barta, S. K. (2019). Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *American journal of hematology*, 94(5), 604–616. <https://doi.org/10.1002/ajh.25460>

46.- Li, Y., Li, J., Sun, J., Liu, Y., Liu, D., Du, L., Wang, B., & Liu, W. (2020). Expression of RAD51 and Its Clinical Impact in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Analytical cellular pathology* (Amsterdam), 2020, 1827676. <https://doi.org/10.1155/2020/1827676>

47. Ovejero, S., Devin, J., Alibert, L., Soun, C., Lin, Y. L., Dutrieux, L., Abouladze, M., Garcia de Paco, E., Karmous Gadacha, O., Constantinou, A., Cartron, G., Herbaux, C., Elemento, O., Pasero, P., Roulland, S., Moreaux, J., & Bret, C. (2025). Synthetic Lethal Combinations of DNA Repair Inhibitors and Genotoxic Agents to Target High-Risk Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Hematological oncology*, 43(5), e70131. <https://doi.org/10.1002/hon.70131>

48.- Naseem, M., Asif, M., Khadim, M. T., Ud-Din, H., Jamal, S., & Shoaib, I. (2020). The Frequency of Double Expresser in Selected Cases of High Grade Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 21(4), 1103–1107. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.4.1103>