



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ

Frecuencia de alelos de los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ en pacientes con Hiperplasia Epitelial Multifocal por infección del virus del papiloma humano en comparación con referentes históricos.

TESIS:
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA

PRESENTA:
PAULINA FERNÁNDEZ RUEDA

TUTOR PRINCIPAL:
DRA. LORENA LAMMOGLIA ORDIALES

MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA,
INVESTIGADOR TITULAR EN DERMATOLOGÍA,
HOSPITAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ". CIUDAD DE MÉXICO.

CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO DE 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

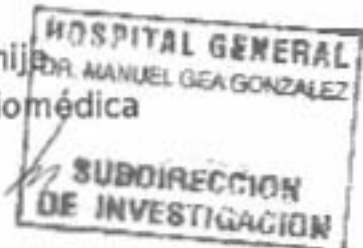
HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ

AUTORIZACIONES

Dr. Octavio Sierra Martínez
Director de Enseñanza e Investigación



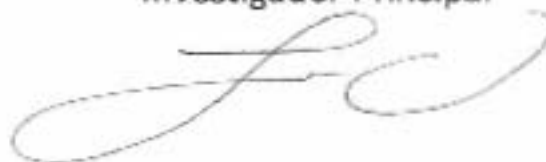
Dra. María Elisa Vega Memije
Subdirectora de Investigación Biomédica



Dra. María Teresa Kumiko Hojyo Tomoka
Jefa de la División de Dermatología



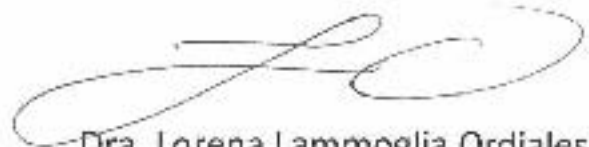
Dra. Lorena Lammoglia Ordiales
Investigador Principal



Este trabajo de tesis con No. 06-82-2015, presentado por la alumna Paulina Fernández Rueda se presenta en forma con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis Dra. Lorena Lammoglia Ordiales, con fecha 21 de julio de 2016 para su impresión final.



Dra. María Elisa Vega Memije
Subdirectora de Investigación Biomédica



Dra. Lorena Lammoglia Ordiales
Investigador Principal

Este trabajo fue realizado en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en el Servicio de Dermatología bajo la dirección de la Dra. Lorena Lammoglia Ordiales con apoyo de la Dra. María Elisa vega Memije.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a toda mi familia, hermanos, abuelos, tíos, primos y a mi sobrina Valentina que fueron una fuente de apoyo constante e incondicional en toda mi vida y más aún en mis duros años de carrera profesional. En especial a mis padres ya que sin su ayuda no hubiera sido posible llegar a donde he llegado y a mi abuelo, el Dr. Fernando Rueda, por ser mi ejemplo a seguir desde que entré a la Facultad de Medicina hace ya 10 años. A mi novio Mario, quien ya es parte de mi familia, me ha acompañado en esta etapa tan difícil y me apoya tanto en los buenos como en los malos momentos. Gracias a mis amigos y compañeros de trabajo por ser mi segunda familia y apoyo en este proyecto.

Agradezco de manera muy especial a quienes participaron en este proyecto. A la Dra. Lorena Lammoglia Ordiales, mi asesora de tesis, por su apoyo, sus consejos, por presionarme para terminar a tiempo este proyecto y por el tiempo dedicado a corregir mis errores. Al Dr. Julio Granados Arriola por sus enseñanzas sobre inmunología. A Lula Mena por acompañarme, ayudarme y compartir este proyecto tan importante para ambas. A la Dra. María del Refugio González Losa por el apoyo con la identificación de VPH-13 y transmitirme su amplia experiencia sobre el mismo en la población de Yucatán. Al Dr. José Cerón Espinosa y la Dra. Nixma Eljure por recibirme durante un mes en el Centro Dermatológico de Yucatán en donde aprendí mucho sobre las peculiaridades de los pacientes de la península y gracias a ello fue más fácil realizar el trabajo de campo.

Muchísimas gracias al todo el equipo de trabajo de campo, ya que sin su apoyo el tiempo invertido en los viajes a las comunidades hubiera sido mucho mayor y los viajes no hubieran sido tan amenos. A María José Canto Avilés, trabajadora social del Centro Dermatológico de Yucatán por ayudarme a planear los viajes y ser tan organizada. Al Dr. Victor Manuel Alemán Vivas y la Dra. Lisa Maurén Almeida Echavarría, ambos odontólogos del Centro Dermatológico de Yucatán con amplia experiencia diagnosticando y tratando pacientes con Enfermedad de Heck tanto en el Centro Dermatológico como comunidades rurales. A Félix Renan Caamal Cocom, enfermero de San Francisco Tinum, y Maricruz, enfermera de Yaxhachen, por el recibimiento tan cálido, el apoyo para la toma de muestras y en ocasiones incluso la traducción de maya a español y viceversa.

Y finalmente me gustaría hacer un agradecimiento muy especial al Dr. Jorge Tiburcio y su esposa Isabel Tello que me apoyaron incondicionalmente durante mi estancia en Mérida, tanto en las cosas cotidianas como en mi trabajo de campo, ellos saben que sin su apoyo no hubiera sido posible terminar este proyecto.

Frecuencia de alelos de los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ en pacientes con Hiperplasia Epitelial Multifocal por infección del virus del papiloma humano en comparación con referentes históricos.

Fernández-Rueda Paulina¹, Granados-Arriola Julio², Mena-Hernández Lourdes³, Cerón-Espinosa José⁴, González-Losa María R.⁵, Lammoglia-Ordiales Lorena⁶

¹ Médico Residente de Tercer año de Dermatología, Hospital “Dr. Manuel Gea González”. Ciudad de México.

² Investigador titular F del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel III. Ciudad de México.

³ Médico Pasante de Servicio Social en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubirán. Universidad Autónoma de Aguascalientes.

⁴ Director del Centro Dermatológico de Yucatán. Mérida, Yucatán.

⁵ Investigadora del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán.

⁶ Médico adscrito al Departamento de Dermatología, Investigador titular en Dermatología, Hospital “Dr. Manuel Gea González”. Ciudad de México.

Contacto:

Dra. Lorena Lammoglia-Ordiales Médico adscrito al Departamento de Dermatología, Investigador titular en Dermatología, Hospital “Dr. Manuel Gea González”. Ciudad de México.

Teléfono: 4000 3145

Correo electrónico: dra.lammoglia@gmail.com

RESUMEN

Objetivos: Determinar la frecuencia de alelos de los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ en pacientes con Hiperplasia Epitelial Multifocal (HEM) por infección del virus del papiloma humano (VPH) en comparación con referentes históricos; y de manera secundaria describir las manifestaciones clínica de estos pacientes.

Diseño: Es un estudio observacional analítico, abierto, prospectivo y transversal.

Lugar: Dos comunidades rurales de Yucatán, México.

Pacientes: Treinta y tres pacientes mestizos mexicanos con diagnóstico clínico de HEM estudiados en noviembre 2015. El grupo control se tomó de referentes históricos que corresponden al HLA de Pacientes mestizos mexicanos no relacionados pareados étnicamente con el grupo de estudio.

Principales mediciones: Se realizó interrogatorio, exploración física con toma de fotografía clínica, identificación de VPH-13 en células de mucosa oral y tipificación de HLA en células mononucleares de sangre periférica.

Resultados: El sexo más afectado fue el femenino (58%). El 76% de los pacientes refieren tener familiares afectados. La topografía más frecuente fue el labio inferior (94%). La morfología predominante era oval, con superficie lisa y del color de la mucosa adyacente; todos tenían lesiones múltiples y el 36% formaban patrón en “empedrado”. Se detectó VPH-13 el 88% de nuestros pacientes. Se encontró HLA-DRB1*0411 en 52 de los 66 alelos, lo cual representa el 78% y se encuentra elevado de manera significativa en pacientes con HEM en comparación con los controles ($P < 0.0001$; OR 189; intervalo de confianza del 95% de 78-459).

Conclusiones: Las características clínicas, demográficas y frecuencia de VPH-13 en los pacientes incluidos en este estudio son similares a las encontradas por otros autores. Encontramos una asociación estadísticamente significativa entre HEM y HLA-DRB1*0411, la cual confiere a la población estudiada un mayor riesgo de padecer la enfermedad con una razón de momios de 189, la cual es mayor a lo encontrado por otros autores (OR 3.9).

ABSTRACT

Objectives: To determine gene frequencies of HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DP and HLA-DQ in patients with focal epithelial hyperplasia (FEH) and compare them with those present in historical references, as well as to identify VPH-13 and describe clinical manifestations in this population.

Design: Prospective and cross-sectional, open, observational and analytic study.

Setting: Two rural communities in Yucatán, México.

Patients: Thirty three mexican mestizo with clinical diagnosis of FEH seen in november 2015. The control group were ethnically matched healthy subjects taken from historical references.

Main outcome Measures: We performed interrogatory, physical exploration, clinical photography, VPH-13 identification in oral mucosa cells and HLA typing from peripheral blood mononuclear cells.

Results: Women were most frequently affected (58%). Seventy six percent of patients had family members with FEH. The most frequent topography was lower lip (94%). Predominant morphology was oval, smooth and same color of adjacent mucosa, all of them had multiple oral lesions and 36% formed cobblestone pattern. VPH-13 was detected in 88% of our patients. We found HLA-DRB1*0411 in 52 of the 66 alleles, wich represents 78% and was significantly increased in patients with FEH when compared with controls ($P < 0.0001$; OR 189; 95% confidence interval, 78-459).

Conclusions: Clinical and demographical features as well as VPH-13 frequency seen in this study are similar to those seen by other authors. We found a significant association between FEH and HLA-DRB1*0411, which confers studied population a greater risk of developing the disease with an odds ratio of 189, a lot higher than reported by other authors (OR, 3.9)

INTRODUCCIÓN

La Hiperplasia Epitelial Multifocal (HEM),¹ también llamada Enfermedad de Heck², Hiperplasia Epitelial Focal (HEF),³ Hiperplasia multifocal del epitelio,⁴ o Hiperplasia epitelial multifocal por papiloma virus;⁵ es una enfermedad proliferativa de la mucosa oral, de curso benigno, poco común, que generalmente se presenta en niños, asociada a infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH) subtipos 13 y 32.^{3,6}

Su prevalencia es muy variable, desde 0.002% hasta 35% de acuerdo a la geografía,^{7,8} siendo más frecuente en comunidades de americanos nativos, esquimales Inuits^{6,9,10} y africanos.⁶ En México, se han reportado prevalencia de 0.026% hasta 0.1%.¹

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) está localizado en el brazo corto del cromosoma 6 y se divide en 3 clases: clase I (HLA-A, B y C), clase II (HLA-DR, DP y DQ) y clase III (codifica el factor de necrosis tumoral, genes del complemento entre otros). Estos genes codifican proteínas involucradas en la respuesta inmune adquirida, la cual juega un papel importante en la regresión de las verrugas. En un estudio realizado en el Hospital general Dr. Manuel Gea González se encontró que el HLA-DR3 y DR9 confieren susceptibilidad para infección cutánea por VPH, mientras que el HLA-DR6 es un factor protector.⁹

En el mismo hospital se encontró asociación de Enfermedad de Heck con el alelo HLA-DR4 (DRB1 *0404),³ el cual es relativamente común en población indígena de México (Mazatecas, Nahuas y mestizos mexicanos),¹⁰ Guatemala y Colombia.⁶ Se propone que el alelo HLA-DR4, el cual codifica para el Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase II, se asocia a aumento en la susceptibilidad a infección por VPH 13 y 32, y en particular VPH13.¹⁰

Es más frecuente en mujeres con una relación casi de 5:1.^{6,7,10} Generalmente se presenta durante la infancia y adolescencia, entre los 3 y 18 años de edad pero ocasionalmente afecta adultos jóvenes y de mediana edad.^{6,11}

Se ha detectado ADN de VPH en el 80.3% de las lesiones de Enfermedad de Heck por técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*, Reacción en Cadena de la Polimerasa).¹² En la literatura mundial se ha asociado a infección por VPH 13 y 32⁷ hasta en el 90% de los casos.^{6,7,10} En nuestra población se ha descrito asociación del 85% de los casos con VPH 13 y ningún caso asociado a VPH 32.³

La topografía más frecuentemente afectada es el labio inferior, otras menos frecuentes son: labio superior, bordes laterales de lengua, mucosa bucal y comisuras labiales.⁶ La mucosa adherida, paladar blando y orofaringe son sitios que normalmente están respetados.^{5,6} Clínicamente se presenta como una estomatosis bilateral⁵ constituida por múltiples neoformaciones asintomáticas, de aspecto papular, bien delimitadas, de 3-10 mm, consistencia suave, color variable (desde el color de la mucosa adyacente hasta blanco), que al confluir forman placas con aspecto en “empedrado” o fisurado.^{7,8,10,11} Por lo anterior se prefiere el término “multifocal” en lugar de “focal” para nombrar a esta enfermedad.^{4,5} Es muy característico que al estirar la mucosa oral las lesiones tienden a desaparecer, y al disminuir la tensión las lesiones re-aparecen.⁴

Existen 2 variedades clínicas: papulonodular y papilomatosa. La primera es la variedad más frecuente y se localiza predominantemente en mucosa bucal, labial y comisuras.⁷ La segunda es menos frecuente y se localiza en mucosa masticatoria (lengua y encía no móvil).⁷

El diagnóstico puede realizarse, en ausencia de tipificación de VPH, al observar en un paciente con el origen étnico antes mencionado las lesiones orales características, y ausencia de datos de abuso sexual.¹⁰

En el estudio histopatológico se observa proliferación de células epiteliales, papilomatosis e hiperparaqueratosis, acantosis importante con procesos interpapilares gruesos y anastomosados

horizontalmente que se encuentran al mismo nivel que la piel normal.^{7,13,14} Las “figuras mitosoides” son la característica distintiva de esta patología,¹⁵ representan degeneración nuclear y cariorrexis debidas a la infección por VPH.^{7,10} Se puede realizar identificación y tipificación de VPH 13 y 32 en el tejido.¹³

El curso es benigno, con crecimiento lento, sin riesgo de transformación maligna.^{4,7} Presenta regresión espontánea sin tratamiento quirúrgico⁷ en aproximadamente 18 meses¹⁰ o algunos años, pero en ocasiones tienen mayor duración.⁶

Dentro de los diagnósticos diferenciales se encuentran condilomas acuminados, verrugas virales, neuromas mucosos, nevo blanco esponjoso, papilomatosis oral florida e hiperplasia epitelial difusa en masticadores de tabaco.⁶ Por ser una patología frecuente en pacientes jóvenes es importante interrogar contacto sexual ya sea con consentimiento o sin él.^{6,10}

El tratamiento es difícil² y no es necesario⁶ pero generalmente se realiza por cuestiones cosméticas y en algunos casos por mordeduras por interferencia con la masticación o de la oclusión.² Se ha reportado que los métodos destructivos o ablativos como electrocirugía, criocirugía, cirugía, ácido tricloroacético, LÁSER CO₂, podofilina 25% e interferón intralesional se asocian a altas tasas de recurrencia.^{1,2,6,10} Con el LÁSER se no se ha reportado recurrencia a los 18 meses de seguimiento.¹ Otros tratamientos reportados son: suplementos vitamínicos (por ejemplo vitamina A), retinoides orales, imiquimod y antivirales como el metisoprinol.^{1,2}

Se observa la aparición de hiperplasia epitelial multifocal en individuos genéticamente susceptibles, especialmente en individuos homocigotos para el alelo HLA- DR (subtipo DR-0404). El propósito de este estudio es identificar la relación de la hiperplasia epitelial multifocal con los demás haplotipos del HLA, y acercarnos a la traducción inmunológica de este fenómeno complejo, involucrándose las respuestas inmunológicas clase I y clase II.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional analítico, abierto, prospectivo y transversal en pacientes de dos comunidades rurales de Yucatán (México) con diagnóstico de Hiperplasia Epitelial Multifocal.

Se incluyeron pacientes mestizos mexicanos (nacidos en México al igual que sus últimas 2 generaciones) con diagnóstico clínico de HEM. El grupo control se tomó de referentes históricos que corresponden al HLA de Pacientes mestizos mexicanos no relacionados pareados étnicamente con el grupo de estudio (56% genes nativos amerindios, 40% de genes raza blanca y 4% de raza negra) disponibles en el Departamento de Trasplantes y División de Inmunogenética, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán en México, D.F. Se excluyeron del estudio lo pacientes con algún ancestro nacido fuera del país, pacientes que no desearon participar en el estudio y se eliminaron del estudio los pacientes con muestra era insuficiente para la extracción del DNA

Se realizó el interrogatorio y exploración física. Posteriormente se tomó una muestra de células de mucosa oral frotando vigorosamente con cepillo citológico (citobrush), el cual se incluyó en un tubo con etanol al 50% (el cual puede permanecer a temperatura ambiente de manera indefinida hasta la realización de la técnica de PCR). Así mismo se tomó una muestra de 4 ml de sangre para determinación del HLA por punción de vena periférica (la cual permaneció a 4°C hasta el momento de extracción del ADN).

Identificación de VPH-13

Previo a la detección de VPH se procedió a liberar el Ácido desoxirribonucléico (ADN) total usando un kit comercial (Dneasy Blood and Tissue Kit, QIAGEN) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Todas las muestras fueron evaluadas por PCR usando iniciadores β -globin GH20 y PCO4 para confirmar la presencia de ADN de buena calidad.¹⁵ La presencia de ADN de VPH se determinó por PCR

con iniciadores específicos (iniciador directo 5-AAATCCCAGCAGAATTATAT-3; iniciador inverso 5-AAAGAGATGATGTAGTGGC-3) que amplifican 240 pb del gen L1 de acuerdo a la técnica descrita por Cuberos (2006).¹⁶ Se realizó la PCR en 50µl de mezcla de reacción que contienen 1x de buffer de PCR, 3 mM MgCl₂, 200µM dNTPs, 50 pmol de cada cebador y 1.0 unidad de *Taq* polimerasa (Invitrogen). El esquema de amplificación que se utilizó fue el siguiente: desnaturalización inicial. 94°C por 4min (1 ciclo), desnaturalización: 94°C por 30seg (38 ciclos), alineamiento: 50°C por 30seg (38 ciclos), elongación: 72°C por 30seg (38 ciclos), elongación final: 72°C por 10min (1 ciclo). Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en un gel de acrilamida al 8% y se tiñeron con plata, fueron revelados y visualizados por exposición a luz blanca. Como control positivo se utilizaron muestras previamente tipificadas para VPH-13, como control negativo se utilizaron en todas las reacciones la mezcla de PCR sin ADN.

Tipificación de los alelos de HLA

El DNA genómico se extrajo a partir de las células mononucleares utilizando la técnica de expulsión salina y Proteinasa K. La identificación de los polimorfismos de los genes del MHC se realizó mediante la técnica de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO) posterior a la amplificación del DNA con la técnica de PCR. Para los locus se llevó a cabo mediante el estuche comercial Tepnel-Luminex SSO (del inglés, single stranded oligonucleotide). Se realizó tipificación de HLA de alta resolución por hibridación dot-blot del DNA amplificado con sondas de oligonucleótidos específicos de secuencia marcadas con digoxigenina dideoxiuridina trifosfato. La información sobre la secuencia del HLA-DR se obtuvo del 16º taller internacional de HLA e inmunogenética (16th International HLA and Immunogenetics Workshop, IHIW).

Por motivos económicos no pudo realizarse tipificación de HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP y HLA-DQ, sin embargo planeamos completar el estudio en cuanto sea posible.

Análisis estadístico

Para caracterizar a la población se utilizó estadística descriptiva. Se utilizaron pruebas no paramétricas para el análisis estadístico de los alelos HLA y tipificación de VPH. Las frecuencias génicas fueron comparadas entre pacientes y controles (referentes históricos) cuya significancia se analizó con la prueba de X^2 y la prueba exacta de Fisher, el valor de p se corrigió por Yates.

RESULTADOS

Se incluyeron 33 pacientes con diagnóstico clínico de HEM de los cuales 19 (58%) eran mujeres y 14 (42%) hombres. El grupo de edad más afectado fue el de 10-19 años con 17 pacientes (52%), seguido del grupo de menores de 10 años con 14 pacientes (42%) y solamente 2 pacientes (6%) fueron mayores de 20 años (Figura 1). El paciente de menor edad tenía 6 años y el de mayor edad 55 años. La edad promedio al momento del diagnóstico de la enfermedad fue de 11 años (intervalo, 4-55 años).

En cuanto al tiempo de evolución de la enfermedad, 11 pacientes (33%) llevaban 3 años o más desde que observaron por primera vez las lesiones, 11 pacientes (33%) dos años, 7 (21%) un año, y únicamente 4 pacientes (12%) tenían un tiempo de evolución menor a 1 año (Figura 2)

El 76% (25 pacientes) tenía antecedente familiar positivo de HEM, de los cuales el 80% (20 pacientes) tenía 1 o 2 familiares afectados y el 20% restante tuvo entre 3 a 5 familiares con la enfermedad. El parentesco más reportado fue hermano(a) en 23 de los pacientes, seguido de madre/padre en 5 pacientes, y en tercer lugar un familiar de segundo grado (por ejemplo, abuela o tía) en 4 pacientes, y únicamente en 1 caso el familiar afectado era un hijo (Figura 3).

Todos los pacientes habían recibido tratamiento con ácido tricloroacético refiriendo respuestas variables y parciales. Únicamente una paciente fue tratada con crioterapia previamente refiriendo respuesta excelente pero con recaída por lo que requirió manejo con ácido tricloroacético.

El 100% de los pacientes tenían lesiones múltiples en mucosa oral. La topografía más frecuentemente afectada fue el labio inferior (94%), otras topografías fueron: comisuras (88%), lengua (52%), labio superior (48%) y mucosa bucal/yugal (39%). La mayoría de los pacientes tenían más de 1 región afectada. (Figura 4)

Las lesiones median entre 0.3 y 1.5 cm (Figura 5). La morfología predominante de las lesiones eran de forma oval hasta en 55%, la superficie era lisa en (70%), y papilomatosa en el resto. En 23 pacientes eran del color de la mucosa adyacente y en el resto eran de color blanquecino. En 36% (12 pacientes) de los casos las lesiones confluían formando el clásico patrón en “empedrado”. (Figuras 6)

Además de las lesiones en mucosa oral, algunos pacientes presentaban lesiones por VPH en piel, lo cual se observó en el 45% (15 pacientes). De éstos pacientes, 7 pacientes (47%) tenían lesiones en bermellón, 6 pacientes (40%) en extremidades, y únicamente 2 pacientes (13%) presentaron en más de 2 sitios (Figura 7).

Se detectó VPH-13 en la mucosa oral del 88% de nuestros pacientes, mientras que en el 12% restante la prueba fue negativa (Figura 8).

Se encontró que HLA-DRB1*0411 en 52 de los 66 alelos, lo cual representa el 78% y se encuentra elevado de manera significativa en pacientes con HEM en comparación con los controles ($P < 0.0001$; OR 189.4; intervalo de confianza del 95% de 78-459). (Tabla 1)

DISCUSION

La Hiperplasia Epitelial Multifocal es una enfermedad proliferativa de la mucosa oral, de curso benigno, que es más frecuente en comunidades de americanos nativos. En nuestro país es endémica en algunas zonas del sureste.

Las características demográficas de los pacientes incluidos en este estudio son similares a las encontradas por otros autores. El sexo más afectado fue el femenino (58%), lo cual concuerda con 3 estudios que reportan 61.3,¹⁷ 63¹ y 78%⁴; y es contrario a lo que reportó García-Corona en la ciudad de México, con un 59% en el sexo masculino.³

La edad promedio al momento del diagnóstico de la enfermedad fue de 11 años (intervalo, 4-55 años), menor a la reportada por otros autores (19 años)³

Mientras que el 94% de los pacientes de nuestro estudio eran menores de 20 años, García-Corona y Ledesma-Montes encontraron que el 75% y el 67% de sus pacientes respectivamente se encontraban dentro de las primeras dos décadas de la vida,^{3,4} Carlos reportó que el 96% de sus pacientes eran menores de 18 años,⁵ González-Losa reportó que 79% eran menores de 15 años,¹⁷ y Cerón-García encontró una mayor frecuencia en pacientes aún más jóvenes (menores de 7 años).¹

El tiempo de evolución de la enfermedad es muy difícil de medir ya que se trata de una enfermedad asintomática, nosotros encontramos un intervalo desde 5 meses hasta 12 años, menor al reportado por otros autores^{1,3,4,17} y un promedio de 2.54 años también menor al 8.3 reportado por García-Corona en 2004.³

En nuestro estudio el 76% tenía antecedente familiar positivo de HEM, muy similar a lo reportado previamente por García-Corona (73%)³ y Ledesma Montes (100%)⁴ en la Ciudad de México.

El 100% de nuestros pacientes tenían lesiones múltiples en mucosa oral y en 36% de ellos las lesiones confluían formando el clásico patrón en “empedrado”.^{7,8,10,11}

En nuestros pacientes la topografía más frecuente fue el labio inferior (94%), seguido por las comisuras (88%), lengua (52%), labio superior (48%) y mucosa bucal/yugal (39%). Mientras que en los estudios realizados en pacientes yucatecos la topografía más afectada fue la lengua.^{1,17} En dos estudios realizados en la Ciudad de México las topografías más afectada fueron el labio inferior³ y la mucosa bucal/yugal.⁴

A diferencia de lo reportado por Ledesma-Montes en la Ciudad de México, quien reportó tratamiento con nitrógeno líquido en el 100% de sus pacientes,⁴ todos nuestros pacientes han sido tratados con ácido tricloroacético y únicamente una paciente con nitrógeno líquido.

Similar a lo encontrado en un estudio previo,³ observamos en nuestros pacientes una asociación con otras enfermedades cutáneas por VPH, lo cual se observó en el 45% de los casos. De éstos pacientes, 7 pacientes tenían lesiones en labio-bermellón, 6 pacientes en extremidades superiores, y únicamente 2 pacientes presentaron lesiones en más de 2 sitios (labio-bermellón, cara, extremidad inferior). Consideramos que el predominio en estas topografías cutáneas se podría deber a autoinoculación, ya que las extremidades superiores tienen más contacto con la mucosa oral que las inferiores y el resto del cuerpo. Realizar la tipificación del VPH estas lesiones cutáneas sería muy interesante, sin embargo se encuentra fuera de los objetivos de este estudio.

Similar a lo encontrado en nuestro estudio, García Corona y cols³ reportaron VPH 13 positivo en 85% de los casos, mientras que González-Loza (Mérida) reportó que 100% de los pacientes fueron positivos. Cabe destacar que ningún caso en estas series se ha asociado a VPH-32.¹⁷

Llama la atención que muchos de los pacientes mencionaron durante el interrogatorio algunas prácticas que no pudimos corroborar o cuantificar pero que podrían estar implicados en el mecanismo de transmisión del VPH-13, por ejemplo consumo de agua directamente del grifo y uso compartido de utensilios de cocina tanto dentro de la casa como en la escuela. Sería interesante hacer estudios que corroboren estas teorías de tal manera que en un futuro pudieran tomarse medidas preventivas.

En este estudio encontramos el HLA-DRB1*0411 en el 78% de los pacientes, lo cual contrasta con los resultados de García-Corona y colaboradores donde predominó el HLA-DRB1*0404 en 18% de los casos. Encontramos asimismo una asociación estadísticamente significativa entre HEM y HLA-DRB1*0411, la cual confiere a la población estudiada un mayor riesgo de padecer la enfermedad con una razón de momios de 18, la cual es mayor a lo encontrado por García-Corona y colaboradores (OR 3.9).

Es importante mencionar que el que el subtipo DRB1*0411 se encuentra únicamente en el 1.9% de la población mexicana, mientras que el alelo DRB1*0404 está presente en el 4.5%. Lo anterior apoya que el HLA-DRB1*0411 es más prevalente en población de mayas mexicanos.

Se ha reportado frecuencias elevadas de HLA- DRB1*0411 en Polinesia, Australia, Chinos y poblaciones amerindias de América como: Tobas y Salta Wichi en Argentina, Indios Aché en Paraguay, Ticunas, Guaranis e Indios del este del Amazonas en Brasil, Lamas en Perú, Coreguaje en Colombia, Yucpa de Venezuela, Teenek de la huasteca en México, y los Mayas de México y Guatemala.^{18,19} Por lo cual, nuestro hallazgo podría explicar también la prevalencia relativamente elevada de HEM en otros países latinoamericanos.^{20, 21, 22, 23, 24}

CONCLUSION

Hay una asociación estadísticamente significativa entre HEM y HLA-DRB1*0411, la cual confiere a la población estudiada un riesgo muy alto de padecer la enfermedad con una razón de momios de 189, la cual es mucho mayor a lo encontrado por otros autores.³

Las características clínicas, demográficas y frecuencia de VPH-13 en los pacientes incluidos en este estudio son similares a las encontradas por otros autores.

PERSPECTIVAS

Tipificar el VPH estas lesiones cutáneas en pacientes con HEM para confirmar si se trata del mismo serotipo o de otros diferentes.

Ya que el HLA de un paciente es un factor de riesgo no modificable, es de suma importancia realizar estudios enfocados en hábitos y factores que facilitan la transmisión del virus. Y basados en los resultados de dichos estudios se podrán tomar medidas preventivas de contagio para disminuir la incidencia de la enfermedad.

REFERENCIAS

1. Cerón-García IA, Cerón-Espinosa J, González-Loza MR. Hiperplasia epitelial multifocal: revisión de 71 casos. *Dermatología CMQ* 2011;9(3):176-180.
2. Baribkin B, Tehraninia Z, Mozafari N. Treatment of multifocal epithelial hyperplasia with imiquimod. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2014;80:175-177.
3. García-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, Yamamoto-Furusho JK, Rodríguez-Carreón AA, Ruiz-Morales JA, et al. Association of HLA-DR4 (DRB1 *0404) with human papillomavirus infection in patients with focal epithelial hyperplasia. *Arch Dermatol* 2004;140:1227-1231.
4. Ledesma-Montes C, Vega-Memije E, Garcés-Ortíz M, Cardiel-Nieves M, Juárez-Luna C. Hiperplasia multifocal del epitelio. Reporte de 9 casos. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10:394-401.
5. Carlos R, Sedano HO. Multifocal papiloma virus epithelial hiperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994;77(6):631-635.
6. Vera-Iglesias E, Gracia-Arpa M, Sánchez-Caminero P, Romero-Aguilera G, Cortina de la Calle P. Focal epitelial hiperplasia. *Actas Dermosifiliogr*. 2007;98:621-623.
7. Highberger ZH, Ivory JW, Ledoux AC, Almony J. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease): a case report and review. *The United States Army Medical Department Journal*. 2014;2:61-64.
8. Hashemipour MA, Shoryabi A, Adhami S, Honarmand HM. Extensive focal epithelial hiperplasia. *Arch Iran Med* 2010;13(1):48-52
9. García-Corona C, Vega-Memije E, Barquera R, Granados J. HLA-DR alleles associated with skin warts induced by human papillomavirus infection. *Int. J. Dermatol*. 2010;49(12):1376-1379.
10. Bennet LK, Hinshaw M. Heck's disease: diagnosis and susceptibility. *Pediatric Dermatology*. 2009;26(1):87-89.
11. Neville, BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Epithelial pathology. En: *Oral and maxillofacial pathology*. Saunders. 2a. Edición. Philadelphia, EUA, 2002, pp.315-388.
12. Said AK, Leao JC, Fedele MC, Porter SR. Focal epithelial hyperplasia – an update. *J Oral Pathol Med*. 2013;42(6):435-442.
13. Lerman, MA, Woo SB. Disorders of the Oral Mucosa. En: *Dermatopathology*. Barnhill RL (Ed.) McGraw-Hill Medical. 3a. Edición, New York, EUA, 2010, pp.1002-1021.
14. Woo SB. Diseases of the oral mucosa. En: *McKee's pathology of the skin*. Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee PH (Eds.) Saunders Elsevier. 4a. Edición, China, 2010, pp.362-436.
15. Saiki RK, Bugawan TL, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Analysis of enzymatically amplified beta-globin and HLA-DQ alpha DNA with allele-specific oligonucleotide probes. *Nature*. 1986;324(6093):163-6.
16. Cuberos V, Perez J, Lopez C et al. Molecular and serological evidence of the epidemiological association of HPV 13 with focal epithelial hyperplasia: a case-control study. *J Clin Virol*. 2006;37:21-26.
17. González-Loza MR, Suárez-Allén RE, Canul-Canche J, Conde-Ferrández L, Eljure-López N. Multifocal epithelial hiperplasia in a community in the Mayan area of México. *Int J Dermatol*. 2011;50(3):304-309.
18. Gonzalez-Galarza FF, Takeshita LY, Santos EJ, Kempson F, Maia MH, Silva AL, et al. Allele frequency net 2015 update: new features for HLA epitopes, KIR and disease and HLA adverse drug reaction associations. *Nucleic Acid Research* 2015, 28, D784-8.
19. Tsuneto L.T, Probst, C. M., Hutz, M. H., Salzano, F. M., Rodriguez-Delfin L.A., Zago, M. A., et al. HLA class II diversity in seven Amerindian populations. Clues about the origins of the Ache. *Tissue Antigens*. 2003;62:512-526.
20. Fischman SL. Focal epithelial hyperplasia. Case reports from Paraguay and Peru. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1969;28(3):389-93.
21. Borghelli RF, Centofanti MH, Stirparo MA, Policicchio J, Andrade JH, Borghelli RF, et al. Focal epithelial hyperplasia: prevalence and distribution in the Argentinian population. *Rev Asoc Odontol Argent*. 1983;71(3):82-4, 89-92.

22. Guerra ME, Martín A, Mata M, Montes A, Sougbe R, Villarroel Dorrego M. Hiperplasia epitelial multifocal. Estudio en un grupo de niños indígenas venezolanos. *Acta Odontológica Venezolana*. 2007;45(3):1-5.
23. Aldama Caballero A, Acosta Sens R, Rivelli V, Guglielmone C, Mendoza G, Berumen J, et al. Hiperplasia epitelial multifocal relacionada a HPV 6 y 25. A propósito de dos casos en Paraguay. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2015;43(1):44-48.
24. Harris Ricardi J, Fortich Mesa N. Caso severo de manifestaciones bucales de la hiperplasia epitelial focal. *Revista Científica Salud Uninorte*. 2012;28(3).

Figura 1. Edad del paciente

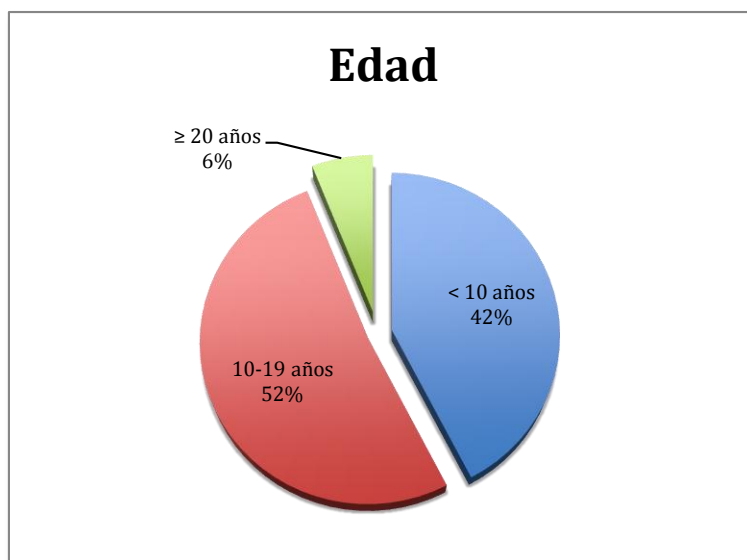


Figura 2. Tiempo de evolución



Figura 3. Familiares con diagnóstico o antecedente de HEM (Parentesco)

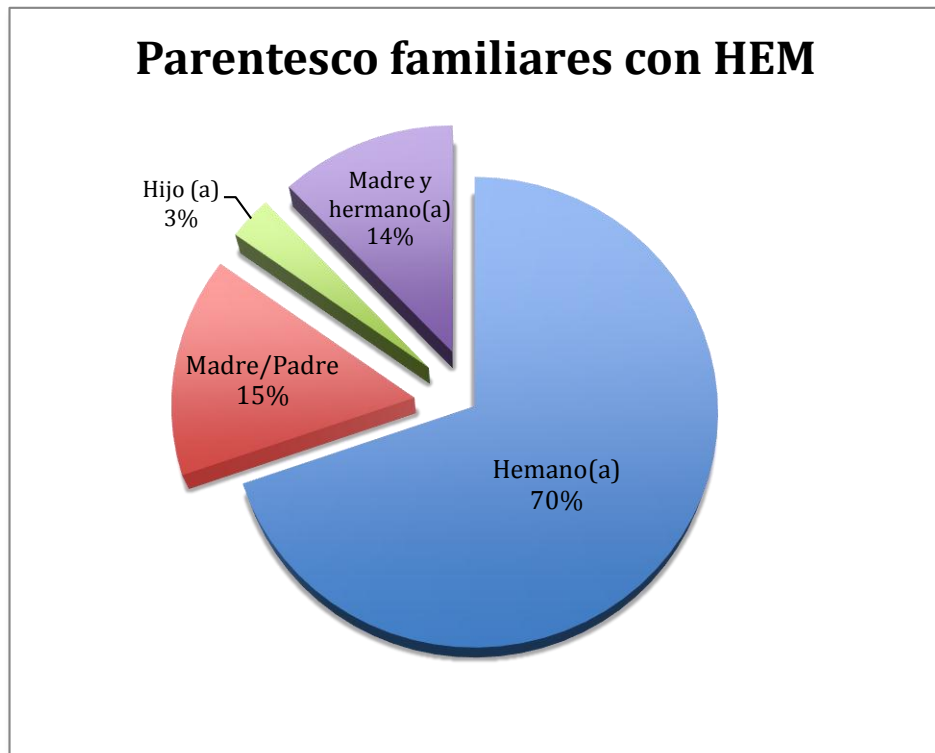


Figura 4. La topografía más afectada fue el labio inferior. La mayoría de los pacientes tenían más de 1 región afectada.

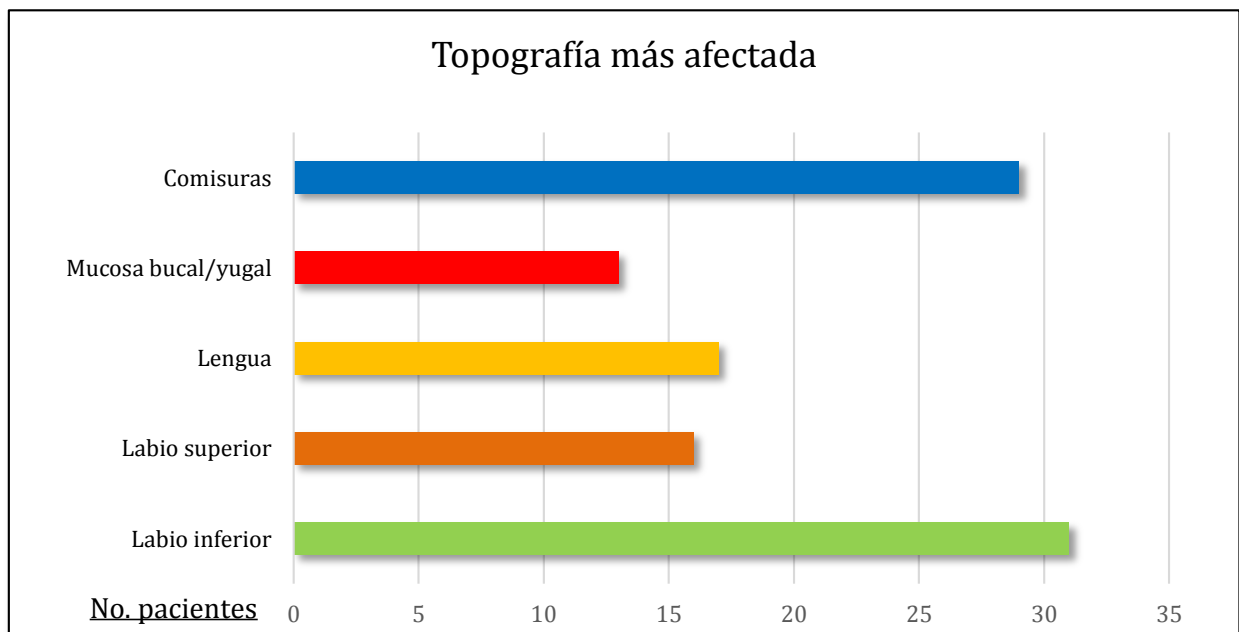


Figura 5. Tamaño de las lesiones

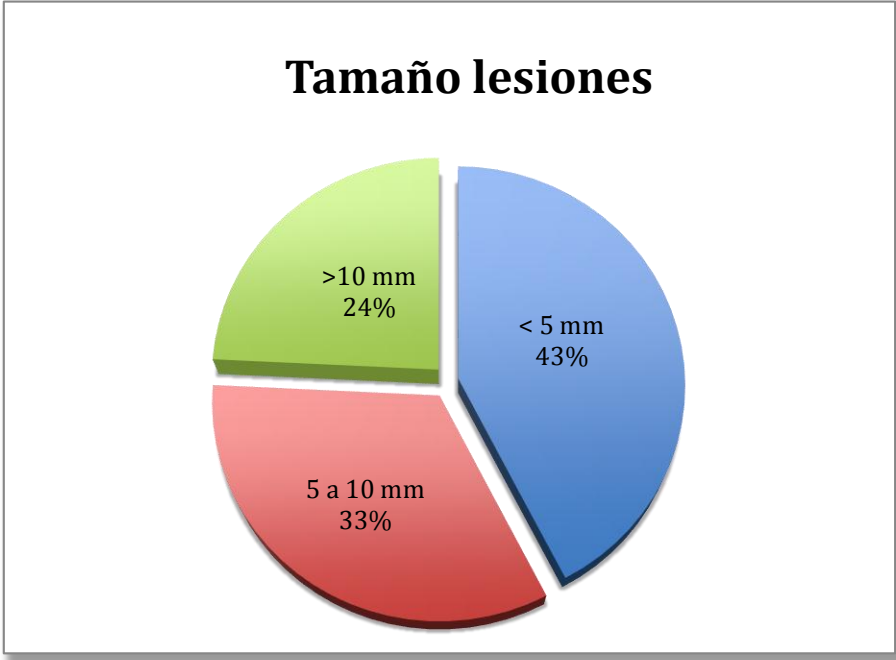


Figura 6. Múltiples lesiones confluyen formado un patrón en “empedrado” (Paciente H-03)



Figura 7. Otra topografía de infección por VPH

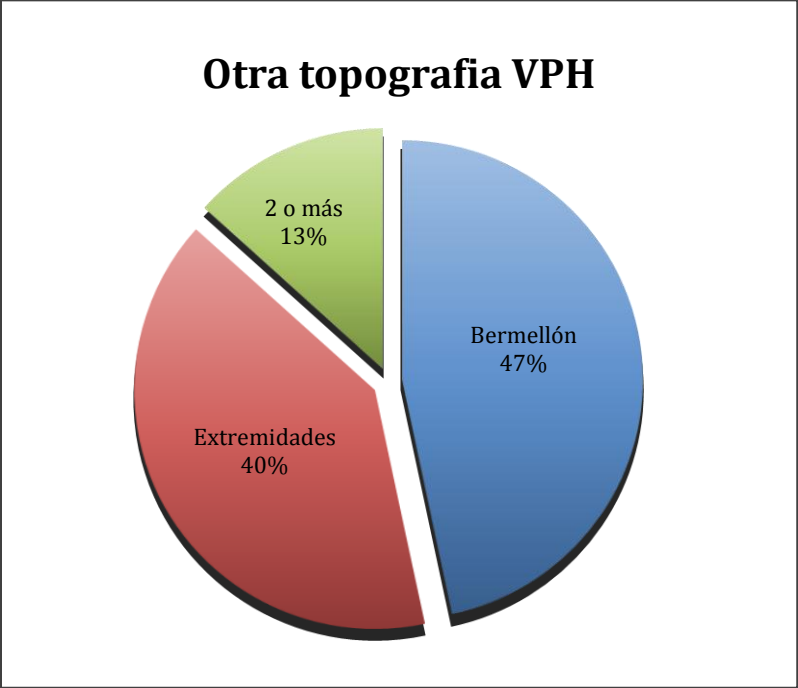


Figura 8. Identificación de VPH-13 en células de mucosa oral

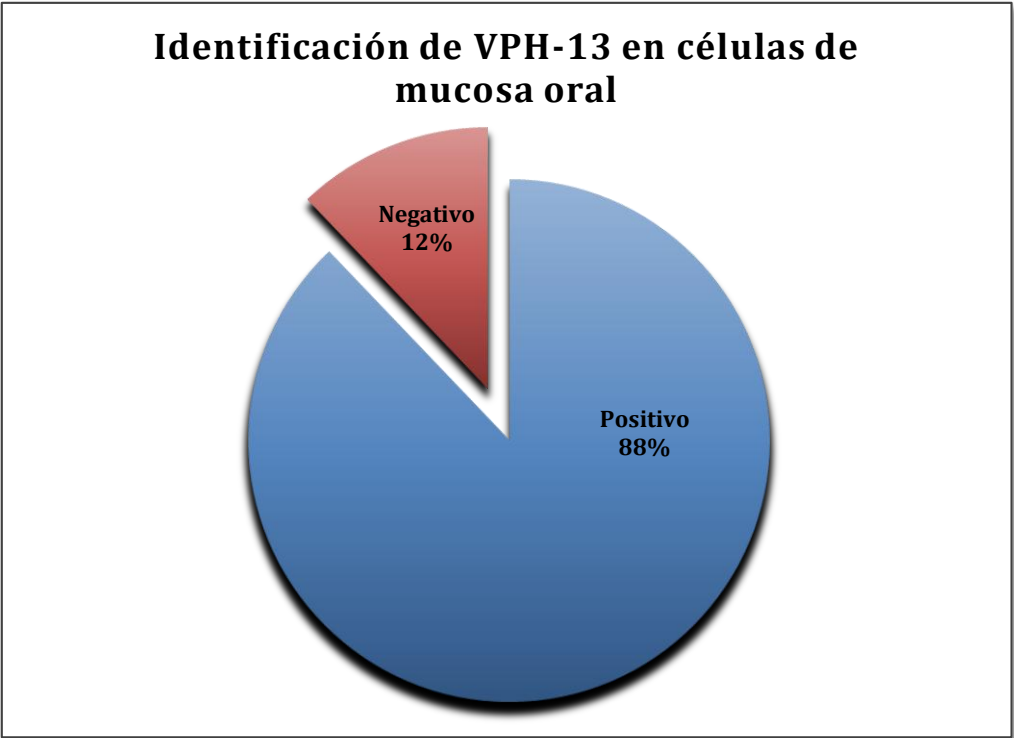


Tabla 1. Frecuencia de los alelos HLA-DRB1* en pacientes con HEM y controles sanos

Tabla 1. Frecuencia de los alelos HLA-DRB1* en pacientes con HEM y controles sanos							
	HEM		Controles		pC	OR	IC95%
	33 pacientes	(n=66 alelos)	n= 234 sanos	(n=468 alelos)			
HLA-DRB1*	n	fg	n	fg			
DRB1*04:11	52	0.787	9	0.019	1X10 ⁻⁹	189.4	78-459
DRB1*04:10	9	0.136	2	0.004	1X10 ⁻⁷	36.7	7.7-174
DRB1*04:91	2	0.03	0	0	NA	NA	NA
DRB1*11:08	2	0.03	0	0	NA	NA	NA
DRB1*07:01	1	0.015	33	0.071	NA	NA	NA

Abreviaturas: n, número de alelos; fg, frecuencia génica; pC, p corregida por método de Yates; OR, odds ratio (razón de momios); IC, intervalo de confianza