

Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Medicina  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y la Nutrición Salvador Zubirán

ALELOS DEL HLA DR ASOCIADOS CON LA PRESENCIA DE VERRUGAS CUTÁNEAS  
CAUSADAS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

Tesis para obtener el Grado en :  
Maestría en Ciencias Médicas

Propone: Dra. Cristina Itzamma García Corona  
Dermatóloga  
Dpto. de Dermatología  
H.G. Dr. Manuel Gea González

Tutor: Dr. Julio Granados Arriola  
Investigador SNI III  
Dpto de Reumatología e Inmunología  
INCMNSZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## INDICE

Antecedentes	2
Marco de Referencia	6
Planteamiento del problema	7
Justificación	8
Objetivos	8
Hipótesis	8
Metodología	9
Procedimientos	11
Análisis Estadísticos	12
Consideraciones Éticas	13
Resultados	13
Discusión	16
Bibliografía	19
Anexo 1	22
Anexo 2	23

## ANTECEDENTES

### ENTIDAD CLÍNICA DE ESTUDIO: VERRUGAS VIRALES

Las verrugas cutáneas son proliferaciones benignas de la piel y mucosas que resultan de la infección por el virus del papiloma humano (VPH), se consideran tumores epidérmicos benignos y aunque su presentación en la población general es muy frecuente su transmisión es limitada. El curso clínico se caracteriza por lesiones de superficie anfractuosa poco elevadas, se clasifican de acuerdo a su morfología y localización en: planas, vulgares, plantares o acuminadas. Los subtipos del VPH correlacionan con el tipo de verruga; por ejemplo, los subtipos 2 y 4 lo hacen con verrugas vulgares, el 1 y 2 con verrugas plantares, el 3 y 10 con verrugas planas, y el 75 y 77 lo hacen con pacientes inmunosuprimidos por transplante renal<sup>1</sup>. Es una de las 10 dermatosis más frecuentes en México, en el Hospital General de México se encuentra entre las cinco primeras enfermedades de la piel en 10,000 consultas pediátricas<sup>2</sup>. En el departamento de dermatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” se observa una prevalencia del 3.6% anual (no publicado), similar a lo reportado en San Francisco donde varía del 3% al 5%<sup>3</sup>. En Alemania la prevalencia en la población escolar es del 7.2% y en EUA se encuentra una incidencia del 10% con predominio en niños y adultos jóvenes, misma que disminuye notablemente durante la vejez<sup>4</sup>. Con respecto a la relación hombre/mujer lo reportado va de 0.8 a 0.9<sup>5,6</sup>.

El contagio del VPH probablemente dependa de diversos factores, donde se incluye la localización de la lesión, cantidad del virus, grado y naturaleza del contacto, y principalmente el estado inmunológico específico en contra del VPH del individuo expuesto. Pacientes con deficiencia de la inmunidad mediada por células (CMI) son particularmente susceptibles a la infección por el VPH, como los pacientes transplantados renales o pacientes con terapia inmunosupresora. La fuente o reservorio del VPH son individuos con lesiones clínicas o subclínicas, así como la presencia del virus en el medio ambiente.

La evolución y la respuesta al tratamiento es variable en cada individuo, en algunos casos las lesiones son autolimitadas, otros pacientes responden adecuadamente al tratamiento,

y algunos más son refractarios al tratamiento, siendo esta última situación más difícil en pacientes inmunosuprimidos.

## CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

El VP es un virus de doble cadena de DNA, que se encuentra en los humanos y en otras especies, es altamente específico de cada huésped. Cada genoma se compone de aproximadamente 8000 pares de bases de nucleótidos, este genoma codifica sólo ocho o nueve proteínas, que se han separado históricamente en dos grupos, el “E” de “early” y el “L” de “late”. Las proteínas E principalmente participa en la replicación del DNA viral, regulando la expresión genética, se expresa antes de la proteína L y no se incorpora a las partículas virales infecciosas. Las proteínas L1 y L2 codifican proteínas estructurales que forman las proteínas de la cápside.

## PATOGÉNESIS DE LA ENFERMEDAD

Sobre la patogénesis podemos decir, que el mecanismo de inoculación es favorecido por una epidermis viable por defectos en el epitelio, como la maceración. Se piensa que existen células receptoras para el VPH, la evidencia experimental propone a las integrinas tipo  $\alpha 6\beta 4$ , éstas son moléculas de adhesión encontradas en la superficie de queratinocitos basales, cuando estas células basales se dividen, el genoma viral también se replica y es transportado dentro de las células hijas que migran hacia la superficie del epitelio<sup>7</sup>. En modelos experimentales con inoculación por VPH requiere de 3 a 9 meses para que la verruga se haga aparente, por lo que hay un periodo de infección subclínica, lo que puede significar una fuente de infección<sup>7</sup>.

La expresión del RNA de transcripción viral permanece lento hasta llegar justo antes de la capa granular, entonces comienza la replicación del DNA, resultando cientos de copias de DNA viral por célula. Las proteínas de la cápside (L1 y L2) son sintetizadas y ensamblada en viriones en el núcleo de la célula. Proteínas virales llamada E1-E4, producidas por la unión de RNA de los genes E1 y E4, pueden inducir colapso de los filamentos de queratina citoplasmática y se postula que este hecho facilita la liberación de viriones desde el citoesqueleto de la célula hacia otros sitios o hacia el medio ambiente. Por otro

lado, también son muy importantes las proteínas E5, E6 y E7, las cuales se relacionan con la facilidad que tiene el virus para alterar la proliferación celular.

El papel de la susceptibilidad genética para desarrollar la infección causada por el VPH aún no está completamente establecido, así como tampoco el mecanismo de la respuesta inmunológica para eliminar la infección. Se piensa que la inmunidad innata puede contribuir en la resistencia a la infección, pero la mayor parte de la evidencia sugiere que la inmunidad adquirida juega un papel significativo en la regresión de las lesiones, dado que los individuos con deficiencia en la CMI son particularmente susceptibles y es notoria la resistencia al tratamiento. En un estudio realizado en Londres por Coleman en verrugas genitales, se muestra cómo las lesiones con regresión espontánea muestran una respuesta inmune celular activa ya que contienen más cantidad de linfocitos T activados CD4+ y CD8+ en el estroma y en epitelio superficial, además de una marcada expresión en CD 25 y HLA DR, este último junto con el ICAM1 se encuentran ampliamente distribuidos en los queratinocitos de las células epiteliales escamosas de las verrugas en regresión<sup>8</sup>. Algo similar se ha observado en pacientes con verrugas planas que presentan regresión espontánea, pues en estas lesiones se observa un infiltrado celular mononuclear; además de la evidencia en algunos casos, que cuando se da tratamiento a una o varias verrugas, esto lleva a la resolución completa de todas las lesiones en pacientes inmunocompetentes<sup>9</sup>.

La manera en que responden los linfocitos T a la presentación antigénica aún no está muy clara, las células de Langerhans son las principales presentadoras de antígenos a los linfocitos T en la superficie del epitelio, en las infecciones por VPH éstas células se encuentra disminuidas y tiene alteraciones morfológicas<sup>10</sup>, en el estudio de Coleman el número de células de Langerhans (CD1a+) intraepitelial no fue estadísticamente diferente en verrugas con regresión y no regresión espontánea, aunque sí mostraron en ambos casos anomalías en su morfología<sup>8</sup>.

Por último se observa un descenso en la frecuencia de presentación de las verrugas virales en piel con la edad<sup>4</sup>, lo que puede implicar que con el tiempo se desarrolla resistencia a la infección inclinando la balanza a la inmunidad adquirida en la fisiopatología de la eliminación del virus.

## POLIMORFISMO DE LOS GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH)

Las alteraciones genéticas de interés se pueden conocer estudiando el cromosoma involucrado, en el caso de los genes del Complejo Principal de Histocompatibilidad (CMH), en el humano se conoce como Complejo HLA (del inglés: Human Leucocyte Antigens) se localizan en el brazo corto del cromosoma 6 y abarca aproximadamente 4,000 Kb, se dividen en Clase I (HLA-A, B y C), Clase II (HLA-DR, DP y DQ) y Clase III (TNF, HSP 70 y los genes del complemento: C4A, C4B, C2 y FB), regula la respuesta inmunológica discriminando lo propio de lo extraño. Los antígenos HLA de clase II están formados por dos cadenas de glicoproteínas unidas por enlaces no covalente, ligadas a la cadena por una porción intracelular. A estas cadenas se les llama  $\alpha$  y  $\beta$ , cada una de las cadenas consta de tres regiones: una región extracelular, un segmento transmembranal y una porción intracitoplasmática. Ambas cadenas tienen dos dominios extracelulares, cada uno denominado  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  y  $\beta 2$  respectivamente. En cuanto al locus HLA DR, la cadena  $\beta$  es extremadamente polimórfica y la cadena  $\alpha$  es constante; las moléculas HLA DP y DQ en ambas cadenas presentan polimorfismo, donde la cadena  $\beta$  es más polimórfica que la cadena  $\alpha$ .

La identificación de los marcadores genéticos de susceptibilidad Clase I y II permitirá conocer el mecanismo de la enfermedad desde el punto de vista de inmunidad adquirida, pues la función del producto de estos genes es la presentación de péptidos derivados de antígenos infecciosos. Los linfocitos T reconocen un antígeno sólo cuando éste es expuesto en unión con una molécula del CMH, por medio de una célula presentadora de antígenos, en general las moléculas de clase I unen péptidos de proteínas intracelulares y las de clase II presentan péptidos de proteínas extracelulares, aunque moléculas de clase I y II también pueden presentar antígenos extracelulares e intracelulares<sup>11</sup>. En conclusión los posibles mecanismos de asociación entre el CMH y la presencia de enfermedades se pueden resumir de la siguiente manera: alteración molecular de autoantígenos, similitud molecular entre antígenos propios y foráneos, moléculas del CMH como receptores para agentes patógenos, alteraciones del repertorio de células T adultas, expresión inapropiada de moléculas del CMH, interacción del CMH con moléculas coestimuladoras, y genes alterados de la región central del CMH (complemento, proteínas de choque térmico, FNT, etc).

## MARCO DE REFERENCIA

### ESTUDIOS PREVIOS DEL CMH E INFECCIONES POR VPH

Entre los primeros estudios que relacionan el HLA y la infección por VPH se encuentra uno realizado en conejos donde se observa que la regresión de lesiones inducidas por VPH está unido a los haplotipos CMH clase II<sup>12</sup>; posteriormente en verrugas genitales Coleman reporta cómo las lesiones con regresión espontánea muestran una respuesta inmune celular activa y una marcada expresión de receptores HLA DR los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en los queratinocitos de las células epiteliales escamosas<sup>8,10</sup>.

El único estudio en verrugas en piel fue realizado en Alemania en 2004 por Spelten, donde analizaron 71 pacientes con verrugas virales causadas por VPH 2/27/57 con una persistencia de por lo menos 18 meses, comparándolos con 92 individuos sin verrugas o con verrugas que duraron menos de 18 meses. Se observó que la frecuencia alélica del DQA1\*0301, DQB1\*0301, DRB1\*07 y DRB1\*09 era elevada y la frecuencia alélica de DQA1\*0501 y DQB1\*0603, DRB1\*01 y DRB1\*03 estaba disminuida. Sólo se encontró diferencia significativa en DQA1\*0301 y DQB1\*0301, lo que sugiere que en la historia natural de las verrugas vulgares persistentes causadas por el VPH 2/27/57 puede estar modulada por el polimorfismo del locus de los genes HLA-DQA1 y HLA-DQB1<sup>5</sup>. Llama la atención que los alelos DQ también están asociados a epidermodisplasia verruciforme<sup>13</sup> y Ca CU relacionado al VPH 16<sup>14,15</sup>, inclinando la evidencia a que estas moléculas probablemente tiene un papel más allá de la asociación con enfermedades causadas por la infección por el VPH.

Por otra parte existen estudios en pacientes con otras entidades también causadas por VPH donde se afectan mucosas o la piel en forma precancerosa, que muestran la relación entre el HLA clase I / II y la infección causada por subtipos de la familia de los VPH. Un ejemplo de estas entidades es el cáncer cérvico-uterino (Ca CU) asociado a VPH, papilomatosis laríngea, hiperplasia epitelial focal y epidermodisplasia verruciforme, que se describen a continuación.



En el caso de los VPH asociados Ca CU la literatura ha mostrado asociación con los siguientes alelos del HLA: DRB1\*0301-DQB1\*0201 con 2 veces menor riesgo de infecciones transitorias o persistentes por el virus; con el DRB1\*1102-DQB1\*0301 con bajo riesgo sólo para persistencia, y por último con DRB1\*1601-DQB1\*0502 y DRB1\*0807-DQB1\*0402 con un incremento en el riesgo 7 y 3 veces mayor, respectivamente para persistencia<sup>15</sup>, sin embargo otros estudios refieren que las pacientes con Ca CU relacionado con infección por largo tiempo de VPH-16, se asocian con los alelos DRB1\*1501 y DQB1\*0602, lo que indica que los alelos de clase II contribuyen a la incapacidad de combatir la infección por el VPH<sup>16,17,18,19,20</sup>. En el caso de la papilomatosis laríngea, la cual se relaciona con el VPH 6 y 11, se asocia con los alelos DQB1 (\*0302,\*0303) y DQA \*0101/04 en afroamericanos y el alelo DQA \*0102 en caucásicos<sup>21</sup>. Otra entidad que afecta mucosa es la hiperplasia epitelial focal la cual se relaciona con el VPH 13 y 32, en un estudio realizado en 22 paciente mexicanos se encontró asociación con el alelo DRB1\*0404 y en la tipificación viral sólo se encontró la presencia del VPH-13<sup>22</sup>. Por último en la epidermodisplasia verruciforme que se relaciona con el VPH 5 en la que se observan múltiples verrugas con riesgo de desarrollar carcinomas epidermoides, se encontró asociación con el alelo HLA-DQB 0301<sup>13</sup>.

Con respecto a los alelos del HLA clase I, Friedman en 1982 comparó 100 pacientes con verrugas virales y 108 individuos aparentemente sanos, no encontrando diferencia significativa en la frecuencia de los antígenos HLA-A y B, lo que sugiere que la posible susceptibilidad genética en verrugas no está relacionada a este loci<sup>23</sup>. Por otro lado, pacientes con diagnóstico de Ca CU relacionado al VPH se asoció el HLA B7 con el 1.5 de incremento en el riesgo de padecer lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado de malignidad<sup>20</sup>.

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe algún alelo particularmente elevado del HLA-DR en pacientes mexicanos con verrugas virales que confieran susceptibilidad genética para presentar la enfermedad al compararlos con sujetos sanos que no han presentado verrugas virales?

## JUSTIFICACIÓN

Existen pocos estudios que relacionan la participación del CMH y el desarrollo de las verrugas cutáneas, además ninguno se ha realizado en la población mexicana. Dentro del CMH como ya se menciona, se encuentran los alelos del HLA-DR y DQ, los cuales han sido los más reportados dentro de los estudios sobre el VPH en mujeres con cáncer cérvico-uterino y llama la atención que el alelo relevante en los diferentes estudios es el DR, aunque los artículos muestran diferentes subtipo y aun no hay una asociación certera. Cuando en la literatura se encuentra reportada la presencia del alelo DQ, este se encuentra en desequilibrio genético con el DR, por lo que consideramos estudiar en primer lugar el alelo DR en los pacientes con verrugas cutáneas causadas por el VPH. La realización de este estudio nos ayuda a identificar si existe en nuestros pacientes susceptibilidad genética para desarrollar la infección y así poder valorar su participación en la fisiopatología de la enfermedad, además de tener más claro el panorama para profundizar en el campo del tratamiento ya que algunas presentaciones son refractarias. Nuestra población es idónea para este estudio gracias a la alta frecuencia de pacientes con verrugas cutáneas y la facilidad para la identificación de las lesiones.

## OBJETIVO

Identificar las frecuencias alélicas de los alelos HLA-DR en pacientes con verrugas virales y compararlos con individuos sanos.

## HIPÓTESIS

Si en la patogénesis de las verrugas virales participan factores genéticos que involucren a los alelos del HLA-DR, entonces nuestros pacientes presentarán frecuencias alélicas diferentes a las del grupo control.

## METODOLOGÍA

DISEÑO DEL ESTUDIO.- Casos y Controles.

UNIVERSO DE ESTUDIO.- Pacientes con verrugas virales sin otra enfermedad concomitante.

POBLACIÓN DE ESTUDIO.- Pacientes con verrugas virales sin otras enfermedades concomitantes que acudieron a la consulta externa de dermatología del H.G. Dr. Manuel Gea González, los cuales se compararon con 381 individuos mexicanos no relacionados sanos del estudio de Barquera<sup>24</sup>.

LUGAR DE REALIZACIÓN.- Departamento de Dermatología del H.G. Dr. Manuel Gea González y Departamento de Inmunología y Reumatología del INCMNSZ.

PERIODO DE ESTUDIO.- De marzo 2003 a marzo del 2005.

TAMAÑO DE LA MUESTRA.- No existe en la literatura datos sobre la frecuencia de presentación de los alelos del HLA clase II en pacientes con infecciones del VPH en piel por lo que se tomó en cuenta los datos obtenidos del estudio previo realizado por nosotros, donde se comparó a 22 pacientes con HEF contra sujetos sanos, donde el alelo del sistema HLA que se encontró estadísticamente significativo fue el HLA DR-4, el cual tuvo una diferencia del 30% al compararlo con el grupo control (54.4% Vs 23.7%)<sup>22</sup>. Se calculó el tamaño de la muestra en programa EpilInfo Versión 6: con un nivel de confianza del 95%, potencia de la prueba 80%, relación de enfermos por no enfermos 1:1, frecuencia esperada para enfermos 54%, para no enfermos del 24% y con una Razón de momios de 3.93, obteniendo 47 participantes por grupo, se agrega un 10% previendo perdidas al analizar las muestras y se obtiene 52 pacientes.

## CRITERIOS DE SELECCIÓN

### Criterios de inclusión:

#### Casos

- Pacientes con diagnóstico clínico e histológico de verruga viral en piel
- Pacientes por lo de más sanos, sin enfermedades concomitantes sistémica o dermatológica.
- Mexicanos de por lo menos dos generaciones nacidos en México
- Cualquier sexos y cualquier edad

#### Controles

Históricos del estudio de Barquera.- Publica los resultados de 381 individuos mexicanos sanos, no relacionados, con por lo menos dos generaciones nacidas en México, que se realizaron exámenes de HLA para donar órganos sólidos o medula ósea, obtenidos principalmente de estados del centro y norte del país<sup>24</sup>.

### Criterios de exclusión:

#### Casos

Pacientes con diagnóstico clínico de verruga viral en piel y que padezcan enfermedades concomitante sistémicas o dermatológicas como: SIDA, otras enfermedades o estados que lleven a inmunosupresión, enfermedades crónico-degenerativas, enfermedades dermatológicas tópicas o con involucro sistémico, etc.

Pacientes embarazadas.

Pacientes que no aceptaron entrar al estudio.

## VARIABLES

### Independiente

Polimorfismo genético de las frecuencias alélicas del HLA en el grupo de pacientes con verrugas virales y en el grupo de individuos sanos.

### Dependiente

Presencia de las verrugas virales en piel.

### Co-variables

Edad y sexo

## DEFINICIÓN DE VARIABLES

### Verrugas Virales

Definición.- Lesiones anfractuosas poco elevadas, en ocasiones vegetantes, en cualquier parte de la piel.

Nivel de medición.- nominal

Categorías.- Planas, vulgares, plantares

### Haplotipos de HLA Clase II

Definición.- Alelos del HLA que se encuentran ligados en el brazo corto del cromosoma 6.

Nivel de medición.- nominal

Categoría.- HLA-DRB1

## PROCEDIMIENTO PARA LOS CASOS

Se acudió a la consulta externa de Dermatología donde se incluyeron pacientes con diagnóstico clínico de verruga viral, la cual se podría encontrar en cualquier parte de la piel. 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 DNA. Posteriormente se les practicó el rasurado de las lesiones, las cuales se procesó en la forma habitual en parafina y se tiñó con hematoxilina y eosina, para comprobación histológica.

Para el estudio del HLA-DR se comparó a los pacientes afectados con 381 individuos mexicanos no relacionados sanos obtenidos del estudio de barquera<sup>24</sup>.

*Tipificación del HLA-DR.-* Se realizó la tipificación de los alelos de la siguiente manera:

Extracción del DNA genómico.- Cada muestra de 4 a 5 ml de sangre periférica con EDTA (anticoagulante) se centrifugó a 1,600xg a 4°C durante 30 min, se eliminó el plasma y se obtuvo el paquete leucocitario, a partir de estos se obtuvo el DNA mediante la técnica de expulsión salina ( salting-out ) que incluye digestión con proteinasa K, precipitación de proteínas con hidróxido de sodio y etanol absoluto, terminando con un lavado con etanol al 70%<sup>25</sup>. Tipificación con sondas de oligonucleótidos secuencia específica (SSOP).- Se procedió a la amplificación de los loci HLA-DRB1 mediante la reacción en cadena de la

polimerasa (PCR) que incluye iniciadores o “primers” específicos para las regiones en estudio. Posteriormente se verificó que todas las muestras hubieran amplificado adecuadamente mediante la aplicación de 10µl de cada una en un gel de agarosa al 2% teñido con 0.5µg/ml de bromuro de etidio durante 40min a 90 voltios, las amplificaciones positivas se observaron bajo la luz UV (312nm) y se tomaron fotos para su registro. Por último la muestra se colocó en membranas de nitrocelulosa en un formato de Dot-blot y se hibridó con sondas secuencia-específicas marcadas para cada alelo, para la detección de la hibridación se usó el método de quimioluminiscencia y la exposición de las membranas a placas radiográficas<sup>26</sup>.

### ESTRATEGIA PARA LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA Y RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LOS CASOS

El muestreo es no probabilístico de forma consecutiva, pues se asignaron a los pacientes el número secuencial correspondiente, a medida que fueron considerados elegibles para su inclusión.

El día de su inclusión se les realizó el llenado del cuestionario, se tomó la muestra de sangre periférica y se efectuó el rasurado.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la descripción general de las características de los pacientes se utilizó estadística descriptiva de acuerdo al nivel de medición de las variables utilizando media, mediana, moda, desviación estándar etc. Se compararon las frecuencias de cada alelo entre los pacientes y los controles mediante la aplicación de Chi-cuadrada con corrección de Yates, considerando una  $P < 0.05$  como el mínimo nivel de significancia. Se estableció RM e IC para establecer asociaciones.

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los procedimientos se realizaron 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 Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección III, que dice: investigación con riesgo mayor al mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado. Obteniendo el consentimiento del Comité de Ética del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

## RESULTADOS

Se obtuvieron 52 pacientes de los cuales 27 fueron hombres y 25 mujeres (relación 1.08), las edades al inicio de la enfermedad varió de 2 a 59 años (promedio 18 años). La presentación clínica más frecuente fueron las verrugas vulgares en 43 pacientes, seguidas de verrugas planas en 7 pacientes y plantares en 6 pacientes; sólo en 4 pacientes coexistieron dos tipos de presentación. El tiempo de evolución varió de 2 meses a 7 años (promedio 22 meses), la cantidad de las lesiones se presentaron de 1 hasta 49 lesiones en un sólo paciente y sólo el 15% (8 de 52) refirió un cuadro previo de verrugas cutáneas, ya resuelto. El antecedente familiar de verrugas cutáneas fue referido en el 52% de los pacientes (Tabla 1).

Se obtuvo el DNA de los 52 pacientes para tipificación del HLA DR obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 2, donde observamos con diferencia significativa al DRB1\*03 con un RM de 2.51 (P 0.0029 IC95% 1.34-4.68), DRB1\*09 con un RM de 5.45 (P 0.0062 IC95% 1.47-19.56) y por último el DRB1\* 06 muestra un factor protector de 7.12 veces al compararlo con los controles (P 0.0002 IC95% 0.04-0.47).

Tabla 1.- Características Clínico-Demográficos.

Genero Relación H:M	1:1.08
Edad Al inicio de la enfermedad Al momento de su inclusión en el estudio	X=18 <sup>a</sup> (2-59 años) X=20 <sup>a</sup> (4-59 años)
Lugar de origen / residencia	México city and Metropolitan area
Tipo de verruga Común Planas Plantar	43 pacientes 7 pacientes 6 pacientes
Número de lesiones en un solo paciente	1 a 49 verrugas
Tiempo de evolución	X= 22 meses (2m a 7 años)
Cuadros previos resueltos	8/52 (15%)
Antecedente de verrugas en familiar de 1 <sup>o</sup>	27/52 (52%)



Tabla 2.- Frecuencia génica del HLA-DR en pacientes con verrugas cutáneas y controles.

HLA-DR	Pacientes con verrugas (N= 104 Cromosomas)		Controles (N= 762 Cromosomas)		p	RM	(IC95%)
	n	fg	n	Fg			
DR4	32	0.307	196	0.257	0.3282	1.2	0.8-2.0
DR3	17	0.163	55	0.072	0.0029	2.5	1.3-4.6
DR2	13	0.125	83	0.108	0.7464	1.1	0.5-2.2
DR8	10	0.096	93	0.122	0.5460	0.7	0.3-1.5
DR7	9	0.086	69	0.090	0.9613	0.9	0.4-2.0
DR5	8	0.076	52	0.068	0.9035	1.1	0.4-2.5
DR1	7	0.067	62	0.081	0.7614	0.8	0.33-1.9
DR9	5	0.048	7	0.009	0.0062	5.4	1.4-19.5
DR6	3	0.028	133	0.174	0.0002	0.1	0.04-0.4

## DISCUSION

Este trabajo muestra que los pacientes mexicanos con verrugas cutáneas tienen incremento estadísticamente significativo en la frecuencia del alelo HLA-DR3 y HLA-DR9 al compararlo con controles sanos (RM 2.5 y 5.4 respectivamente), de la misma manera muestran disminución en la frecuencia génica del alelo HLA-DR6 (Factor de protección 7.12). La presentación clínica más frecuente fue la de verrugas vulgares con una edad de inicio entre 4 y 59 años y un tiempo de evolución de 2 meses a 7 años; en el 15% de los pacientes, al momento de ingresarse al estudio fue su segunda reinfección; finalmente, el 52% refirió verrugas cutáneas en sus familiares de primer grado. Los hallazgos clínico-demográficos de este estudio son semejantes a los presentados en otros reportes consignados en la literatura<sup>1-6</sup>.

Con respecto a los resultados de las frecuencias génicas del HLA-DR cabe mencionar que los dos alelos elevados (HLA-DR3 y HLA-DR9) tienen una frecuencia particularmente baja en la población mexicana por lo que parecen haber sido incorporados por mestizaje con otros grupos étnicos. Por otro lado, el alelo HLA-DR6 disminuido en el grupo de pacientes es particularmente frecuente en poblaciones indígenas y mestizas de México<sup>27</sup>.

Estos hallazgos difieren a lo reportado por Spelten en 71 pacientes alemanes con verrugas cutáneas causadas por los VPH 2/27/57 donde se muestra incremento en el HLA-DR7 y disminución en el HLA-DR3, sin embargo no fueron estadísticamente significativos al corregir el valor de p. Llama la atención en el mismo estudio el incremento del HLA-DR9<sup>5</sup> que semeja parcialmente a lo observado en este estudio en mexicanos.

Cabe mencionar que el estudio alemán mostró asociación significativa de los alelos DQA1\*0301 y DQB1\*0301 con la presencia de verrugas cutáneas que sugiere que el locus relevante reside en la región HLA-DQ<sup>5</sup>.

Con respecto al incremento encontrado en mexicanos del HLA-DR3 puede interpretarse que es resultado de su reciente incorporación a la estructura de población mexicana (Efecto fundador) pues este alelo es característico de la población caucásica, blanca europea y del mediterráneo (db MHC); dicha afirmación se sostiene por el hecho de no ser consistente con el estudio alemán donde se encontró disminuido el mencionado alelo.

La elevación del DR9 en mexicanos parece más consistente, ya que tiene incremento marginal (no significativo) en la población alemana<sup>5</sup>; el origen de dicho alelo en mexicanos pareciera reflejo de la ancestría compartida de las poblaciones prehispánicas amerindias con las orientales hace 30,000 años y no necesariamente una relación causa-efecto con la susceptibilidad genética a la infección del VPH y al desarrollo de las verrugas cutáneas.

La disminución del HLA-DR6 parece indicar un efecto protector de dicho alelo en la población mestiza; el origen de esta protección pudiera resultar del componente indígena en las poblaciones mestizas urbanas en México, pues el DR6 es particularmente frecuente en las poblaciones amerindias de mesoamérica<sup>27</sup>.

Este efecto protector sin embargo pudiera no ser extensivo a todos los grupos indígenas pues algunas poblaciones indígenas aisladas en Oaxaca son particularmente proclives a la infección por VPH y el desarrollo de verrugas<sup>28</sup>, sería interesante hacer un estudio con marcadores del MHC en esos grupos ya que el aislamiento del flujo genético pudiera explicar la susceptibilidad al desarrollo de verrugas.

Por otro lado de participar los alelos del HLA-DR, puede apoyar la teoría que incluye a la inmunidad adquirida en la fisiopatología de las verrugas virales en piel, donde las moléculas del CMH nos lleva una inmunidad celular alterada con una deficiente presentación antigénica que desencadene una respuesta inmunológica específica. Cuando funciona adecuadamente este mecanismo, como se observa en el estudio de Coleman, donde las verrugas en remisión muestran una respuesta inmune celular con gran cantidad de linfocitos T CD4+ y CD8+ activados en el estroma y en epitelio superficial, lo que se puede explicar por la marcada expresión de moléculas HLA DR en los queratinocitos de las células epiteliales infectadas, que con una buena presentación antigénica y la inducción de adhesinas (ICAM1, VCAM1 y E-selectina) en las células endoteliales y en el estroma de la verruga da por consiguiente el reclutamiento de más linfocitos T específicos y la eliminación de la infección<sup>8</sup>.

La manera en que responden los linfocitos T a la presentación antigénica aún no está muy clara, las células de Langerhans son las principales presentadoras de antígenos a los linfocitos T en la superficie del epitelio, y en las infecciones por VPH éstas se encuentran disminuidas y tienen alteraciones morfológicas<sup>10</sup>, en el estudio de Coleman el número de

células de Langerhans (CD1a+) intraepitelial no fue estadísticamente diferente en verrugas con regresión y no regresión espontánea, aunque sí mostraron en ambos casos anormalidades en su morfología<sup>8</sup>, con estos hallazgos podemos apoyar la teoría de que no sólo influyen en la infección y la eliminación del virus el CMH, sino una serie de eventos aún no bien establecidos.

Aún está por dilucidarse si además existe una susceptibilidad específica a los diferentes subtipos del VPH y los alelos del HLA, y si esto es generalizado o tiene asociaciones específicas en cada población, así como si en esta asociación los genes polimórficos del CMH no sólo pertenecen al HLA clase I, II, sino que influyen otros genes polimórficos de clase III. Por último a pesar de haber encontrado diferencias estadísticamente significativas, este estudio invita a abordar otros loci vecinos como los genes del complemento, FNT (Clase III) y locus DQ y DP (Clase II).

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- De Villiers E-M. Papillomavirus and HPV typing. *Clin Dermatol* 1997;15:199-206.
- 2.- Magaña GM, Vázquez R, González LN. Dermatología pediátrica en el Hospital General. Frecuencia de las enfermedades de la piel del niño en 10,000 consulta; 1990-1994. *Rev Med Hosp Gen Mex* 1995;58(3):124-30.
- 3.- Beutner KR, Becker TM, Stone KM. Epidemiology of human papillomavirus infections. *Dermatol Clin* 1991Apr;9(2):211-18.
- 4.- Laurent R, Kienzler JL. Epidemiology of HPV infections. *Clin Dermatol* 1985;3:64.
- 5.- Spelten B, Grussendorf-Conen EI, Rübben A. Human leukocyte antigen class II alleles and natural history of HPV 2/27/57-induced common warts. *Arch Dermatol Res* 2004;296:105-11.
- 6.- Rübben A, Kalka K, Spelten B, Grussendorf-Conen EI. Clinical Features and age distribution of patients with HPV 2/27/57-induced common warts. *Arch Dermatol Res* 1997;289:337-40.
- 7.- Evander M et al. Identificación of the alpha 6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. *J Virol* 1997;71:2449.
- 8.- Coleman N, Birley HD, Renton AM, et. al. Immunological Events in Regressing Genital Warts. *Am J Clin Pathol* 1994 Dec;102(6):768-74.
- 9.- Rogozindki TT et al. Role of cell-mediated immunity in spontaneous regresión of plane wart. *Int. J Dermatol* 1988;27:322.
- 10.- Viac J, Chardonnet Y, Chignol MC, Schmitt D. Papilloma viruses, warts, carcinoma and Langerhans cells. *In Vivo* 1993 May-Jun;7(3):207-12.
- 11.- Rhodes DA, Trowsdal J. Genetics and molecular genetics of the MHC. *Reviews in Immunogenetic* 1999;1:21-31.
- 12.- Han R, Breitburd F, Marche PN, Orth G. Linkage of regression and malignant conversion of rabbit papillomas to MHC class II genes. *Nature* 1992;356:66-68.
- 13.- Barzegar C, Paul C, Saiag P, Cassenot P, Bachelez H, Autran B, et. al. Epidermodysplasia verruciformis-like eruption complicating human immunodeficiency virus infection. *Br J Dermatol* 1998 Jul;139(1):122-7.
- 14.- Lie AK, Skarsvag S, Haugen OA, et. al. Association between the HLA DQB1\*0301 gene and human papillomavirus infection in high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 1999 Jul;18(3):206-10.

- 15.- Maciag PC, Schlecht NF, Souza PS, Rohan TE, Franco EL, Villa LL. Polymorphisms of the human leukocyte antigen DRB1 and DQB1 genes and the natural history of human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2002 Jul15;186(2):164-72.
- 16.- Beskow AH, Josefsson AM, Gyllensten UB. HLA class II alleles associated with infection by HPV16 in cervical cancer in situ. *Int J Cancer* 2001 Sep15;93(6):817-22.
- 17.- Cuzick J, Terry G, Ho L, Monaghan J, Lopes A, Clarkson P, Duncan I. Association between high-risk HPV types, HLA DRB1\* and DQB1\* alleles and cervical cancer in British woman. *Br J Cancer* 2000 Apr;82(7):1348-52.
- 18.- Maciag PC, Schlecht NF, Souza PS, Franco EL, Villa LL, Petzl-Erler ML. Major histocompatibility complex class II polymorphisms and risk of cervical cancer and human papillomavirus infection in Brazilian woman. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000 Nov;9(11):1183-91.
- 19.- Ghaderi M, Nikitina L, Peacock CS, Hjelmstrom P, Hallmans G, Wiklund F, et. al. Tumor necrosis factor a-11 and DR15-DQ6 (B\*0602) haplotype increase the risk for cervical intraepithelial neoplasia in human papillomavirus 16 seropositive woman in Northern Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000 Oct;9(10):1067-70.
- 20.- Hildesheim A, Schiffman M, Scott DR, Martin D, Kissner T, Sherman ME, et. al. Human leukocyte antigen class I/II alleles and development of human papillomavirus-related cervical neoplasia: results from a case-control study conducted in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998 Nov;7(11):1035-41.
- 21.- Rabah R, Lancaster W, Gregoire L. Laryngeal papillomatosis: viral genotype and HLA haplotype. *Lab Invest* 1998;78(1): 5.
- 22.- García-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, et. al. Association of HLA-DR4 (DRB1\*0404) with Human Papillomavirus Infection in patients with Focal Epithelial Hyperplasia. *Arch Dermatol* 2004;140:1227-31.
- 23.- Friedman-Birnbaum R, Haim S, Sheinkman A, Gideone O, Barzilai A. Histocompatibility antigens in viral warts. *Acta Derm Venereol.* 1982;62(1):72-73.
- 24.- Barquera R, Zuñiga J, Hernández-Díaz R, et. al. HLA class I and Class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Molecular Immunology* 2008;45:1171-78.
- 25.- Davis RW, Thomas M, Cameron J, St John TP, Scherer S, Padgett RA. Rapid DNA isolations for enzymatic and hybridization analysis. *Methods Enzimol* 1980;65:404-11.
- 26.- Bignon JD, Fernandez-Viña MA, International Histocompatibility Workshop for typing of HLA class II alleles by DNA amplification by polymerase chain reaction (PCR) and

hybridization with sequence specific oligonucleotide probes (SSOP). In: Charron D, ed. *Genetic Diversity of HLA: Functional and Medical Implications*. Vol. 1. Paris, France: EDK; 1997:584-95.

27.- Vargas-Alarcón G, Gamboa R, Zuñiga J, Hernández-Pacheco G, et. al. HLA DR4 Allele frequencies in Indian and Mestizo population from Mexico. *Hum Immunol* 2000;61:341-44.

28.- Orozco-Topete R, Villa A, Leyva Santiago J, et. al. Warts, Malnutrition and Sunshine. *Pediatric Dermatol* 2008;25(3):395-97.

Anexo 1  
Hoja de captura de datos

No. \_\_\_\_\_

Fecha.- \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_ Registro \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_

Originario y residente: \_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_

Antecedentes familiares de verrugas virales en piel.-

Tipo de lesiones.-

Sitio de las lesiones.-

Tiempo de evolución.-

Tratamiento.-

Cuadros previos (Número y tiempo de evolución).-

Tratamientos previos.-

Enfermedades concomitantes.-

Tratamiento habitual (dosis).-

Resultados:

Comentario:

HLA DR



## Anexo 2

### Carta de consentimiento

Hago constar que se me invito a formar parte del proyecto de investigación titulado POLIMORFISMO GENÉTICO EN LA INMUNIDAD DE VERRUGAS VIRALES CAUSADAS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO, se me ha explicado que el objetivo de la investigación es el de identificar si hay algún factor hereditario que predisponga el desarrollo de mis verrugas, además de conocer el tipo de virus que se asocia con ellas.

Como parte del estudio seré revisado por médicos especialistas, además se obtendrá una muestra de sangre de mi brazo y se rasurará la verruga. Hago constar que se me ha explicado en que consiste este procedimiento y cuáles son las probables molestias que puedo presentar, como moretón y discreto dolor en mi brazo; en el caso del rasurado puedo presentar dolor leve en el área y menos probable infección si no realizo las curaciones indicadas.

Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración e información sobre la investigación en cualquier momento del desarrollo de la misma, sin que esto afecte mi atención médica en el futuro.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del investigador

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del testigo