

11212
19

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
H.G Z. "DR. MANUEL GEA GONZALEZ"
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA

Frecuencia génica de los alelos del complejo principal de histocompatibilidad y tipo de virus del papiloma humano en pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal

TESIS DE POSTGRADO

*PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN:*

DERMATOLOGIA

PRESENTA:

DRA. CRISTINA ITZAMMA GARCIA CORONA

295995



MEXICO, D. F., 2000





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



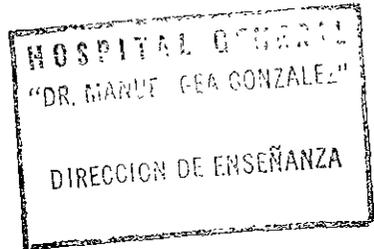
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

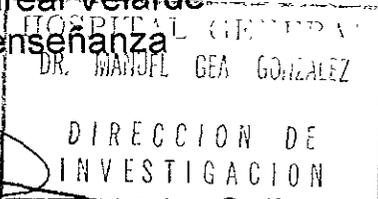
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

Autorizaciones:




Dr. Héctor Villareal Velarde
Director de enseñanza




Dra. Ma. Dolores Saavedra Ontiveros
Directora de investigación *LL*

Dra. Ma. Teresa Velasco Jiménez
Subdirectora de enseñanza


Dr. Luciano Domínguez Soto
Jefe del departamento de dermatología


Dra. Ma. Elisa Vega Memije
Directora de tesis

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de estudios de postgrado
H. G. Z. "DR. MANUEL GEA GONZALEZ"
Departamento de Dermatología

Frecuencia génica de los alelos del complejo principal de histocompatibilidad y tipo de virus del papiloma humano en pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE:

E S P E C I A L I S T A E N:

DERMATOLOGIA

P R E S E N T A:

DRA. CRISTINA I. GARCIA CORONA

DEDICATORIA

A Dios:

Porque yo Jehová soy tu Dios, quien te sostiene de tu mano derecha y te dice "No temas, yo estoy contigo".

Isaías 41:13.

A mis padres:

Dra. Ma. Cristina Corona Ortega

Dr. Felipe de Jesús García Pedroza

A mis hermanos:

León Felipe García Corona

Elena García Alvarado

Fernanda García Alvarado

Felipe García Alvarado

A mis maestros:

Dr. Luciano Domínguez Soto

Dra. Ma. Teresa Hojyo Tomoka

Dra. Ma. Elisa Vega Memije

Dr. Roberto Arenas Guzmán

A mis amigos y seres queridos

Por su apoyo, comprensión y cariño, por ser un ejemplo a seguir que me estimula día a día.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Ma. Elisa Vega Memije

Por su confianza, cariño y enseñanzas

Dr. Julio Grandos Arriola

Por compartir su sabiduría conmigo

Dr. Jorge Ruiz

Por su ayuda incondicional

QFB. Norma Salgado

Por su ayuda incondicional

Dr. Adalberto Mosqueda Taylor

Por su ayuda y enseñanzas

Benjamín Haro Hernández

Por su cariño y paciencia

INDICE

- I. Antecedentes
- II. Marco Teórico
- III. Planteamiento del problema
- IV. Justificación
- V. Objetivos
- VI. Hipótesis
- VII. Material y Método
- VIII. Validación de datos
- IX. Consideraciones éticas
- X. Resultados
- XI. Discusión
- XII. Conclusiones
- XIII. Figuras, Graficas y Cuadros
- XIV. Bibliografía
- XV. Anexos

I. ANTECEDENTES

La hiperplasia epitelial focal (HEF) o enfermedad de Heck, es una enfermedad proliferativa benigna y poco frecuente de la mucosa oral, ocasionada por el virus del papiloma humano (VPH) 13 y 32. Se presenta como neoformaciones de aspecto pápular o elevaciones de la mucosa, blandas, con superficie lisa y brillante, que miden de 1 a 5 mm de diámetro, localizadas con mayor frecuencia en mucosa del labio inferior y afecta principalmente a los niños.

De acuerdo con Praetorius-Clausen, fue Helms en 1894 quien notó por primera vez unas lesiones papulo-nodulares intraorales similares a las descritas posteriormente en la HEF (1), aunque es a Heck a quien se le atribuye la identificación de esta entidad en 1961; sin embargo fueron Archard, Heck y Stanley quienes le dieron el nombre de HEF y realizaron la primera publicación en la literatura estomatológica en inglés en 1965 (2). Por otra parte, al revisar la literatura Latinoamericana, nos encontramos que ya Estrada en Colombia había descrito la presencia de verrugas y lesiones papilomatosas intraorales múltiples en Indios Caramanta en 1956 y posteriormente en indios Kafíos también de Colombia en 1960 (3,4) cuyas características correspondían a la HEF. Otros autores, también reportaron casos que corresponden a esta entidad, entre los que podemos mencionar a Reyes con su artículo "Verrugas de la cavidad oral" realizado en Guatemala en 1962 (5), y Soneira y Fonseca, quienes estudiaron a 160 Indios en Venezuela en 1964, donde se encontrón esta entidad en 54 de ellos (33.75%) (6).

La publicación de Archard y cols. en 1965 incluyó a 19 niños, de los cuales 15 eran Indios Navajo de Nuevo México, 2 Indios en los que se ignora su origen pero vivían en el sureste de los E.U.A, un esquimal y un Indio Savanti de Brasil (2) En el mismo año Witkop y Niswander reportaron 11 casos que incluían a 7

Indios Savanti de Brasil, 2 Ladinos del El Salvador y 2 Indios Mayas de Guatemala (7). Numerosos artículos se han publicado desde entonces (1-50).

Más de 30 países han reportado casos de HEF, entre los que se incluyen: México, Brasil, El Salvador, Guatemala, Colombia, Nicaragua, Puerto Rico, Bolivia, Paraguay, Perú, Argentina, Ecuador, Venezuela, Trinidad, Alaska, Dinamarca, Groenlandia, Canadá, Israel, Irán, Irak, Polinesia, Finlandia, Australia, Escocia, Suecia, Suiza, Italia, Inglaterra, Egipto, Turquía, Países Bajos, Noruega, Sudáfrica, Somalia, Nigeria, Sudan y Libia. La mayor cantidad de individuos afectados corresponde a las etnias esquimales y los indios de Norteamérica, Centroamérica y Sudamérica (1-50).

La predilección por ciertos grupos étnicos y la presentación de más de un caso en una misma familia (9,14,15,30,45,50,51), se mencionaba desde los primeros reportes (2,7) y sugería una predisposición genética, la cual estaría relacionada a la susceptibilidad del individuo para ser colonizado por el VPH.

Desde los primeros reportes, también se postulaba una probable etiología viral (2,30,31,51,53), pero no fue sino hasta la introducción de la microscopía electrónica cuando se pudieron detectar partículas virales en los tejidos lesionados (9,24,45,54,55). Pfister fue el primero en identificar al VPH tipo 13 por medio de hibridización *in situ* en 1983 (52); Hernández en México, también identificó el VPH 13 en 1987 (10) y en ese mismo año Beaudenon en Dinamarca identificó VPH 13 y VPH 32 (27), hallazgo que es corroborado por Henke en 1989 (43), y que sugiere 2 tipos de VPH involucrados en la etiología de la HEF. Se han asociado otros tipos de VPH pero sin llegar a corroborarse, tales como el 1 (56,57), 6 (58), 11 (46,59), 16 (59) y 18 (57).

La asociación con otras enfermedades virales no es clara y los resultados han sido inconstantes. Beaudenon encontró lesiones concomitantes de verrugas

vulgares y condilomas en un 33.3%(27). En el caso de los VPH se ha sugerido que el sitio anatómico puede *determinar el tipo de VPH*, es decir que los *diferentes tipos de VPH* tienen predilección por un epitelio en especial; esto es más evidente en la HEF donde se ha observado que es el único sitio donde se encuentran el VPH 13 y 32 (46,50), aunque hay autores que han encontrado VPH 13 y 32 en lesiones de papilomas de células escamosas y de condiloma acuminado (27,59).

Clínicamente, se observan neoformaciones de aspecto pápular o elevaciones de la mucosa, blandas, con superficie lisa y brillante, que miden de 1 a 5 mm de *diámetro con tendencia a confluir*; afecta principalmente la mucosa del labio inferior, pero también afecta la mucosa de labio superior, lengua, comisuras, carrillos e inclusive hay reportes de lesiones en encía (2,40) (Fig.1). Las lesiones individuales son discretas, suaves y asintomáticas. El *diagnostico diferencial* se hace con fibromas traumáticos, condilomas acuminados, hiperplasia epitelial difusa por masticar tabaco, neuromas mucosos, papilomatosis oral florida, verrugas vulgares y nevo blanco esponjoso (60).

En el estudio histológico se observa escasa paraqueratosis encima de un área de acantosis focal del epitelio, a expensas de procesos interpapilares alargados y achatados que se anastomosan horizontalmente. En el estrato espinoso hay figuras "mitosoides" debidas a la degeneración nuclear, coilocitos y/o células con degeneración balonzante y núcleos distorsionados, todo lo anterior indicativo de daño citopático viral (50). En la lámina propia se puede encontrar un leve infiltrado perivascular por linfocitos (Fig.2).

La presentación por sexo según Carlos y Sedano en Guatemala muestra discreta predilección por las mujeres, en su estudio de 110 pacientes se observó una relación hombre-mujer de 1:2.2 (12). Por otra parte, Beaudenon en Dinamarca, en su estudio de 24 pacientes observó que el 84% eran hombres (27),

Padayachee en Sudáfrica en su estudio de 18 pacientes observó que el 61% eran hombres (46) y Matute en Colombia en su estudio de 15 pacientes no encontró diferencia estadísticamente significativa con relación al sexo (15).

Las edades de presentación han variado según los diferentes reportes, ya que en algunos de ellos varía desde 3 hasta 18 años (1,2,7-18,20,28,29,31,32,46,47). Carlos y Sedano reportan un promedio de edad de 11 años, con un rango de 5 a 38 años, notando que el 97% de los pacientes se encontraban en la primera y segunda décadas de la vida (12), Padayachee reporta una media de 17 años y un rango de 2 a 69 años (46) y Rodríguez en Colombia reporta que el 70% eran menores de 16 años (16). Sin embargo en esquimales la condición parece ser más prevalente en adultos mayores de 30 años (25,61). Beaudenon en Dinamarca, encontró un promedio de edad de 42 años, con un rango de 14 a 76 años (27), lo cual es similar a lo observado por Henke en Noruega donde la edad de presentación promedio fue de 50 años con un rango de 28 a 76 años (43), además de la existencia de múltiples reportes de casos de pacientes mayores de 18 años (9,24,27,28,33,39,40,43,46)

La evolución natural de esta infección es autorresolutiva en meses o años, aunque las lesiones pueden persistir o recurrir años después. No hay un tratamiento de elección; se han obtenido resultados satisfactorios con láser CO₂ (33), escisión quirúrgica (39) criocirugía y agentes tópicos como podofilina (11).

En la literatura curiosamente también se han reportado casos de HEF en chimpancés y conejos, inclusive en los chimpancés se ha aislado VPH 13 (62,63,64), lo que nos podría servir para un amplio estudio de esta enfermedad.

Es evidente que la etiología de la HEF es viral, pero no está claro que determina la susceptibilidad del individuo a desarrollarla, ni la forma de transmisión. Por las características de presentación se ha sugerido en la

patogénesis la participación de factores genéticos, siendo uno de los más relevantes para su estudio el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

El MCH es una región de genes altamente polimorfos cuyos productos se expresan en la superficie de una amplia variedad de células. Se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 ocupando un gran segmento del ADN y posee tres clases de genes: Clase I, II y III. Los genes de clase II se localizan en la porción más proximal al centrómero en el siguiente orden: DP, DQ y DR. Algunos genes del sistema del complemento se ubican en la región III telomérica a la clase II y codifican las proteínas C2, C4 factor B, así como la enzima esteroidea 21 hidroxidasa. La porción más telomérica del MHC contiene los genes de la cadena alfa de la clase I, en la secuencia B, C y A. Finalmente, los genes para las citocinas, factor de necrosis tumoral y linfotóxina se encuentran ubicados entre los genes del complemento y la región clase I. Es ya conocido que los genes de clase I codifican glucoproteínas expresadas en todas las células nucleadas del organismo, en tanto que los de clase II se expresan en cierto tipo de células tales como: las células presentadoras de antígenos, linfocitos B y T activados (65).

La región de los genes HLA clase II poseen dos o 3 cadenas beta funcionales, pero sólo una cadena alfa funcional. El uso de una o más cadenas beta, permite a algunos productos génicos de clase II, especialmente al DR el ser expresado en más de dos formas alélicas en una sola célula (65); esta expresión puede modificar la respuesta inmune del huésped, y así facilitar la colonización del VPH.

La identificación de los marcadores genéticos de susceptibilidad permitirán conocer el mecanismo de enfermedad, puesto que la función del producto de estos genes es la presentación de péptidos derivados de antígenos infecciosos. De la misma manera el mecanismo de enfermedad puede deberse a que la infección con el VPH disminuya la expresión de los antígenos del complejo

principal de histocompatibilidad en los tejidos afectados, evadiendo así la identificación de los antígenos infecciosos por parte de las células citotóxicas naturales (NK), todo ello en individuos genéticamente susceptibles.

A pesar del peso que puedan tener los factores genéticos, es necesario reconocer que los estímulos ambientales son también importantes en el desarrollo de esta enfermedad. Al respecto, Carlos y Sedano reportan que prácticamente toda su población de estudio pertenecía a un nivel socioeconómico bajo, es decir el 90% ganaba menos de 200 dólares al mes; además no se encontró ningún niño afectado en 2,462 niños estudiado que acudían a 5 escuelas primarias particulares (12).

Así pues, en la etiología de la HEF intervienen varios factores, siendo la susceptibilidad genética y los factores ambientales los más prevalentes y sobre los cuales deberán dirigirse los esfuerzos por comprender mejor la patogénesis de esta enfermedad.

II. MARCO TEORICO

Premoli-De-Percoco *determinó la secuencia de DNA de VPH en una familia venezolana con HEF, encontrando una agregación familiar que indica una predisposición genética a esta enfermedad (66). Pero no se han realizado estudios para determinar el desequilibrio de presentación de HLA en pacientes con HEF, a pesar de que las moléculas de los antígenos leucocitáricos humanos (HLA) son importantes para la regulación inmune responsable en contra de antígenos externos, incluyendo virus.*

Los estudios más cercanos realizados han sido en papilomatosis laríngea, la cual también es causada por un VPH, en especial el 6 o el 11 y tiene un curso autorresolutivo. Rabah en su estudio de 60 pacientes con papilomatosis laríngea determinó el genotipo del VPH y el HLA clase II, alelos DQB, DQA y DP, encontrando 31 pacientes con VPH 11 (20 afroamericanos y 9 caucásicos) y 29 con VPH 6 (7 afroamericanos y 21 caucásicos), los alelos de DQB1 (*0302, *0303) y DQA *0101/04 fueron más frecuentes en los afroamericanos y los alelos DQA *0102 fueron más frecuentes en los caucásicos, ambos comparados con controles sanos (67).

También se ha observado que ciertas clases de haplotipos de HLA clase II son más frecuentes en pacientes con cáncer cervico-uterino asociado a VPH (68).

En México es posible comparar las diferentes frecuencia de presentación del HLA entre pacientes con una enfermedad específica y con sujetos sanos de la población general, por estudios realizados en familias mestizas mexicanas donde se ha observado que los haplotipos más frecuentes son el DR4, DR5 y DR8 en el locus DR(69).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe algún alelo particularmente elevado en pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal en comparación con sujetos mexicanos sanos(69)?

¿Qué tipos de VHP se asocian a esta enfermedad en nuestros pacientes?

IV. JUSTIFICACIÓN

En el Departamento de Dermatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" se han diagnosticado 30 casos de hiperplasia epitelial focal en los últimos 10 años, lo que nos da una frecuencia en la consulta dermatológica del 0.026%, de éstos, se observó que 5 familias incluían a 2 ó 3 miembros con este padecimiento, es decir casi la mitad de la población con HEF tenían antecedentes familiares (Fig3) Este hecho, más la existencia de múltiples publicaciones de reportes de casos familiares o grupos étnicos definidos, sugiere la presencia de un factor genético que no ha sido estudiado desde el punto de vista del MHC-HLA o reportado en la literatura mundial ni nacional, por lo que es importante determinar si existen algún alelo particularmente elevado en pacientes con esta enfermedad comparados con sujetos sanos, que favorezcan la proliferación viral ya que se han encontrado el VPH 13 y 32 como agente etiológico de la hiperplasia epitelial focal

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe algún alelo particularmente elevado en pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal en comparación con sujetos mexicanos sanos(69)?

¿Qué tipos de VHP se asocian a esta enfermedad en nuestros pacientes?

IV. JUSTIFICACIÓN

En el Departamento de Dermatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" se han diagnosticado 30 casos de hiperplasia epitelial focal en los últimos 10 años, lo que nos da una frecuencia en la consulta dermatológica del 0.026%; de éstos, se observó que 5 familias incluían a 2 ó 3 miembros con este padecimiento, es decir casi la mitad de la población con HEF tenían antecedentes familiares (Fig3). Este hecho, más la existencia de múltiples publicaciones de reportes de casos familiares o grupos étnicos definidos, sugiere la presencia de un factor genético que no ha sido estudiado desde el punto de vista del MHC-HLA o reportado en la literatura mundial ni nacional, por lo que es importante determinar si existen algún alelo particularmente elevado en pacientes con esta enfermedad comparados con sujetos sanos, que favorezcan la proliferación viral ya que se han encontrado el VPH 13 y 32 como agente etiológico de la hiperplasia epitelial focal.

V. OBJETIVOS

Objetivo principal

Determinar la frecuencia génica de los alelos HLA DR en pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal Vs sujetos sanos mexicanos de la población general.

Objetivo secundario

Determinar los tipos de VPH presentes en las lesiones de los pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal.

VI. HIPÓTESIS

Si en la patogénesis de la hiperplasia epitelial focal participan factores genéticos ubicados en el brazo corto del cromosoma 6, entonces los pacientes mexicanos con esta enfermedad deben expresar frecuencias alélicas del HLA diferentes a las de la población sana.

Si en la mayoría de los pacientes con hiperplasia epitelial focal se han encontrado VPH 13 y 32, entonces en nuestros pacientes el virus involucrado será el VPH 13 y/o 32.

V. OBJETIVOS

Objetivo principal

Determinar la frecuencia génica de los alelos HLA DR en pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal Vs sujetos sanos mexicanos de la población general.

Objetivo secundario

Determinar los tipos de VPH presentes en las lesiones de los pacientes mexicanos con hiperplasia epitelial focal.

VI. HIPÓTESIS

Si en la patogénesis de la hiperplasia epitelial focal participan factores genéticos ubicados en el brazo corto del cromosoma 6, entonces los pacientes mexicanos con esta enfermedad deben expresar frecuencias alélicas del HLA diferentes a las de la población sana.

Si en la mayoría de los pacientes con hiperplasia epitelial focal se han encontrado VPH 13 y 32, entonces en nuestros pacientes el virus involucrado será el VPH 13 y/o 32.

VII. MATERIAL Y MÉTODO

Diseño del estudio:

Estudio comparativo, abierto, observacional, y transversal.

Universo de estudio:

Pacientes con HEF que acuden al Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

Población de estudio:

Este estudio incluyó a los pacientes con HEF que acudieron en los últimos 10 años al servicio de Dermatología de este hospital, y a los que se presentaron durante la realización de este estudio hasta el 30 de septiembre del 2000.

Procedimiento:

En el estudio se incluyó a todos los pacientes con diagnóstico clínico e histológico de hiperplasia epitelial focal, que fueron estudiados en los últimos 10 años en la consulta del Departamento de Dermatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González", es decir de 1990 al 2000. Para el estudio del HLA-DR se compararon con individuos sanos de la población general, provenientes de estudios que fueron realizados en familias mexicanas para determinar la prevalencia del HLA-DR y en los cuales a cada individuo se le realizó interrogatorio y exploración física completa para corroborar su salud, además sus dos últimas generaciones ascendentes debieron de haber nacido en México (69). Para fines de este estudio no fue indispensable aparear los grupos por edad, sexo, residencia, ocupación etc.

A los pacientes se les realizó un cuestionario para completar datos epidemiológicos y demográficos (anexo 1) y previo consentimiento (anexo 2) se les tomó una muestra de 4.5ml de sangre periférica, para la extracción de ADN. Posteriormente se les practicó una biopsia por sacabocado de 4mm en las áreas afectadas, las cuales se procesaron en la forma habitual, se incluyeron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina, se revisó el material y se corroboró el diagnóstico histológico. La búsqueda del VPH se realizó en los bloques de parafina.

La determinación del HLA-DR se realizó amplificando la región HLA-DRB1 mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y determinando cada uno de los alelos mediante oligonucleótidos específicos de alelos (ASO).

Descripción de la técnica para la determinación del HLA-DR. La extracción del ADN genómico se realizó mediante el método de expulsión salina o "salting out" (70), en el cual inicialmente se lisan los eritrocitos y el DNA se obtiene a partir de linfocitos periféricos en pasos secuenciales que incluyen digestión con proteinasa K, precipitación de proteínas con hidróxido de sodio y precipitación y lavado del ADN con etanol absoluto y al 70% respectivamente. La tipificación genética de los alelos del locus HLA-DRB1 se realizó mediante el kit Amplicor (Hoffmann La Roche Basilea, Suiza), en el cual se usa la técnica del PCR y se revela con la del "Dot Blot" reversa con oligonucleótidos específicos. Se utilizarán iniciadores o "primers" específicos para la amplificación de las regiones 3' y 5' del exon 2 del DRB1. Posteriormente el ADN amplificado se transfiere a una membrana de nitrocelulosa y se hibrida con sondas de oligonucleótidos previamente marcadas con digoxigeninadideoxi-uridin-trifosfato. Para la lectura de las sondas positivas se utilizó el kit Dig de detección de ácidos nucleicos (Boehringer Mannheim Biochemical, Mannheim, Alemania) (71).

Para la identificación de los subtipos de DR genérico se utilizaron iniciadores específicos de alelos, los cuales también se corren en un gel de agarosa para su identificación.

La determinación del VPH se realizó con kit PVHfast (PharmaGen S.A.) que amplifica una región del ADN del virus que es muy similar entre los distintos tipos de VPH. Esta región es la denominada L1, pero presenta pequeñas variaciones características entre unos tipos y otros, lo que nos ayuda a tipificar el virus

Descripción de la técnica para la determinación del VPH. A los bloques de parafina se les realizó 2 ó 3 cortes de 5µm con microtomo, a los que se les añadió 50µm de solución de digestión y 50µm de proteínasa K para liberar el AND, se incubó durante 24hrs y se inactivó hirviendo durante 10min. En un tubo de reacción (que incluye el "primers") se añadió 5µg del ADN extraído de cada muestra para la amplificación de este, se metió al termociclador y posteriormente se tomó 10µm del producto del amplificado a los que se les añadió 2µm de solución de carga, se corrió por electroforesis en un gel de agarosa al 2% y si hay DNA del VPH se observa una banda de 450pb. Para la tipificación viral se utilizó 2 enzimas de restricción, la enzima 1 de restricción y la enzima 2 de restricción. En nuevos tubos se añadió 20µm de la reacción de amplificado y 0.5-1µm de cada enzima (cada una en un tubo) y se incubó durante 2hr, nuevamente se añadió solución de carga y se corrió por electroforesis en un gel de agarosa de alta resolución al 2.5%. Lo anterior digerirá la banda de 450pb originando un patrón de bandas diferentes, dependiendo del virus, lo cual hace posible su identificación.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

Casos

Pacientes con diagnóstico de hiperplasia epitelial focal clínico e histológico.

Pacientes de ambos sexos y de cualquier edad

Pacientes que aceptaron llenar el cuestionario, la toma de muestra de sangre periférica y la toma de biopsia

Controles

Sujetos sanos de la población general

Criterios de exclusión:

Casos

Pacientes con diagnóstico clínico de hiperplasia epitelial focal que no aceptaron formar parte del protocolo.

Controles

Sujetos de la población general que presentaron alguna enfermedad o que presentaron HEF.

Variables:

Independiente:

Frecuencia alélica del HLA en el grupo de casos diferente al grupo control.

Tipo de VPH.

Dependientes:

Desarrollo de la enfermedad (HEF).

Parámetros de medición:

- Edad: años
- Sexo: masculino o femenino
- Ocupación: especificado
- Origen y residencia: especificado
- Lesiones: localización
- Tiempo de evolución: días, semanas, meses o años
- Antecedentes familiares de hiperplasia epitelial focal: especificado
- Referencia de otras lesiones *virales*: especificado
- Tratamientos previos: especificado
- Recurrencia: especificado
- Haplotipos HLA-DR: especificado
- Tipo de VPH: especificado

Procedimiento de captación de la información:

Se asignaron a los pacientes los números de estudio en forma secuencial, a medida que fueron considerados elegibles para su inclusión. El número se anotó en la hoja de captura de datos.

El día de su inclusión se realizó el cuestionario, se tomó la muestra de sangre periférica para la extracción del ADN y se efectuó la biopsia.

VIII. VALIDACIÓN DE DATOS

Los datos epidemiológicos se analizaron mediante estadística descriptiva. En cuanto al HLA-DR y el tipo de VPH, el análisis estadístico empleó pruebas no paramétricas. Se compararon las frecuencias génicas de los pacientes con los controles sanos y la significancia de las diferencias se analizó mediante las pruebas chi-cuadrada y exacta de fisher.

IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley general de Salud en Materia de Investigación para la Salud, específicamente los procedimientos que se realizaron en esta investigación se clasifican en el artículo 17 como de riesgo mínimo y se realizaron con el consentimiento del paciente.

X. RESULTADOS

Se obtuvieron 22 pacientes, nueve mujeres (41%), trece hombres (59%). La edad promedio de presentación fue de 19 años con un rango de 5 a 49 años, el 72.72% se presentó entre la primera y segunda década de la vida (Fig.4). El origen de los pacientes fue: 15 del Distrito Federal, 6 del Estado de México y uno de Aguascalientes. La ocupación que predominó por la edad de los pacientes fue la de estudiante, las mujeres se dedicaban al hogar o al comercio y los hombres eran campesinos, mecánicos, comerciantes o desempleados. Todos

VIII. VALIDACIÓN DE DATOS

Los datos epidemiológicos se analizaron mediante estadística descriptiva. En cuanto al HLA-DR y el tipo de VPH, el análisis estadístico empleó pruebas no paramétricas. Se compararon las frecuencias génicas de los pacientes con los controles sanos y la significancia de las diferencias se analizó mediante las pruebas chi-cuadrada y exacta de Fisher.

IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley general de Salud en Materia de Investigación para la Salud, específicamente los procedimientos que se realizaron en esta investigación se clasifican en el artículo 17 como de riesgo mínimo y se realizaron con el consentimiento del paciente.

X. RESULTADOS

Se obtuvieron 22 pacientes, nueve mujeres (41%), trece hombres (59%). La edad promedio de presentación fue de 19 años con un rango de 5 a 49 años, el 72.72% se presentó entre la primera y segunda década de la vida (Fig.4). El origen de los pacientes fue: 15 del Distrito Federal, 6 del Estado de México y uno de Aguascalientes. La ocupación que predominó por la edad de los pacientes fue la de estudiante, las mujeres se dedicaban al hogar o al comercio y los hombres eran campesinos, mecánicos, comerciantes o desempleados. Todos

VIII. VALIDACIÓN DE DATOS

Los datos epidemiológicos se analizaron mediante estadística descriptiva. En cuanto al HLA-DR y el tipo de VPH, el análisis estadístico empleó pruebas no paramétricas. Se compararon las frecuencias génicas de los pacientes con los controles sanos y la significancia de las diferencias se analizó mediante las pruebas *chi-cuadrada* y *exacta de fisher*.

IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley general de Salud en Materia de Investigación para la Salud, específicamente los procedimientos que se realizaron en esta investigación se clasifican en el artículo 17 como de riesgo mínimo y se realizaron con el consentimiento del paciente.

X. RESULTADOS

Se obtuvieron 22 pacientes, nueve mujeres (41%), trece hombres (59%). La edad promedio de presentación fue de 19 años con un rango de 5 a 49 años, el 72.72% se presentó entre la primera y segunda década de la vida (Fig.4). El origen de los pacientes fue: 15 del Distrito Federal, 6 del Estado de México y uno de Aguascalientes. La ocupación que predominó por la edad de los pacientes fue la de estudiante, las mujeres se dedicaban al hogar o al comercio y los hombres eran campesinos, mecánicos, comerciantes o desempleados. Todos

pertenecientes a un nivel socioeconómico bajo (según la clasificación socioeconómica del hospital).

Las características clínicas fueron las esperadas, observándose neoformaciones múltiples de aspecto pápular, blandas, de superficie lisa y brillante (Fig 1). La localización más frecuente fue la mucosa del labio inferior en 20 pacientes, seguido de la mucosa del labio superior en 18, lengua en 16, carrillos en 15, comisuras en 14 y paladar en 3 (Cuadro1). Los hallazgos histológicos confirmaron el diagnóstico en todos los casos (Fig.2).

El tratamiento previo a la visita a nuestro hospital fue escisión quirúrgica de algunas lesiones, antisépticos locales, antimicóticos, levamisol, vitaminas, vacunas (BCG), colodión elástico con ácido salicílico y criocirugía, con lo que no hubo mejoría o esta fue parcial y transitoria; lo anterior en solo la mitad de los pacientes, en la otra mitad no se realizó ningún tipo de tratamiento. El tiempo de evolución varío de 1 mes a 34 años con promedio de 8.3 años (Fig.5).

La asociación con otras enfermedades virales se observó en 9 pacientes (40%), verrugas virales en 7 pacientes, verrugas planas en 2 pacientes y condilomas en 2 pacientes (Fig.6).

En 16 pacientes (72.72%) se encontró el antecedente de algún miembro de la familia con esta enfermedad.

La tipificación viral se realizó en 20 pacientes de los cuales 17 fueron positivos para el VPH 13 (85%), 3 muestras fueron negativas (15%). En ninguno de los casos se identificó el VPH 32.

Se obtuvieron 7 tipos diferentes de HLA-DR siendo el DR4 el único estadísticamente significativo (Cuadro 2), y 6 subtipos de DR siendo el DRB1*0404 el único estadísticamente significativo (Cuadro 3).

XI. DISCUSIÓN:

En este estudio se observó una discreta *predilección* por los hombres. Beaudenon en Dinamarca, en su estudio de 24 pacientes observó que el 84% eran hombres (27) y Padayachee en Sudáfrica en su estudio de 18 pacientes observó que el 61% eran hombres (46); por otra parte Carlos y Sedano en Guatemala en su estudio de 110 pacientes observó una relación hombre-mujer de 1 2 2. La diferencia en la relación hombre-mujer en estos estudios puede deberse al tipo de población en estudio y la cantidad de pacientes, llama la atención que hay otros estudios que no encuentran diferencia estadísticamente estadística(15), por lo que es importante realizar estudios con mayor número de pacientes en cada una de las poblaciones afectadas.

La edad de presentación predominó en entre la primera y segunda década de la vida (72.72%) lo que concuerda con el estudio de Carlos y Sedano que reporta un promedio de edad de 11 años, con un rango de 5 a 38 años, notando que el 97% de los pacientes se encontraban en la primera y segunda décadas de la vida (12); y con Rodríguez en Colombia que en su estudio de 42 pacientes notó que el 70% eran menores de 16 años y el 30% restante eran adultos (16). Estos resultados pueden apoyar que la presentación de la enfermedad en poblaciones latinoamericanas prevalece en niños, aunque Padayachee en Sudáfrica también reporta una media de 17 años y un rango de 2 a 69 (46). Sin embargo en esquimales la condición parece ser más prevalente en adultos mayores de 30 años (25,61). Beaudenon en Dinamarca, encontró un promedio de edad de 42

Se obtuvieron 7 tipos diferentes de HLA-DR siendo el DR4 el único estadísticamente significativo (Cuadro 2), y 6 subtipos de DR siendo el DRB1*0404 el único estadísticamente significativo (Cuadro 3).

XI. DISCUSIÓN:

En este estudio se observó una discreta predilección por los hombres Beaudenon en Dinamarca, en su estudio de 24 pacientes observó que el 84% eran hombres (27) y Padayachee en Sudáfrica en su estudio de 18 pacientes observó que el 61% eran hombres (46); por otra parte Carlos y Sedano en Guatemala en su estudio de 110 pacientes observó una relación hombre-mujer de 1 2 2. La diferencia en la relación hombre-mujer en estos estudios puede deberse al tipo de población en estudio y la cantidad de pacientes, llama la atención que hay otros estudios que no encuentran diferencia estadísticamente estadística(15), por lo que es importante realizar estudios con mayor número de pacientes en cada una de las poblaciones afectadas.

La edad de presentación predominó en entre la primera y segunda década de la vida (72.72%) lo que concuerda con el estudio de Carlos y Sedano que reporta un promedio de edad de 11 años, con un rango de 5 a 38 años, notando que el 97% de los pacientes se encontraban en la primera y segunda décadas de la vida (12), y con Rodríguez en Colombia que en su estudio de 42 pacientes notó que el 70% eran menores de 16 años y el 30% restante eran adultos (16). Estos resultados pueden apoyar que la presentación de la enfermedad en poblaciones latinoamericanas prevalece en niños, aunque Padayachee en Sudáfrica también reporta una media de 17 años y un rango de 2 a 69 (46). Sin embargo en esquimales la condición parece ser más prevalente en adultos mayores de 30 años (25,61). Beaudenon en Dinamarca, encontró un promedio de edad de 42

años, con un rango de 14 a 76 años (27), lo cual es similar a lo observado por Henke en Noruega, donde la edad de presentación promedio fue de 50 años con un rango de 28 a 76 años (43), además de la existencia de múltiples reportes de casos de pacientes mayores de 18 años (9,24,27,28,33,39,40,43,46).

Las características clínicas, la localización y la falta de respuesta a tratamientos establecidos concuerda con lo esperado y reportado.

La evolución es difícil de establecer y por lo tanto poco reportada, Carlos y Sedano mencionan que las lesiones son asintomáticas por lo que se descubren en forma incidental (12). Es muy difícil de establecer con certeza el tiempo de evolución, en la mayoría de las ocasiones el diagnóstico se establece cuando se acude a revisión médica o en el caso de los niños cuando los papas las notan y acuden con un especialista. Hay reportes de pacientes con evolución de 20 años (16,28), en nuestro estudio el tiempo de evolución más largo fue de 34 años en una persona de 49 años, el promedio fue de 8.3 años con un rango de 1 mes a 34 años. Llamó la atención que un paciente de 43 años tenía una evolución de 7 años lo que indica que inició a edad adulta. En general la evolución se menciona en las diferentes publicaciones de meses, inclusive semanas, hasta 6 años (9,11,13,17,20,24,28,32,39,40,47), pero la mayoría de los reportes de casos o de series no lo mencionan.

La asociación con otras enfermedades virales no se ha establecido con claridad, el único reporte de serie de casos que menciona este dato es el Beaudenon en donde se observa que de 24 pacientes 8 tienen otra enfermedad viral, es decir el 33.3%, de estos 6 son verrugas vulgares y 2 condilomas. En nuestro estudio fue similar pues se observó otra enfermedad viral en 9 pacientes (40%) y al igual que en el estudio anterior las verrugas vulgares fueron las que predominaron. Este hecho nos obliga a descartar una infección o reinfección de las lesiones cutáneas hacia la cavidad oral o una susceptibilidad a infecciones

virales Este ha sido un hallazgo poco constante en la literatura y quizá tenga que ver con la falta de búsqueda intencionada de estas lesiones.

El antecedente familiar también es un dato poco constante en la serie de casos, pero si hay una gran cantidad de reportes de casos que mencionan la presentación de más de un caso en una misma familia (9,14,15,30,45,50,51). Matute y cols en Colombia en su estudio de 15 pacientes notaron que el 33% de los pacientes tenía algún grado de consanguinidad o antecedente familiar de la enfermedad (15), Carlos y Sedano reporta que el 24.6% de sus pacientes tenían por lo menos un hermano o un primo afectado (12). En nuestro estudio se encontró el antecedente de algún miembro de la familia con esta enfermedad en 16 pacientes (72.72%). Lo que puede sugerir una transmisión viral directa, entre individuos genéticamente susceptibles.

Llama la atención que ha sido ampliamente reportado la etiología viral de esta enfermedad, causada por el VPH 13 y 32 (10,27,43,52) Sin embargo en nuestra población solo se aisló el VPH 13 en diecisiete de los veinte pacientes (85%) a los que se les realizó tipificación viral; pero ya desde 1987 Hernández en México aisló DNA solamente del VPH 13 por hibridización *in situ* (Southern blot) en 7 pacientes mexicanos. Lo anterior puede sugerir que existe una predilección de cualquiera de estos dos virus por una población étnica específica y probablemente con un comportamiento de la enfermedad diferente.

La identificación del HLA-DR en nuestros pacientes mostró al alelo DR 4 elevado en forma estadísticamente significativa, este alelo se ha observado en poblaciones indígenas como los Mazatecos y Nahuas (72) por lo que se considera un alelo prevalente entre poblaciones oriundas con poco mestizaje; un país con estas características es Guatemala, lo que explicaría la alta prevalencia de pacientes con HEF en ese país.

El subtipo de DR4 que se encontró elevado en forma estadísticamente significativa fue el DRB1*0404, el cual es un pobre presentador antigénico por su secuencia de aminoácidos en la 3o región hipervariable que restringe la presentación antigénica de péptidos (73). Con lo anterior podemos crear una teoría: Al entrar el virus a célula del huésped, el DNA viral se separa de la capsida. ambas proteínas, toman dos caminos; el primero mediado por moléculas del CMH clase I, que presenta a péptidos derivados de la replicación del DNA viral en el núcleo a linfocitos CD8, y el segundo mediado por moléculas del CMH clase II, que presenta péptidos derivados de la capsida a linfocitos CD4. Esta última vía mostró ser deficiente en *pacientes con HEF, probablemente esta alteración de cómo consecuencia la acumulación de péptidos derivados de la capsida dentro de la célula, dando la imagen de figuras "mitosoides" (Fig.7).* Probablemente con el tiempo esta deficiencia se corrija, por que la mayoría de las veces esta enfermedad es *autorresolutiva, otra opción sería que las moléculas del CMH clase I supla las funciones de las moléculas de clase II.*

No hay ninguna relación de los haplotipos encontrados en este estudio y los observados en *papilomatosis laríngea o cáncer cervico-uterino, ambas entidades asociadas a VPH y en las que se ha evidenciado susceptibilidad genética*

A pesar de la trascendencia que puedan tener los factores genéticos, es necesario reconocer que los estímulos ambientales son también importantes en el *desarrollo de esta enfermedad.* Al respecto, Carlos y Sedano mencionaba que toda su población de estudio pertenecía a un nivel socioeconómico bajo, es decir el 90% ganaba menos de 200 dólares al mes, además no se encontró ningún niño afectado en 2,452 niños estudiados que acudían a 5 escuelas primarias particulares (12); lo que concuerda con nuestros resultados, donde el 100% de nuestra población pertenecía el nivel socioeconómico bajo, por lo que hay que

identificar si la desnutrición de esta población contribuya con el desequilibrio inmunológico genéticamente susceptible con el que cuentan estos paciente.

XII. CONCLUSIÓN:

Es necesario un estudio de campo en poblaciones afectadas para determinar edad, sexo, evolución, antecedente de otras enfermedades virales y antecedente de familiares afectados por esta entidad, además del tipo de VPH prevalente en cada población.

La población mexicana con HEF solo esta afectada por el VPH 13.

*El Locus HLA-DR interviene en la fisiopatogénia de la HEF en individuos genéticamente susceptibles con alelos HLA-DR4 (homocigotos), y de este el subtipos de DR4 (DRB1 *0404) que tiene una secuencia de aminoácidos en la 3ª región hipervariable que probablemente restringe la presentación antigénica de péptidos derivados de la capsida viral a los linfocitos CD4 y de cómo consecuencia la acumulación de estos péptidos dentro de la célula, dando la imagen de figuras "mitosoides".*

identificar si la desnutrición de esta población contribuya con el desequilibrio inmunológico genéticamente susceptible con el que cuentan estos paciente.

XII. CONCLUSIÓN:

Es necesario un estudio de campo en poblaciones afectadas para determinar edad, sexo, evolución, antecedente de otras enfermedades virales y antecedente de familiares afectados por esta entidad, además del tipo de VPH prevalente en cada población.

La población mexicana con HEF solo esta afectada por el VPH 13.

El Locus HLA-DR interviene en la fisiopatogénia de la HEF en individuos genéticamente susceptibles con alelos HLA-DR4 (homocigotos), y de este el subtipos de DR4 (DRB1 *0404) que tiene una secuencia de aminoácidos en la 3ª región hipervariable que probablemente restringe la presentación antigénica de péptidos derivados de la capsida viral a los linfocitos CD4 y de cómo consecuencia la acumulación de estos péptidos dentro de la célula, dando la imagen de figuras "mitosoides".

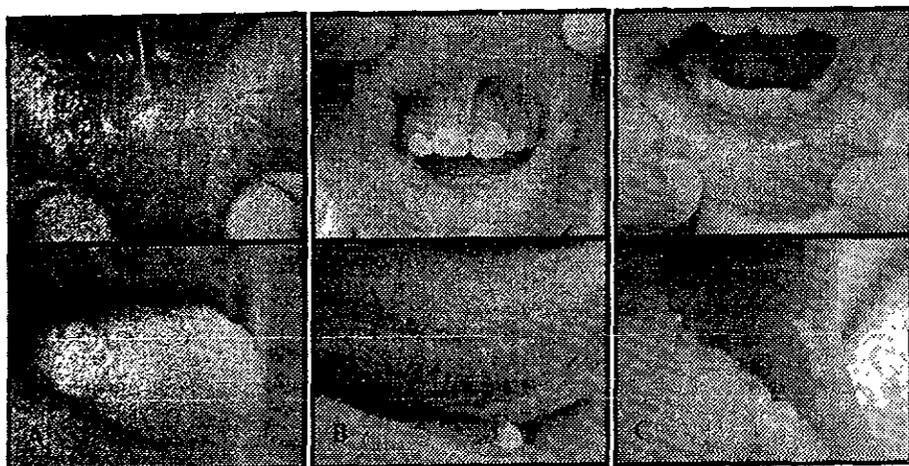


Fig 1 - Neoformaciones de aspecto papular de superficie lisa y brillante.
 A) lesiones en un adulto, B) y C) lesiones en niños

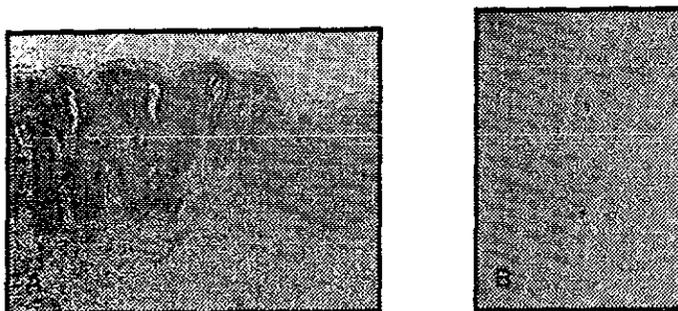


Fig 2 - A) Acanthosis, procesos interpapilares alargados y ensanchados. B) Fig "mitosoides".



Fig 3.- Familias afectadas que se incluyeron en el estudio.

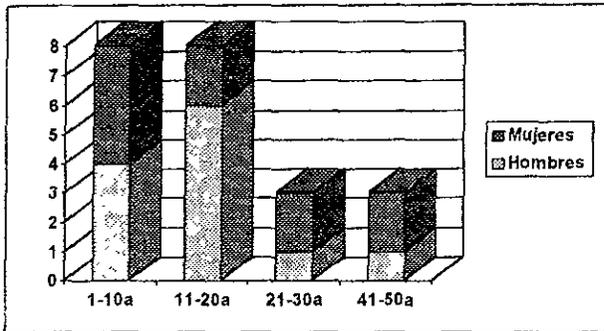


Fig. 4.- Edad y sexo.- Predominio en la 1º y 2º década de la vida, y en el sexo masculino.

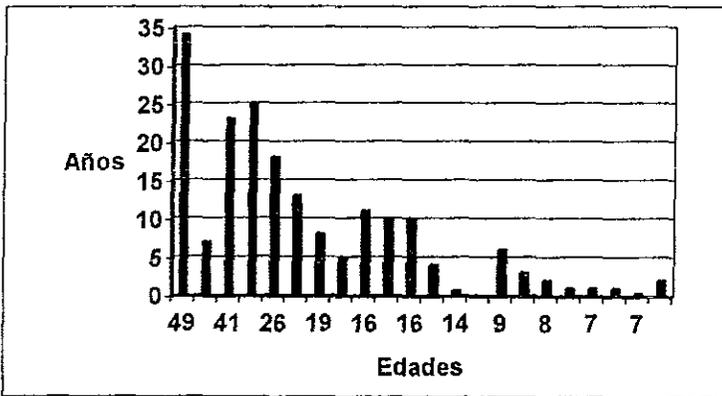


Fig.5.- Tiempo de evolución.

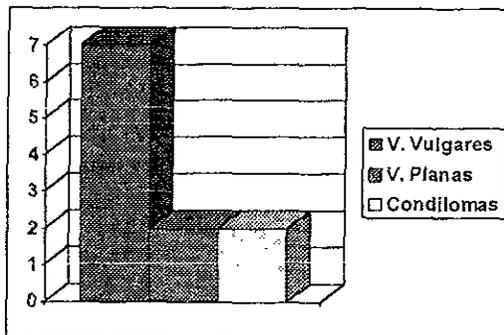


Fig.6 - Asociación con otras enfermedades virales.

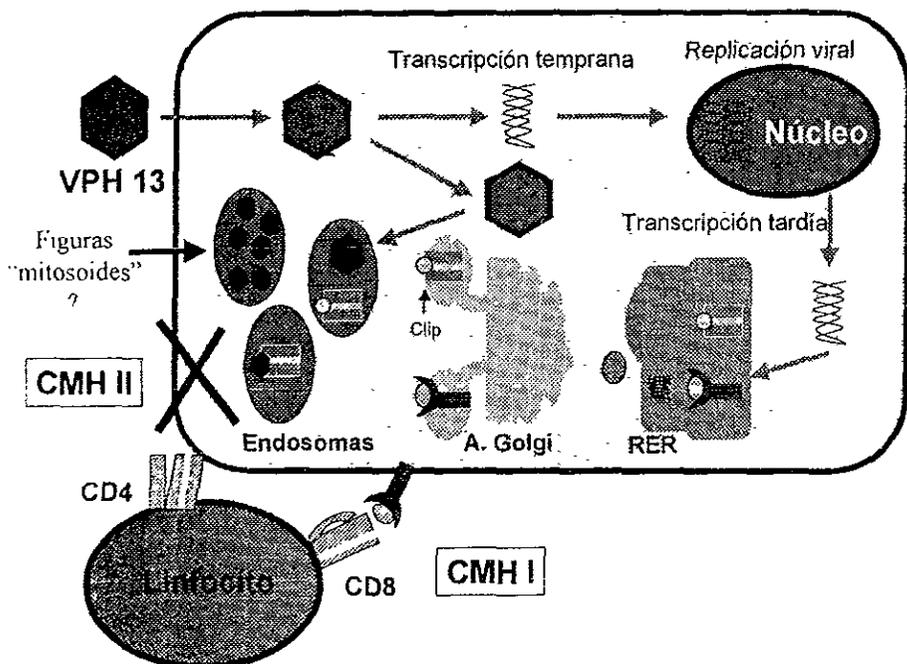


Fig 7 - Esquema de las vías del CMH clase I y II. El virus entra a la célula, el DNA viral se separa de la capsida; el DNA viral toma la vía mediada por el CMH clase I para ser presentado a los linfocitos CD8. Las proteínas de la capsida toman la vía mediada por el CMH clase II para ser presentados a los linfocitos CD4; esta última vía es deficiente por lo que probablemente no sean eliminados estos péptidos adecuadamente y al acumularse dan la apariencia de figuras "mitosoides"

Cuadro 1.- Localización de las lesiones

	Número de paciente	%
Mucosa de labio inferior	20	90.90
Mucosa de labio superior	18	81.81
Lengua	16	72.72
Carrillo	15	68.18
Comisura	14	63.63
Paladar	3	13.63

Cuadro 2 - Frecuencia génica del DR genérico

DR	Casos N=44 n	fg	Controles N=198 n	fg	P	RR	(IC 95%)
DR4	24	0.545	47	0.237	0.0001	3.8	(1.86-8.03)
DR8	7	0.159	33	0.165	NS		
DR14	7	0.159	21	0.105	NS		
DR10	2	0.045	1	0.005	NS		
DR11	2	0.045	20	0.100	NS		
DR1	1	0.022	10	0.050	NS		
DR16	1	0.022	5	0.025	NS		

Cuadro 3.- Frecuencia génica de los subtipos de DRB1*04

Alelo DRB1*04	Casos N=44 n	Fg	Controles N=198 n	fg	P	RR	(IC 95%)
DRB1*0404	8	0.181	9	0.045	0.004	4.6	(1.5-14.34)
DRB1*0407	6	0.136	21	0.106	NS		
DRB1*0411	4	0.090	3	0.015	NS		
DRB1*0410	2	0.045	2	0.010	NS		
DRB1*0403	2	0.045	4	0.020	NS		
DRB1*0408	2	0.045	1	0.005	NS		

XIV. BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Praetorius-Clausen F, Geographical aspects of oral focal epithelial hyperplasia. *Phatol Microbiol* 1973;39:204-13.
- 2.- Archard, HW, Heck JW and Stanley HR. Focal epithelial hyperplasia. An unusual oral mucosa lesion found in indian children. *Oral Surg* 1965,20:201-212.
- 3 - Estrada L Informe preliminar sobre algunos aspectos odontológicos en los Indios Caramanta. *Bol Inst Antropol Medellin Colombia* 1956;1:319-21.
- 4.- Estrada L. Estudio médico y odontológico de los Indios Katios del Choco. *Temas Odontológicos Medellín Colombia* 1960;7:198-210.
- 5 - Reyes DG, Verrugas de la cavidad oral. *Rev Cal Med Guatemala* 1962;13:223-226.
- 6 - Soneira A, Fonseca N. Sobre una lesión de la mucosa oral en los niños Indios de la Misión Los Angeles del Tokuko. *Venez Odont* 1964;29:109-22.
- 7- Witkop CJ and Niswander JD. Focal Epithelial Hyperplasia in Central and South American Indians and Ladinos. *Oral Surg* 1965;20:213-17.
- 8 - Tan KN, Medak H, Cohen L. Focal Epithelial Hyperplasia in a Mexican Indian. *Arch Dermatol* 1969;100:474-77.
- 9- Paz-Bueso HR, Hernández-Jauregui P, Espinosa-Larios EL, Tamayo-Pérez R. Hiperplasia epitelial focal: primer informe en México. Estudio clínico y de microscopia de luz y ultraestructural. *Arch Invest Med (Mex)* 1986;17:157-66.
- 10 - Hernández-Jauregui P, Tamayo-Pérez R, Petersson U, Moreno-López J. Human papillomavirus type 13-DNA in focal epithelial hyperplasia among Mexicans. *Arch Virol* 1987;93:131-7.
- 11 - Cohen PR, Hebert AA, Adler-Storthz K. Focal epithelial hyperplasia: Heck Disease. *Pediatric Dermatology* 1993;10(3):245-51.
- 12 - Carlos BR, Sedano HO. Multifocal papilloma virus epithelial hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77:631-5.

- 13 - Menéndez OR. Múltiples crecimientos benignos e idiopáticos de la mucosa bucal. *Acta Odont Pediat* 1980;1(2):88-94.
- 14.- Gómez A, et al. Focal epithelial hyperplasia in a half-breed family of Colombia *J Am Dent Assoc*. 1969;79:663-7.
- 15 - Matute TG, González PLV, Acosta OE, Restrepo VM. Prevalencia de hiperplasia epitelial focal en escolares de la comunidad indígena de cristinanía, Municipio de Jardín, Antioquia, 1998. *Rev Fac Odontol* 1999,11(1):15-19.
- 16 - Rodriguez TG. Hiperplasia epitelial focal de la boca en Colombia (Enfermedad de Heck). *Biomédica* 1989;9:120-32.
- 17.- Acevedo A, Martínez GG, Nelson JF. Focal epithelial hyperplasia. *Oral Surg* 1981;51(5):524-26.
- 18 - Phillips H and Williams A. Focal epithelial hyperplasia: Report of a case. *Oral Surg* 1968;26:619-22.
- 19 - Decker WG, Guzman MN. Focal epithelial hyperplasia: Report of four cases in Mestizos from Cochabamba, Bolivia. *Oral Surg* 1969;27:15-19.
- 20 - Fiandrino MJ, Boente MC, Frontini MV, Asial RA, Winik BC. Hiperplasia epitelial focal: estudios clínico-patológico. *Dermatol Argent* 2000;1:41-3.
- 21 - Fischman SL. Focal epithelial hyperplasia: Case report from Paraguay and Peru. *Oral Surg* 1969;28:389-393.
- 22 - Borghelli RF, Stirparo MA, Paroni HC, Barros RE, Domínguez FV. Focal epithelial hyperplasia: Report of five new cases from Argentina. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975;40:107-12.
- 23 - Praetorius-Clausen F, Emmertsen M. Occurrence of focal epithelial hyperplasia among Amerindians in Ecuador. *Int J Oral Surg* 1973;2:45-53.
- 24 - Goodfellow A and Calvert H. Focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa: A case report from the United Kingdom. *Br J Dermatol* 1979,101:341-4.
- 25 - Praetorius-Clausen F, Møgeltoft M, Roed-Petersen B, Pindborg JJ. Focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa in a south-west Greenlandic population. *Scand J Dent Res* 1970; 78:287-94.

- 26 - Jarvis A, Gorlin RJ. Focal epithelial hyperplasia in an Eskimo population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;33:227-8.
- 27.- Beaudenon S, Praetorius F, Kremsdorf D, *et al.* A new type of human papillomavirus associated with oral focal epithelial hyperplasia. *Invest Dermatol* 1987;88:130-5.
- 28.- Buchner A and Ramon Y. Focal epithelial hyperplasia. *Arch Dermatol* 1973;107:97-8.
- 29.- Moussavi S. Focal epithelial hyperplasia: Report of two cases and review of literature. *J Am Dent Assoc* 1986;113:900-2.
- 30.- Perriman A, Uthman A. Focal epithelial hyperplasia: Report of seven cases from Iraq. *Oral Surg* 1971;31:221-5.
- 31.- Hettwer KJ and Rodgers MS. Focal epithelial hyperplasia (Heck's Disease) in a Polynesian. *Oral Surg* 1966;22:466-70.
- 32.- Obalek S, Janniger C, Jablonska S, Favre M, Orth G. Sporadic cases of Heck disease in two Polish girls: Association with human papillomavirus type 13. *Pediatric Dermatology* 1993;10(3):240-4.
- 33 - Luomanen M. Oral focal epithelial hyperplasia removed with CO2 laser. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1990;19:205-7.
- 34.- Urquhart DK. Focal epithelial hyperplasia [letter]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61:617.
- 35.-Axéll T, Hammarström L, Larsson A. Focal epithelial hyperplasia in Sweden. *Acta Odontol Scand* 1981;39:201-8.
- 36.- Pilgard G. Focal epithelial hyperplasia: Report of nine cases from Sweden and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984;57:540-3.
- 37 - Samson J, Fiore-Donno G, Avizara N. Focal epithelial hyperplasia: Report of the first cases observed in Switzerland. *Dermatologica* 1985,171:308-15
- 38.- Ficarra G, Adler-Storthz K, Galeotti F, Shillitoe E. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease): The first reported case from Italy. *Tumori* 1991;77:83-5.
- 39.- Lamey PJ, Lewis MAO and Rennie JS. Heck's disease. *Br Dent J* 1990,168:251-2.

- 40 - Morrow DJ, Sandhu HS and Daley TD. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease) with generalized lesion of the gingiva. A case report. *J Periodontol* 1993;64:63-5.
- 41 - El-Khashab MM. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971;31:637-46.
- 42 - Starink TM, Woerderman MJ. Focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa: Report of two cases from the Netherlands and review of literature. *Br J Dermatol* 1977;96:375-80.
- 43 - Henke RP, Guerin-Reverchon I, Milde-Langosch K, Strömme-Koppang H, Loning T. *In situ* detection of human papillomavirus types 13 and 32 of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 1989;18:419-21.
- 44 - Van Wyk CW. Focal epithelial hyperplasia of the mouth recently discovered in South Africa. *Brit J Dermatol* 1977;96:381-8.
- 45 - Van Wyk CW, Staz J, Farman AG. Focal epithelial hyperplasia in a group of South Africans: Its clinical and microscopic features. *J Oral Pathol* 1977;6:14-24.
- 46 - Padayachee A, Van Wyk CW. Human papillomavirus (HPV) DNA in focal epithelial hyperplasia by *in situ* hybridization. *J Oral Pathol Med* 1991;20:210-214.
- 47 - Landells IDR, Prendiville JS. Oral mucosal lesion in a Somalia boy. *Pediatric Dermatology* 1994;11(3):274-6.
- 48 - Sawyer DR, Arole G, Mosadomi A. Focal epithelial hyperplasia: Report of three cases from Nigeria, West Africa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;56:183-9.
- 49 - Ghandour I. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease) in a Sudanese girl: Case report. *E Afr Med J* 1989;66:834-6.
- 50 - Garlick JA, Calderon S, Buchner A, Mitrani-Rosenbaum S. Detection of human papillomavirus in focal epithelial hyperplasia. *J Oral Pathol Med* 1989;18:172-7.

- 51.- Schock RK. Familiar focal epithelial hyperplasia: Report of a cases. *Oral Surg* 1969;28:598-602.
- 52 - Pfister H, Herlich I, Runme V, Gissmann L, Gabriel N. Characterization of human papilloma type 13 from focal epithelial hyperplasia Heck Lesions. *J Virology* 1983;47:363.
- 53 - Clausen FP. Histopathology of focal epithelial hyperplasia: Evidence of viral infection *Tandlaegebladet* 1969 73:1013-22
- 54 - Praetorius-Clausen F and Willis JM. Papovavirus-like particles in focal epithelial hyperplasia. *Scand J Den Res* 1971;79:362
- 55.- Hanks CT, Fischman SL and de Guzman MN. Focal epithelial hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;33:934.
- 56.- Petzoldt D, Pfister H. HPV 1 DNA in lesions of focal epithelial hyperplasia Heck. *Arch Dermatol Res* 1980;268:313-4.
- 57.- Lang E, Zabel M, Ikenberg H. Fokale epitheliale hyperplasie (Morbus Heck). Beitrag zur viralen Genese. *Dtsch Med Wochenschr* 1984;109 1763-6.
- 58.- De Villiers EM, Neumann C, Le JY, Waidauer H, zur Hausen H. Infección of the oral mucosa with defined types of human papillomaviruses. *Med Microbiol Immunol* 1986;174:287-94.
- 59.- Syrjanen SM, Syrjänen K, Happonen R-P, Lamberg MA. In situ DNA hybridization analysis of human papillomavirus (HPV) sequences in benign oral mucosa lesions. *Arch Dermatol Res* 1987;279:543-9.
- 60.- Jaramillo F, Rodriguez G. Multiple oral papules in a native South American girl: Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease). *Arch Dermatol* 1991;127:887-92.
- 61.- Stiefler RE, Solomon MP, Shalita AR. Heck' disease (Focal epithelial hyperplasia). *J Am Acad Dermatol* 1979,1:499-502
- 62 - Hollander CF, van Noord MJ, Rijswijk ZH. Focal epithelial hyperplasia: A virus induced oral mucosal lesion in the chimpanzee. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;33:220-6.

- 63.- Van Ranst M, Fuse A, Sobis H *et al.* A papillomavirus related to HPV type 13 in oral focal epithelial hyperplasia in the pygmy chimpanzee. *J Oral Pathol Med* 1991;20:325-31.
- 64.-Sow-Yed C Focal epithelial hyperplasia in rabbit oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 1979;8:213-23.
- 65 - Rhodes DA, Trowsdale J. Genetics and molecular genetic of the MHC *Reviews in immunogenetic* 1999;1:21-31.
- 66 - Rabah R, Lancaster W, Gregoire L. Laryngeal papillomatosis: viral genotype and HLA haplotype. *Lab Invest* 1998;78(1):5.
- 67 - Silva B, Vargas-Alarcón G, Zúñiga-Ramos J *et.al.* Genetic features of mexican women predisposing to cancer of the uterine cervix. *Hum Pathol* 1999;30:626-628.
- 68 - Premoli-De-Percoco G, Cisternas JP, Ramírez JL, Galindo I. Focal epithelial hyperplasia: Human-papillomavirus-induced disease with a genetic predisposition in a Venezuelan family. *Hum Genet* 1993;91(4).386-88.
- 69.- De leo C, Castelan N, Lopez M, Gonzalez N, *et. al.* HLA class I and class II alleles and haplotypes in mexican mestizos established from serological typing of 50 families. *Human Biology* 1997;69(6):809-818.
- 70 - Davis RW, Thomas M, Cameron J, St John TP, Padgett RA. Rapid DNA isolation for enzymatic and hybridization analysis. *Methods Enzimol* 1980,65:404-11.
- 71.- Protocols from the 12th International Histocompatibility Workshop, Paris, France, June 1996.
- 72 - Vargas-Alarcón G, Gamboa R, Zúñiga J, *et al.* HLA-DR4 Allele frequencies on Indian and Mestizo population from México. *Human Immunology* 2000;61:341-344
- 73.- Structures of an MHC Class II molecule with covalently bound single peptides. Fremont DV, Hendrickson WA, Marrack P, Kappler J. *Science* 1996;272:1001-1004.

XV. Anexo 1
Hoja de Captura de Datos

No. _____

Nombre: _____ Registro: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Ocupación: _____

Originario / Residente: _____

=====

Sitio de lesiones: _____

Tiempo de evolución: _____

Tratamientos previos. _____

Recurrencia: _____

Otras Enf. virales: _____

Familiares afectados: _____

HLA DR: _____

Tipificación viral: _____

Anexo 2

Carta de Consentimiento

Hago constar que se me invito a formar parte del proyecto de investigación titulado "Análisis del HLA-DR en pacientes mexicanos con Hiperplasia epitelial focal y determinación de los virus del papiloma humano asociados". Se me ha explicado que el objetivo de la investigación es el de identificar si hay algún factor genético predisponente en población mexicana para el desarrollo de mi enfermedad y que tipo de virus se asocian.

Como parte de este estudio seré revisado por médicos especialistas y se obtendrá una muestra de sangre periférica y en caso necesario biopsia de mucosa oral. Hago constar que se me ha explicado en que consiste este procedimiento y cuáles son las probables molestias ocasionadas.

Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración e información sobre la investigación en cualquier momento del desarrollo de la misma. También entiendo que puedo retirarme en el momento que desee y sin que esto me afecte en futuros tratamientos que requiera en el hospital.

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma del investigador

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo