

11236

66

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZALEZ", S.S.A.
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN**

***ESCLEROMA RESPIRATORIO Y SU RELACIÓN
CON EL HLA EN LA POBLACIÓN MEXICANA***

ARTICULO ORIGINAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

***ESPECIALISTA EN OTORRINOLARINGOLOGÍA
Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO***

P R E S E N T A :

DR. LUIS ALBERTO SÁNCHEZ MARÍN

**ASESOR DE TESIS:
DR. DANIEL BROSS SORIANO**

MÉXICO D.F.

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



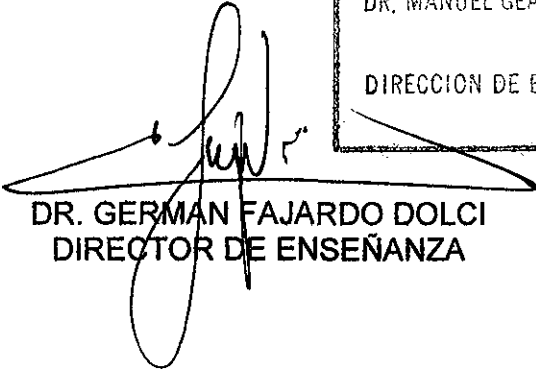
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.

AUTORIZACIONES:



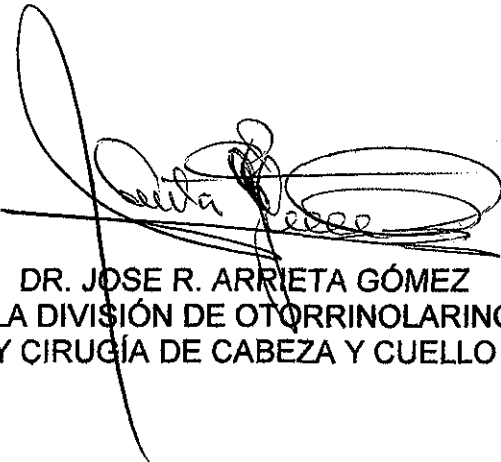
HOSPITAL GENERAL
"DR. MANUEL GEA GONZALEZ"
DIRECCION DE ENSEÑANZA

DR. GERMAN FAJARDO DOLCI
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



HOSPITAL GENERAL
"DR. MANUEL GEA GONZALEZ"
DIRECCION DE INVESTIGACION

DRA. ANA FLISSER DE INBRUCH
DIRECTORA DE INVESTIGACION



DR. JOSE R. ARRIETA GÓMEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE OTORRINOLARINGOLOGÍA
Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

AGRADECIMIENTOS

A Dios, fuente de toda sabiduría, por darme la capacidad y las fuerzas para llegar a esta etapa del camino.

A mis padres, ejemplo de constancia, amor y dedicación. Sin su apoyo no hubiera podido concluir las metas.

A mis hermanos, por sus palabras de aliento.

A mis maestros de residencia: Dr. Arrieta, Dr. García, Héctor, Sergio, Fabiola, Dr. Bross, Betty. Gracias por lo invaluable de haber transmitido su experiencia.

Al Dr. Alejandro Ortiz, que me tendió la mano en el momento más adecuado de mi carrera.

Y por supuesto, a mi amada esposa Alexandrina, quien estuvo conmigo en los momentos más difíciles de este camino, siempre ofreciendo palabras de motivación, alegría y esperanza. Ella me enseñó a ser más humano con mis pacientes y a valorar la vida. Muchas gracias.

Un agradecimiento especial a la Dra. Angélica Olivo, por todo el tiempo y el esfuerzo invertido en la realización de este trabajo.

ESCLEROMA RESPIRATORIO Y SU RELACIÓN CON EL HLA EN LA POBLACIÓN MEXICANA

Dr. Luis Alberto Sánchez Marín* Dr. Daniel Bross Soriano* Dr. José Arrieta G*,
Dra. Angélica Olivo**, Dr. Simón Kawa**.

Divisiones de Otorrinolaringología* e Investigación** del Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

RESUMEN

El escleroma respiratorio (ER) es una enfermedad relativamente frecuente en México. El agente causal es una bacteria intracelular llamada *Klebsiella rhinoscleromatis*. La enfermedad se adquiere por contacto prolongado con portadores del patógeno. Existe solo un reporte de susceptibilidad genética asociada con el antígeno HLA-DQ3. El objetivo del presente trabajo fue determinar por métodos moleculares si existe realmente un alelo del HLA que facilite la presentación de la enfermedad. Para ello, se incluyeron 9 pacientes con diagnóstico histopatológico de ER, que fueron todos los que se presentaron en el período de un año. Se obtuvieron 15 mL de sangre de cada paciente. El DNA se extrajo por el método de fenol/cloroformo. Se tipificaron los alelos de los genes DQA1, DQB1 y DRB1-DR4 por PCR-SSP (PCR Sequence Specific Probe) y por PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism). Las frecuencias alélicas (FA) de los pacientes se compararon con las FA publicadas de la población mexicana. Los resultados de la región DQ mostraron que el DQA1*03011 presentó una FA de 52.9% y el DQB1*0301 de 66.7%. El análisis estadístico demostró una asociación del DQB1*0301 con susceptibilidad a desarrollar la enfermedad, con un RR de 9.1 y una fracción etiológica (FE) de 79.2% ($X^2 = 6.8$, $p = 0.009$) El análisis de los haplotipos mostró al DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 fuertemente asociado con la enfermedad ($X^2 = 16.1$, $p = 0.000059$, $pc = 0.0027$), con un riesgo relativo (RR) de 35.7% y una FE de 47.9%. Estos resultados sugieren que los genes de la región de clase II están contribuyendo al desarrollo de la enfermedad, probablemente porque el DQB1*0301 esté presentando péptidos a los linfocitos Th2 que inducen el desarrollo de una respuesta no protectora. El hecho de que la asociación más fuerte se encontró con el haplotipo DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301, sugiere que podría haber otros genes cercanos que se encuentren en desequilibrio de ligamiento con los genes de la región de clase II del HLA, que también estén contribuyendo a la presentación de la enfermedad.

ANTECEDENTES:

El escleroma respiratorio es una enfermedad crónica granulomatosa de la nariz y las vías aéreas altas. Tiene su mayor incidencia entre los 15 y los 35 años de edad. Es endémica en 25 países donde existen factores ambientales que lo favorecen: Polonia, Hungría, Rusia del sudoeste, América Central, Indonesia y Egipto ¹. En países como los Estados Unidos o Canadá la enfermedad es más bien rara, aunque su prevalencia está aumentando², y no se cuentan con registros exactos sobre la prevalencia de la misma en estos sitios. En México, la enfermedad se considera relativamente frecuente, pero tampoco se tienen registros exactos sobre su incidencia.

Fue descrita inicialmente por von Hebra en 1870. Mickulicz estableció su naturaleza inflamatoria; y el agente etiológico, *Klebsiella rhinoscleromatis*, fue aislada por von Frisch en 1882.

Esta bacteria tiene la característica de encontrarse en forma intracelular en los histiocitos dando origen a las células de Mickulicz, que se caracterizan por ser grandes, vacuoladas y "espumosas", conteniendo bacilos en su interior.

La mayoría de los casos afectan a la nariz y nasofaringe, aunque también se pueden afectar los senos paranasales, laringe e incluso las vías aéreas bajas. Dicha extensión se ha explicado por diseminación directa o por vía linfática. Se reconocen tres etapas de la enfermedad: catarral, granulomatosa y atrófica o cicatrizal.

La naturaleza progresiva y la recurrencia de la enfermedad después del tratamiento, han hecho que se confunda con procesos neoplásicos en el pasado. Se ha confundido también con otros procesos inflamatorios de la nariz, lo que ha llevado a cirugías inadecuadas para su control. Esto sucede en lugares donde no se cuenta con los medios de laboratorio adecuados para el diagnóstico.

El diagnóstico definitivo se realiza con una biopsia del tejido afectado con realización de tinción de Warthin-Starry, para identificar a la bacteria responsable de la enfermedad.

El tratamiento puede ser médico o quirúrgico, dependiendo de la etapa en que se encuentre el paciente, ya que en los dos primeros estados, es útil el tratamiento médico, y no así en la fase cicatrizal, en la que el uso de antimicrobianos es inútil ³.

El primer medicamento que se usó en el tratamiento del escleroma respiratorio fue la estreptomina. Actualmente se usan tetraciclinas o quinolonas por un tiempo mínimo de dos meses para evitar las recurrencias. También se ha usado cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol y rifampicina ⁴.

El tratamiento quirúrgico debe ser reservado para la etapa cicatrizal, y se indica siempre que haya estenosis importante u obstrucción de las vías respiratorias altas. Una opción es el uso de láser de CO₂ ⁵.

El HLA es una región de genes altamente polimórficos cuyos productos de expresan en la superficie de una gran variedad de células. Se localizan en el brazo corto del cromosoma 6 ocupando un gran segmento de ADN y posee tres clases de genes (clase I, II y III). 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 ciertos tipos de células tales como: células presentadoras de antígenos, Linfocitos T y B activados.

Muchas enfermedades autoinmunes y no autoinmunes se han asociado a alelos específicos del HLA. La asociación de enfermedades autoinmunes con ciertos alelos de HLA clase II fue descrita hace más de 30 años, mientras que el estudio de asociación de alelos del HLA clase II con enfermedades infecciosas se ha realizado más recientemente. Dado que las moléculas de HLA sólo tienen dos funciones distintas, ambas de tipo inmunológico,- la primera modelando el repertorio del receptor de células T en el timo, y la segunda al seleccionar y presentar epítopes de péptidos antigénicos a las células T periféricas-, la asociación de un alelo del HLA específico apoya la noción de que una enfermedad particular puede cursar con anomalías inmunológicas.

La asociación con un alelo de HLA específico implica que el estímulo inmunogénico para la autoinmunidad sería un péptido específico, y que al menos inicialmente la autoinmunidad es dependiente de la reactividad de una o un número limitado de clonas T potencialmente autoagresivas. Las células CD4 específicas seleccionadas por moléculas de HLA asociadas con enfermedad deben estar involucradas en el desarrollo de la patología órgano-específica en estas entidades. De la misma manera, en el caso de las enfermedades infecciosas, el alelo HLA asociado une un número limitado de péptidos del organismo patógeno que determinan el desarrollo de la enfermedad y la respuesta inmunológica del hospedero.

Existen varios ejemplos de enfermedades en que un tipo específico de HLA se asocia a una mayor frecuencia de éstas: Artritis reumatoide y HLA DR4, espondilitis anquilosante y HLA B27, pénfigo vulgar con HLA DR1, DR4 y DR6, etc.

Martín Armendáriz y cols.⁶ reportaron en 1991, una familia completa afectada por escleroma respiratorio en donde se confirmó el diagnóstico por cultivo en 3 casos y por biopsia en otros tres. Se realizó estudio inmunogenético a los miembros de la familia, revelándose en todos ellos un alelo del HLA que era común: el DQ3. No existen otras referencias recientes que impliquen a un alelo específico del HLA con la presentación del escleroma respiratorio.

Dado que esta enfermedad frecuente en nuestro medio, y todavía no se conoce si existe algún factor, aunado al microorganismo causal, que actúe como desencadenante de la enfermedad, y que haga que se manifieste o no; pretendemos demostrar si existe algún alelo de HLA en la población mexicana que se asocie a la presentación del escleroma respiratorio.

Al inicio del estudio nos planteamos la siguiente hipótesis: si el escleroma respiratorio es una enfermedad infecciosa que puede afectar a individuos de una misma familia, entonces debe existir un haplotipo específico de HLA que se asocie a una mayor frecuencia de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODO

Este trabajo se realizó como un estudio descriptivo, abierto, observacional, prospectivo y transversal; tomando como universo del estudio a todos los pacientes de la consulta externa del servicio de Otorrinolaringología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González", de los cuales se seleccionó a 9 pacientes que correspondieron a todos los casos con diagnóstico de certeza de escleroma respiratorio vistos del periodo de 1 de Julio de 2001 al 30 de Junio de 2002. Se analizaron de forma secuencial, utilizando los siguientes criterios de selección: a) inclusión: todos los pacientes con escleroma respiratorio confirmados por histopatología dispuestos a participar en el estudio. b) exclusión: aquellos pacientes que no accedieron a ingresar en el estudio y c) eliminación: pacientes que una vez dentro solicitaron ser eliminados del estudio.

Se utilizaron como controles las frecuencias alélicas de una población mestiza mexicana previamente publicada ⁷.

En este trabajo las variables que se analizaron fueron independientes: edad, sexo, estado socioeconómico, inicio del padecimiento y antecedentes familiares. Las variables dependientes fueron: el diagnóstico histopatológico de escleroma respiratorio, los alelos específicos de HLA-DQA1, -DQB1 y -DRB1-DR4 y los haplotipos asociados a la enfermedad.

Se realizó tipificación del HLA-clase II, utilizando una muestra de sangre de cada paciente con diagnóstico de certeza de escleroma respiratorio. Para la extracción del DNA se siguió la siguiente técnica: se tomaron 10-15 ml de sangre periférica con EDTA como anticoagulante. La sangre se centrifugó a 1,600 xg a 4°C durante 30 minutos, se eliminó el plasma y se obtuvo el paquete de leucocitos. Los leucocitos se lisaron con 50mM de NaCl; 10mM EDTA, pH 8.0; 10mM Tris-HCl, pH 7.6; 0.2% SDS; 300 µg/ml proteinasa K y se incubaron durante 12h a 53°C.

El DNA se extrajo por el método de fenol/cloroformo, se precipitó con isopropanol y se resuspendió en un volumen apropiado de TE (10 mM Tris-HCl, pH 8.0; 1mM EDTA, pH 8.0).

Para la tipificación de los alelos de DQA1 y DQB1 se realizó la técnica de PCR, utilizando 4 iniciadores (primers) específicos, 2 por cada locus. Se verificó que todas las muestras hubieran amplificado adecuadamente mediante el corrimiento de 10µl de cada una en un gel de agarosa al 2% teñido con 0.5 µg/ml de bromuro de etidio. Las muestras se colocaron en membranas de nylon en un formato de dot-blot y se hibridaron con sondas secuencia-específicas marcadas con digoxigenina (21 para DQA1 y 36 para DQB1). Para la detección de la hibridación se usó el método de la quimioluminiscencia y la exposición de las membranas a placas radiográficas. El DR4 se tipificó por un método de PCR-RFLP ⁸.

Las frecuencias alélicas se calcularon de acuerdo a la fórmula de Haldane ⁹. Se compararon las frecuencias de cada alelo entre los pacientes y los testigos. Se aplicó el análisis de Chi-cuadrada con la corrección de Yate, considerando $p < 0.05$ como el mínimo nivel de significancia, se aplicó la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples, cuando el valor de p fue significativo, multiplicando p por el número de los alelos detectados de cada locus. El riesgo relativo (RR) se

calculó utilizando la fórmula de Woolf modificada por Haldane. La fracción etiológica (FE) y la fracción preventiva fueron calculadas cuando se observó la asociación de un alelo con la enfermedad o cuando estaba significativamente disminuido ¹⁰.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 9 pacientes con diagnóstico confirmado de escleroma respiratorio, los cuales fueron captados de la consulta externa del servicio de Otorrinolaringología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González". De los casos estudiados 7 fueron del sexo femenino y 2 del sexo masculino. La edad promedio fue de 43.8 años (27-57). Todos los pacientes provenían de nivel socioeconómico medio-bajo. El tiempo transcurrido desde el inicio del padecimiento hasta la realización del diagnóstico fue en promedio de 9.94 años (1-40 años). De todos los casos sólo en 2 de ellos se observó consanguinidad por línea vertical (caso 7 y 8). Así mismo, se presentó un matrimonio con la enfermedad (casos 5 y 6). El lugar de residencia de los pacientes fue como se indica a continuación: México DF (n=5), estado de México (n=2), estado de Oaxaca (n=1), y estado de Guerrero (n=1).

A continuación se presenta un resumen de los casos:

1. Femenino de 27 años de edad, originaria y residente del DF. Soltera. Ama de casa. Padecimiento de 1 año de evolución con obstrucción nasal bilateral, rinorrea anterior amarillenta, multitratada con antibióticos sin mejoría. Además cacosmia, y halitosis. EF: mucosa nasal hiperémica, con abundante secreción amarillenta, sinequia del cornete al septum y presencia de granuloma en válvula nasal izquierda.
2. Femenino de 46 años de edad, originaria y residente del Edo. de Oaxaca. Casada, ama de casa. Refirió obstrucción nasal de 10 años de evolución, acompañado de rinorrea verdosa intermitente. Multitratada. EF: Presentaba "pólipos rojizos" en ambas fosas nasales y masas de superficie lisa en ambas cuerdas vocales. Además secreción verdosa en cavidad nasal y nasofaringe.
3. Masculino de 29 años de edad, soltero, originario y residente del Edo. de Guerrero (CD. Altamirano), campesino. Refirió obstrucción nasal de predominio derecho de 18 meses de evolución acompañada de dolor punzante en hemicara derecha, cefalea frontal intermitente y descarga posterior ocasional. Fosas nasales con mucosas congestivas, secreción hialina escasa, cornetes polipoideos. Tomografía computada de senos paranasales con opacidad de antro maxilar derecho con calcificación en su interior. Se realizó Caldwell Luc con reporte histológico de bacilos compatibles con *K.rhinoscleromatis* en tejido enviado.
4. Femenino de 57 años de edad, originaria del Edo. de Guerrero. Residente del DF. Casada, ama de casa. Refiere padecimiento desde hace 40 años posterior a un traumatismo nasal, presentando rinorrea anterior verdosa abundante de forma intermitente, obstrucción bilateral y deformidad progresiva de pirámide nasal. EF: estenosis de ambos vestíbulos nasales, secreción verdosa y mucosas hiperémicas. Deformidad septal a la derecha. Nasofaringe con abundante moco

calculó utilizando la fórmula de Woolf modificada por Haldane. La fracción etiológica (FE) y la fracción preventiva fueron calculadas cuando se observó la asociación de un alelo con la enfermedad o cuando estaba significativamente disminuido ¹⁰.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 9 pacientes con diagnóstico confirmado de escleroma respiratorio, los cuales fueron captados de la consulta externa del servicio de Otorrinolaringología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González". De los casos estudiados 7 fueron del sexo femenino y 2 del sexo masculino. La edad promedio fue de 43.8 años (27-57). Todos los pacientes provenían de nivel socioeconómico medio-bajo. El tiempo transcurrido desde el inicio del padecimiento hasta la realización del diagnóstico fue en promedio de 9.94 años (1-40 años). De todos los casos sólo en 2 de ellos se observó consanguinidad por línea vertical (caso 7 y 8). Así mismo, se presentó un matrimonio con la enfermedad (casos 5 y 6). El lugar de residencia de los pacientes fue como se indica a continuación: México DF (n=5), estado de México (n=2), estado de Oaxaca (n=1), y estado de Guerrero (n=1).

A continuación se presenta un resumen de los casos:

1. Femenino de 27 años de edad, originaria y residente del DF. Soltera. Ama de casa. Padecimiento de 1 año de evolución con obstrucción nasal bilateral, rinorrea anterior amarillenta, multitratada con antibióticos sin mejoría. Además cacosmia, y halitosis. EF: mucosa nasal hiperémica, con abundante secreción amarillenta, sinequia del cornete al septum y presencia de granuloma en válvula nasal izquierda.
2. Femenino de 46 años de edad, originaria y residente del Edo. de Oaxaca. Casada, ama de casa. Refirió obstrucción nasal de 10 años de evolución, acompañado de rinorrea verdosa intermitente. Multitratada. EF: Presentaba "pólipos rojizos" en ambas fosas nasales y masas de superficie lisa en ambas cuerdas vocales. Además secreción verdosa en cavidad nasal y nasofaringe.
3. Masculino de 29 años de edad, soltero, originario y residente del Edo. de Guerrero (CD. Altamirano), campesino. Refirió obstrucción nasal de predominio derecho de 18 meses de evolución acompañada de dolor punzante en hemicara derecha, cefalea frontal intermitente y descarga posterior ocasional. Fosas nasales con mucosas congestivas, secreción hialina escasa, cornetes polipoideos. Tomografía computada de senos paranasales con opacidad de antro maxilar derecho con calcificación en su interior. Se realizó Caldwell Luc con reporte histológico de bacilos compatibles con *K.rhinoscleromatis* en tejido enviado.
4. Femenino de 57 años de edad, originaria del Edo. de Guerrero. Residente del DF. Casada, ama de casa. Refiere padecimiento desde hace 40 años posterior a un traumatismo nasal, presentando rinorrea anterior verdosa abundante de forma intermitente, obstrucción bilateral y deformidad progresiva de pirámide nasal. EF: estenosis de ambos vestíbulos nasales, secreción verdosa y mucosas hiperemias. Deformidad septal a la derecha. Nasofaringe con abundante moco

espeso verdoso. Pirámide nasal tortuosa.

5. Masculino de 53 años de edad, originario y residente del Edo. de México, casado, campesino, padece hipertensión arterial. Refiere rinorrea verdosa de 15 años de evolución, acompañado de obstrucción nasal progresiva e hiposmia. Fue multitratado con antimicrobianos. EF: mucosa nasal pálida, con ligera atrofia de cornetes inferiores. Costras y secreción verdosas abundantes. Mucosa de orofaringe muy reseca.

6. Femenino de 50 años de edad, originaria y residente del Edo. de México, casada, dedicada al hogar. Refirió obstrucción nasal de 8 años de evolución, descarga posterior frecuente, tos seca y rinorrea verdosa ocasional. EF: Mucosa nasal hiperemica, con secreción amarillo-verdosa en moderada cantidad, halitosis y resequead de orofaringe.

7. Femenino de 32 años de edad, originaria y residente del DF. Casada, dedicada al hogar. Refirió rinorrea anterior amarillenta desde hacía 3 años, descarga posterior y halitosis de larga evolución. Multitratada sin mejoría. EF: Fosas nasales con abundantes costras amarillentas. Cornetes atróficos, estenosis parcial de ambas coanas, mucosa nasal hipoestésica. Orofaringe e hipofaringe con escasas costras verdosas.

8. Femenino de 55 años de edad, originaria y residente del DF, casada, dedicada al hogar padece diabetes mellitus bajo control médico. Refiere rinorrea verdosa de 5 años de evolución, halitosis, disguesia, hiposmia y obstrucción nasal de larga evolución. Multitratada con antimicrobianos con mejoría transitoria. EF: mucosa nasal pálida, con zonas de mucosa abombada, sangrante a la palpación. Hay secreción y costras verdosas en moderada cantidad. Estenosis parcial de coana izquierda.

9. Femenino de 46 años de edad. Originaria y residente del DF, casada, dedicada al hogar. Refirió 6 años de evolución con obstrucción nasal izquierda, descarga posterior y cefalea constante. Además acúfeno bilateral e hipoacusia de evolución no precisada. EF: Fosas nasales con secreción amarillenta y mucosa de aspecto verrucoso en septum y cornetes del lado izquierdo. Estenosis de coana derecha y oclusión total de la izquierda. Presenta también sinequia del cornete inferior izquierdo al septum.

En el cuadro 1 se muestran las frecuencias alélicas de los loci DQA1 y DQB1. El alelo DQA1*03011 presenta una FA de más del doble en los pacientes comparada con los controles, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas. El alelo DQB1*0301 está asociado con el ER ($X^2Y=6.8$; $p=0.009$), ya que se encuentra incrementado significativamente en los pacientes, con un RR de 9.1 y una FE de 79.2%.

En el cuadro 2 pueden observarse las frecuencias de los alelos DRB1, el análisis estadístico de estos no mostró diferencias significativas. No obstante, es importante enfatizar que la mayoría de los pacientes presentaron un alelo del DR4 (7/9).

En el cuadro 3 se presenta la distribución de haplotipos entre los pacientes y los testigos. El haplotipo más frecuente en los testigos es DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0302 (13.4%), que además es el de mayor frecuencia en la población mestiza mexicana¹¹⁻¹³. Sin embargo, el haplotipo más frecuente en los pacientes es DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 (18.35%) y se encontró significativamente asociado con el ER ($X^2 = 16.1$, $p = 0.000059$, $pc = 0.0027$) con un RR de 35.7% y una FE de 47.9%.

DISCUSIÓN

En este estudio se confirmó que uno de los alelos del DQ3 se encuentra asociado con el ER. El alelo DQB1*0301 está asociado con susceptibilidad a desarrollar dicha enfermedad (FE = 79.2%). Aunque el alelo DQA1*03011 se encuentra incrementado entre los pacientes, no hubo diferencias significativas. La alta frecuencia de éste último puede deberse a que la mayoría de los pacientes son DR4 y este alelo de DQA1 está generalmente asociado con los alelos de DR4 en nuestra población y se encuentran en desequilibrio de ligamiento^{7, 14-16}. El análisis de los resultados del DR4 no mostró ningún alelo incrementado significativamente. Sin embargo, cuando se analizaron los haplotipos se encontró al haplotipo DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 fuertemente asociado con la susceptibilidad a desarrollar ER (FE = 47.9%), ya que al calcular la pc sigue teniendo una alta significancia estadística. Dado que el ER es una enfermedad que involucra un patógeno intracelular, el alelo DQB1*0301 podría estar uniendo péptidos de la bacteria que indujera una respuesta TH2 que suprime la activación del macrófago y por lo tanto permite el desarrollo de la enfermedad. No obstante, el hecho de que el haplotipo DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 tenga una mayor significancia estadística con la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad, sugiere que puede haber otros genes cercanos, que se encuentren en desequilibrio de ligamiento, que estén contribuyendo también a la susceptibilidad. Por ejemplo el gen del factor de necrosis tumoral (TNF), que se encuentra en la región de clase III del HLA, cuyo polimorfismo de la región promotora se ha encontrado asociado a malaria, leishmaniasis, lepra y tuberculosis¹⁷⁻²¹, describiéndose un desequilibrio de ligamiento de los genes de clase II y los del TNF²⁰, por lo tanto podría ser más de un locus el involucrado en la susceptibilidad dentro de la región del HLA.

En el cuadro 3 se presenta la distribución de haplotipos entre los pacientes y los testigos. El haplotipo más frecuente en los testigos es DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0302 (13.4%), que además es el de mayor frecuencia en la población mestiza mexicana¹¹⁻¹³. Sin embargo, el haplotipo más frecuente en los pacientes es DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 (18.35%) y se encontró significativamente asociado con el ER ($X^2 = 16.1$, $p = 0.000059$, $pc = 0.0027$) con un RR de 35.7% y una FE de 47.9%.

DISCUSIÓN

En este estudio se confirmó que uno de los alelos del DQ3 se encuentra asociado con el ER. El alelo DQB1*0301 está asociado con susceptibilidad a desarrollar dicha enfermedad (FE = 79.2%). Aunque el alelo DQA1*03011 se encuentra incrementado entre los pacientes, no hubo diferencias significativas. La alta frecuencia de éste último puede deberse a que la mayoría de los pacientes son DR4 y este alelo de DQA1 está generalmente asociado con los alelos de DR4 en nuestra población y se encuentran en desequilibrio de ligamiento^{7, 14-16}. El análisis de los resultados del DR4 no mostró ningún alelo incrementado significativamente. Sin embargo, cuando se analizaron los haplotipos se encontró al haplotipo DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 fuertemente asociado con la susceptibilidad a desarrollar ER (FE = 47.9%), ya que al calcular la pc sigue teniendo una alta significancia estadística. Dado que el ER es una enfermedad que involucra un patógeno intracelular, el alelo DQB1*0301 podría estar uniendo péptidos de la bacteria que indujera una respuesta TH2 que suprime la activación del macrófago y por lo tanto permite el desarrollo de la enfermedad. No obstante, el hecho de que el haplotipo DRB1*0407-DQA1*03011-DQB1*0301 tenga una mayor significancia estadística con la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad, sugiere que puede haber otros genes cercanos, que se encuentren en desequilibrio de ligamiento, que estén contribuyendo también a la susceptibilidad. Por ejemplo el gen del factor de necrosis tumoral (TNF), que se encuentra en la región de clase III del HLA, cuyo polimorfismo de la región promotora se ha encontrado asociado a malaria, leishmaniasis, lepra y tuberculosis¹⁷⁻²¹, describiéndose un desequilibrio de ligamiento de los genes de clase II y los del TNF²⁰, por lo tanto podría ser más de un locus el involucrado en la susceptibilidad dentro de la región del HLA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Charles M Stiernberg, William D Clark. Rhinoscleroma- A diagnostic challenge. *Laryngoscope* 93. July 1983.
2. McDonald TJ. Manifestations of systemic diseases of the nose. En: Charles W. Cummings. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. Vol.2. 3 ed. Mosby 1998.
3. Zapata Zamora A., Barrón Soto M., Montiel Oviedo E., Tratamiento del escleroma respiratorio con ciclofosfamida y tetraciclinas. *Anales Soc. Mex Otorrinolar* No.3 XXXI Jul-Ago 1986.
4. Gamea AM, Local rifampicin en treatment of rhinoscleroma. *The Journal of Laryngol and Oto*. April 1988. Vol 102. p 319-21.
5. Maher A, El-Kashlan H, Soliman Y, Galal R. Rhinoscleroma: Management by Carbon Dioxide Surgical Laser. *Laryngoscope* 100: July 1990.
6. Martín Armendáriz L y cols. Estudio inmunogenético de una familia con escleroma. *An ORL Mex*. Vol 38 No. 2 1991.
7. Olivo A, Aláez C, Debáz H, Vázquez M, De la Rosa G, Pérez Luque E, Hernández A, Gorodezky C: Mexican Mestizo Normal. In Terasaki PI, Gjertson DW (eds): *HLA 1997*. California, UCLA Tissue Typing Laboratory, 1998.
8. Ota M y cols. HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers. *Tissue Antigens* 39:187-202, 1992.
9. Haldane JBS: The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frecuencies. *Ann Hum Genet* 20:309, 1956.
10. Svejgaard A, Platz P, Ryder LP: (1983) HLA and disease 1982- A survey. *Immunol Rev* 70:193, 1983.
11. Gorodezky C: Genetic difference between Europeans and Indians: Tissue and blood types. *Allergy Proc* 13:347, 1992.
12. De Leo C, Castelan N, Lopez M y cols: HLA class I and class II alleles and haplotypes in Mexican Mestizos established from serological typing of 50 families. *Hum Biol* 69:809, 1997.
13. Fernandez-Viña M, Moraes JR, Moraes ME, Miller S, Stastny P: (1991) HLA class II haplotypes in Amerindians and black North and South Americans. *Tissue Antigens* 38:235, 1991.
14. Olivo A, Aláez C, Debaz H,y cols: Class II alleles and haplotypes in Mexican Mestizos. *Hum. Immunol.* 44 (Suppl 1):62, 1995.
15. Gorodezky C, Olivo A, Debaz H,y cols: Inmunogenética de la <<Diabetes Mellitus>> Tipo I en poblaciones Mestizas de México, Colombia y Venezuela. In Municio AM, García Barreno P (eds): *Polimorfismo Génico (HLA) en Poblaciones Hispanoamericanas*. Madrid, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1996
16. Petzl-Erler ML, Gorodezky C, Layrisse Z, y cols: Anthropology report for region Latin America: Amerindian and admixed populations. In Charron D (ed): *Genetic Diversity of HLA Functional and Medical Implication*, Vol I. France, EDK, 1997.
17. Hill AV. The immunogenetics of resistance to malaria. *Proc Assoc Am Physicians*, Jul-Aug;111(4):272-7, 1999.
18. Blackwell JM. Tumour necrosis factor alpha and mucocutaneous leishmaniasis. *Parasitol Today*, Feb;15(2):73-5, 1999.
19. Roy S, McGuire W, Mascie-Taylor CG, Saha B, Hazra SK, Hill AV, Kwiatkowski D. Tumor necrosis factor promoter polymorphism and susceptibility to lepromatous leprosy. *J Infect Dis*;176(2):530-532, 1997.

20. Shaw MA, Donaldson IJ, Collins A, y cols. Association and linkage of leprosy phenotypes with HLA class II and tumour necrosis factor genes. *Genes Immun*, Jun; 2(4):196-204, 2001.

21. Selvaraj P, Sriram U, Mathan Kurian S, Reetha AM, Narayanan PR. Tumour necrosis factor alpha (-238 and -308) and beta gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis: haplotype analysis with HLA-A, B and DR genes. *Tuberculosis (Edinb)*; 81(5-6):335-41,2001

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 1. Distribución de los alelos de DQA1 y DQB1 en pacientes con ER y en testigos

Locus	Pacientes FA (%)	Testigos FA (%)	X²Y	p	pc	RR	FE (%)
DQA1							
*0101/4	0.0	9.45					
*0102	5.72	11.68					
*0103	0.0	4.61					
*0201	5.72	6.73					
*03011	52.86	25.17					
*0401	11.81	16.93					
*0501	25.46	27.20					
DQB1							
*0201	11.81	11.68					
*0301	66.67	21.26	6.8	0.009	0.118	9.19	79.2
*0302	0.0	23.84					
*0402	11.81	16.93					
*0501	0.0	6.73					
*0602	5.72	7.26					

FA=Frecuencia alélica

CUADRO 2. Distribución de los alelos de DRB1 en pacientes con ER y testigos

DRB1	Pacientes con ER FA (%)	Testigos FA (%)
*0101	0.0	2.02
*0102	0.0	3.56
*1501	0.0	5.66
*1502	0.0	1.51
*1601	0.0	1.51
*1602	0.0	5.13
*0301	5.72	5.66
*0302	0.0	1.51
*0402	11.81	1.51
*0403	5.72	1.01
*0404	3.72	3.56
*0405	0.0	3.56
*0407	18.35	13.40
*0411	5.72	2.02
*1101	0.0	1.51
*1104	0.0	1.01
*1201	0.0	1.51
*1301	0.0	3.56
*1302	0.0	3.05
*1303	0.0	1.01
*1401	0.0	2.02
*1402	0.0	3.56
*1406	0.0	5.66
*0701	15.72	6.73
*0801	0.0	2.53
*0802	11.81	12.25

FA=Frecuencia alélica

CUADRO 3. Distribución de haplotipos

Haplotipo	Pacientes con ER FH (%)	Testigo s FH%	X ² Y	p	pc	RR	FE (%)
*0301-*0501-*0201	5.72	5.13					
*0402-*03011-*0301	11.981	0.0					
*0402-*03011-*0302	0.0	2.02					
*0403-*03011-*0301	5.72	0.0					
*0404-*03011-*0301	5.72	0.0					
*0404-*03011-*0302	0.0	3.05					
*0405-*03011-*0302	0.77	3.05					
*0407-*03011-*0301	18.35	0.50	16.12	0.000059	0.0027	35.7	32.4
*0407-*03011-*0302	0.0	13.40					
*0411-*03011-*0301	5.72	0.0					
*0411-*03011-*0302	0.0	2.02					
*0701-*0201-*0201	5.72	5.13					
*0802-*0401-*0402	11.81	11.12					

HF=Frecuencia haplotípica