



UNIDAD XOCHIMILCO

**INMUNOMARCAJE DE CÉLULAS DE LANGERHANS EN LESIONES BUCALES
ASOCIADAS AL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN INDIVIDUOS CON
VIH/SIDA**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN PATOLOGÍA Y MEDICINA BUCAL**

P R E S E N T A

C.D. Jessica Lana Ojeda

COMITÉ TUTORIAL

Co-Directora: Dra. Irma Gabriela Anaya Saavedra

Co-Directora: Dra. Velia Aydée Ramírez Amador

Asesora externa: Dra. Ana María Cano Valdez

Asesor externo: Dr. Alejandro Manuel García Carrancá

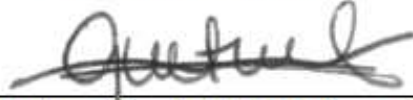
Ciudad de México, julio de 2020.

La Maestría en Patología y Medicina Bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad de CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el registro 5020

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Xochimilco aprobó la ICR que presentó:

JESSICA LANA OJEDA

COMITÉ TUTORIAL:



Co-Directora: Dra. I. Gabriela Anaya Saavedra



Co-Directora: Dra. Velia A. Ramírez Amador



Asesora: Dra. Ana María Cano Valdez

Asesor: Dr. Alejandro Manuel García Carrancá

Jurado:



M. en P. y M.B. Itzel Castillejos García (Presidenta)



M. en C. Estela de la Rosa García (Secretario)



Dra. Katya Pulido Díaz (Vocal)



Dr. Marcos Agustín Muñiz Lino (Vocal)

ÍNDICE	Pág.
Abreviaturas.....	VI
Índice de cuadros.....	VII
Índice de figuras.....	VII
Resumen.....	VIII
1. Introducción.....	1
1.1 Infección por VIH/SIDA.....	1
1.1.1 Epidemiología.....	1
1.1.2 Etiopatogenia.....	1
1.1.3 Manifestaciones bucales del VIH/SIDA.....	5
1.1.4 Lesiones bucales asociadas al VPH.....	7
1.2 Virus del Papiloma Humano.....	11
1.2.1 Generalidades y clasificación del VPH.....	11
1.2.2 Patogenia de la infección por VPH.....	12
1.2.3 Tratamiento para las LB-VPH.....	13
1.3 Respuesta inmune contra el VPH.....	14
1.3.1 Células de Langerhans.....	17
2. Planteamiento del problema y justificación.....	23
3. Objetivos.....	24
3.1 Objetivo general.....	24
3.2 Objetivos específicos.....	24
4. Metodología.....	24
4.1 Diseño del estudio.....	24
4.2 Procedimientos clínicos.....	26
4.3 Procedimientos de laboratorio.....	27
4.4 Variables.....	30
4.5 Análisis estadístico.....	30
4.6 Consideraciones bioéticas.....	31
5. Resultados.....	33

6. Discusión.....	46
7. Conclusiones y perspectivas.....	54
8. Referencias.....	55
9. Anexos.....	61

Abreviaturas

VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Humana
TARc	Terapia Antirretroviral Combinada
PVVS	Personas viviendo con VIH/SIDA
MB-VIH	Manifestaciones Bucales asociadas al VIH
VPH	Virus del Papiloma Humano
VPH-BR	VPH de Bajo Riesgo
VPH-AR	VPH de Alto Riesgo
LB-VPH	Lesiones Bucales asociadas al VPH
PEC	Papiloma Escamocelular
HEMF	Hiperplasia Eitelial Multifocal
VV	Verruga Vulgar
CA	Condiloma Acuminado
CL	Células de Langerhans
CD1a	Clúster de Diferenciación 1a

Índice de cuadros

Cuadro 1.	Clasificación de las manifestaciones bucales asociadas a VIH/SIDA.....	6
Cuadro 2.	Características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH.....	36
Cuadro 3.	Características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH única y múltiple.....	37
Cuadro 4.	Características clínicas de las LB-VPH en 40 individuos con VIH/SIDA.....	38
Cuadro 5.	Características histopatológicas de las LB-VPH en 40 individuos con VIH/SIDA.....	39
Cuadro 6.	Características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH de acuerdo con el marcaje de CD1a.....	40
Cuadro 7.	Características de las LB-VPH en 40 individuos con VIH/SIDA de acuerdo con el marcaje de CD1a.....	41

Índice de figuras

Figura 1.	Patogenia de la infección por VPH.....	13
Figura 2.	Respuesta inmune a VPH.....	15
Figura 3.	Inmunomarcaje de células de Langerhans CD1a+ en la mucosa bucal.....	19
Figura 4.	Rol de las células de Langerhans en la penetración epitelial del VIH.....	21
Figura 5.	Controles inmunohistoquímicos internos.....	29
Figura 6.	Presentación clínica de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA.....	42
Figura 7.	Histopatología de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA.....	43
Figura 8.	Inmunomarcaje de CD1a en LB-VPH de individuos con VIH/SIDA.....	44
Figura 9.	Tinción membranar en las células de Langerhans CD1a+ en LB-VPH de individuos con VIH/SIDA.....	45

RESUMEN

Introducción: De acuerdo con estudios en las pasadas dos décadas, las personas que viven con VIH/SIDA (PVVS) tienen mayor susceptibilidad a presentar lesiones bucales asociadas al Virus del Papiloma Humano (LB-VPH), que pueden ser floridas, recidivantes y resistentes a los tratamientos convencionales. Además de las alteraciones inmunológicas sistémicas como resultado de la disminución de linfocitos T CD4+, lo anterior pudiera ser resultado de alteraciones inmunológicas locales, particularmente en las células de Langerhans (CL), las cuales expresan la proteína CD1a en su superficie. Algunos estudios recientes realizados en lesiones anales y de cuello uterino, han identificado una disminución de las CL CD1a+, sin embargo, no existen reportes sobre su presencia en LB-VPH de sujetos con VIH/SIDA.

Objetivo: Identificar el inmunomarcaje de CD1a en las CL de LB-VPH en un grupo de PVVS y su posible asociación con características clínico-patológicas.

Metodología: Estudio retrolectivo, transversal, observacional y descriptivo en el que se incluyeron muestras de LB-VPH provenientes de individuos con VIH/SIDA de las Clínicas Especializadas Condesa (CEC), de enero de 2014 a julio de 2018. Se obtuvieron datos demográficos y clínicos del expediente médico y de la Clínica de Patología y Medicina bucal. Los bloques de tejido fueron sometidos a un análisis histopatológico (H-E) e inmunohistoquímico (anticuerpo primario CD1a). La tinción membranal a CD1a en las células de Langerhans fue considerada positiva, y se calculó el porcentaje y localización dentro de los estratos epiteliales. El análisis estadístico se realizó en el programa SPSS (V22); calculando medidas de tendencia central y de dispersión para las variables continuas, y proporciones para las variables categóricas. El análisis bivariado para las variables categóricas se realizó a través de la prueba de X^2 y la prueba U de Mann-Whitney para las variables continuas. Se utilizó un valor de $p < 0.05$.

Resultados: Se incluyeron 40 casos (92.5% hombres, media de edad de 39 años), 72.5% en etapas avanzadas de la infección por VIH/SIDA (mediana de linfocitos CD4+: 306 cél/mm³, 60.5% con carga viral indetectable). El 90% de los casos tenían terapia antirretroviral combinada. La LB-VPH más frecuente fue la hiperplasia epitelial multifocal (62.5%). El 82.5% de las muestras mostró un bajo inmunomarcaje de CL y el resto un marcaje normal. El 51.5% de las LB-VPH con bajo marcaje presentaron una localización basal y suprabasal, en contraste con las de marcaje normal que mostraron CL en todo el espesor (57.1%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el inmunomarcaje y las características clínicas, excepto con el conteo de leucocitos totales ($p < 0.05$).

Conclusiones: En individuos con VIH/SIDA, la reducida cantidad de CL en las LB-VPH sugiere que sus características clínicas atípicas pudieran estar asociadas a una respuesta inmune local alterada.

Palabras clave: VIH/SIDA, LB-VPH, CD1a.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Infección por VIH/SIDA

1.1.1 Epidemiología

La infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y el Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana (SIDA) continúan siendo un problema de salud pública, a pesar de la significativa disminución en las cifras de mortalidad asociada con el VIH/SIDA en las pasadas dos décadas (UNAIDS, 2019). En el último reporte del UNAIDS, se reportó un total de 37.9 millones de personas viviendo con VIH/SIDA (PVVS) en el mundo y 1.7 millones de casos nuevos en el año 2018 (UNAIDS, 2019). Con respecto a México, CENSIDA reportó en el año 2019 un total de 179,640 PVVS y 15,653 casos nuevos en el año (CENSIDA, 2019).

1.1.2 Etiopatogenia

El VIH es un virus del género *Lentivirus*, perteneciente a la familia *Retroviridae*, es decir un retrovirus, que se clasifica en dos variantes: el tipo 1 (VIH-1) y el tipo 2 (VIH-2). El VIH-1 es el más patogénico y se subdivide en 4 grupos: M, N, O y P, de los cuales el M es el más predominante a nivel mundial; el VIH-2 es endémico de África, aunque hay algunos casos reportados en Portugal, España, Francia y Brazil (Deeks y cols, 2015; Maartens y cols., 2014; Engelman y Cherepanov, 2012).

El genoma del VIH está compuesto por dos copias idénticas de ARN de simple cadena que posee nueve genes para codificar las diferentes proteínas virales y dos regiones LTR (Long Terminal Repeat) en los extremos para la integración al genoma de la célula hospedera. Los

genes *gag*, *pol* y *env* codifican las proteínas estructurales para las nuevas partículas virales, mientras que los otros seis genes, *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* y *vpu* se consideran accesorios y codifican las proteínas que controlan la habilidad del VIH para infectar las células, para la replicación viral y para producir enfermedad (Engelman y Cherepanov, 2012; Delgado, 2011).

En cuanto a la conformación de la partícula del VIH, las copias de ARN se encuentran acompañadas por múltiples enzimas involucradas en la replicación viral, las cuales son llamadas transcriptasa reversa, proteasa e integrasa. El ARN y estas enzimas están rodeadas por la cápside, conformada por múltiples copias de la proteína viral p24, que a su vez está rodeada por una matriz de proteínas p17 que asegura la integridad de la partícula viral. Por último, el virus se encuentra envuelto por una membrana lipoproteica, en la cual se encuentran las glicoproteínas gp120 y gp41, que son esenciales en la adherencia del virus con la célula del huésped. Dicha adherencia se lleva a cabo con células que presentan receptores de membrana CD4, como los monocitos, macrófagos, células dendríticas y principalmente los linfocitos T auxiliares. El CD4 es el receptor primario para el VIH, sin embargo, existen co-receptores como el CCR5 en los linfocitos T, macrófagos y células dendríticas, y el CXCR4 en los linfocitos T, que en conjunto provocan la entrada del virus a la célula del huésped (Deeks y cols, 2015; Maartens y cols., 2014; Engelman y Cherepanov, 2012; Moir y cols., 2011; Pérez y cols., 2011).

Durante la infección por VIH, el virus primeramente infecta las células CD4+ en las mucosas, disminuyendo sus conteos y después se esparce al sistema linfático. Los niveles de ARN viral son detectables en los primeros días y luego incrementan exponencialmente,

alcanzando un pico unas semanas después, en donde la respuesta inmune adaptativa controla parcialmente al virus, ya que la respuesta humoral es ineficaz debido a la evasión viral. Posteriormente se alcanza un punto de estabilidad de la viremia y el conteo de células T CD4+, donde el VIH establece una infección latente en los linfocitos de memoria, aunque también puede establecerla en células T CD4+ inmaduras y en otras células CD4+ de vida larga. En este periodo de estabilidad, el crédito es de los linfocitos T CD8+ específicos para VIH, sin embargo, ante la exposición crónica del virus, estas células se vuelven disfuncionales y la destrucción progresiva de linfocitos T CD4+ conlleva a la inmunodeficiencia e inflamación crónica (Deeks y cols, 2015; Maartens y cols., 2014).

Dentro de los mecanismos que utiliza el VIH para reducir el número de células T CD4+ se encuentra la replicación viral, que puede ser directamente citopatogénica, y una transcripción viral incompleta, estimulando una respuesta inflamatoria intensa y la muerte de las células T locales no infectadas. Por último, el VIH puede afectar la capacidad del sistema inmune para regenerar las células T CD4+ debido al daño viral causado en las células madre y el timo (Deeks y cols, 2015).

Clasificación de la infección por VIH/SIDA. Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) clasifican la infección por VIH/SIDA de acuerdo al conteo de linfocitos T CD4+ en tres categorías (1, 2 y 3) y de acuerdo a las manifestaciones clínicas en tres categorías (A, B, y C), resultando en las subcategorías A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 y C3 (Schneider y cols., 2008).

La categoría 1 incluye a individuos con un conteo de linfocitos T CD4+ mayor o igual a 500 células por microlitro; la categoría 2 con 200 a 499 células por microlitro; y la categoría 3 con menos de 200 células por microlitro. En cuanto a las categorías clínicas, la A incluye individuos asintomáticos, mientras que la B y la C incluyen individuos que presenten infecciones oportunistas específicas en cada categoría. Se ha definido que todo individuo que se encuentre en categoría 3 (<200 cél/μL) tiene SIDA, independientemente de la categoría clínica. Asimismo, todo individuo que se encuentre en categoría C también se considera con SIDA (Schneider y cols., 2008) (Anexo 1).

Tratamiento del VIH/SIDA. La visión de la infección por VIH ha cambiado a lo largo del tiempo desde la introducción de la terapia antirretroviral combinada (TARc); hace algunas décadas era vista como una infección mortal y actualmente es reconocida como una condición crónica que puede ser tratada con facilidad (Patton y cols., 2013). La TARc tiene como objetivo principal suprimir la replicación viral del VIH a niveles que sean indetectables en la circulación periférica y restablecer el sistema inmunitario mediante la obtención de un conteo de linfocitos T CD4+ cercano a niveles normales (El Howati y Tappuni, 2018; Pinto-Cardoso y cols., 2017; Maartens y cols., 2014; Thompson y cols., 2010).

A la fecha existen seis clases diferentes de fármacos con acción antirretroviral aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) para el tratamiento de individuos con VIH/SIDA: inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa (INTR), inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa (INNTR), inhibidores de proteasa (IP), inhibidores de la fusión (IF), inhibidores de la entrada (IE) e inhibidores de la integrasa (II). Cada uno

actúa en una fase específica del ciclo de replicación del VIH; los INTR e INNTR actúan durante la transcripción reversa y por ende su proteína blanco es la transcriptasa reversa; los IP actúan durante la maduración y su proteína blanco es la proteasa; los IF e IE durante la entrada, sobre la proteína gp41 y el co-receptor CCR5 respectivamente; y por último los II actúan durante la integración sobre la proteína integrasa (Pinto-Cardoso y cols., 2017; Maartens y cols., 2014; Engelman y Cherepanov, 2012).

1.1.3 Manifestaciones bucales del VIH/SIDA

Las manifestaciones bucales asociadas al VIH (MB-VIH) han sido características importantes a lo largo de la infección, ya que funcionan como indicadores de la propia infección por VIH (Ranganathan y Umadevi, 2019; Patton y cols., 2013), de falla al tratamiento antirretroviral (Patton y cols., 2013; Baccaglini y cols., 2007) y/o indicadores del Síndrome Inflamatorio de Reconstitución Inmune (SIRI) (Patton y cols., 2013; Ramírez-Amador y cols., 2009). Las MB-VIH son clasificadas actualmente según su etiología en infecciones fúngicas, infecciones virales, condiciones idiopáticas, infecciones bacterianas y neoplasias (Shiboski y cols., 2009) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación de las manifestaciones bucales asociadas a VIH/SIDA (Shiboski y cols., 2009).

Etiología	Manifestaciones bucales
Infecciones fúngicas	Candidosis pseudomembranosa, Candidosis eritematosa, Queilitis angular
Infecciones virales	Leucoplasia vellosa, Lesiones asociadas a VPH, Herpes labial, Herpes simple intrabucal recurrente
Condiciones idiopáticas	Estomatitis aftosa recurrente, Estomatitis ulcerativa necrosante, Úlceras inespecíficas
Infecciones bacterianas	Gingivitis ulcero-necrosante, Periodontitis ulcero-necrosante
Neoplasias	Sarcoma de Kaposi, Carcinoma de células escamosas, Linfoma no-Hodgkin

En las PVVS que utilizan TARc se ha observado que existe una disminución de las MB-VIH como la candidiasis, de un 39.5% a un 26.2% y la leucoplasia vellosa de un 26% a un 11.6%, debido a que hay una mejora en la respuesta inmunológica para combatir estas infecciones oportunistas (Ranganathan y Umadevi, 2019; El Howati y Tappuni, 2018). En contraste, algunos estudios han reportado un aumento de un 2% a un 5.2% desde 1990 hasta el 2015 en las lesiones bucales asociadas al Virus del Papiloma Humano (LB-VPH) en individuos bajo TARc. Se ha observado que estas lesiones son más prevalentes en países desarrollados (4.6%) en comparación con los países en desarrollo (1.9%) y hasta el día de hoy no se conoce con exactitud la razón de este aumento (Ranganathan y Umadevi, 2019; Ottria y cols., 2018; El Howati y Tappuni, 2018; Batavia y cols., 2016; Speicher y cols., 2016; Patton y cols., 2013; Anaya-Saavedra y cols., 2013; Syrjänen, 2011).

1.1.4 Lesiones bucales asociadas al VPH

Las LB-VPH son un grupo heterogéneo de lesiones caracterizadas por ser exofíticas, con una superficie papilomatosa, lisa o con aspecto de coliflor, de color blanco o semejante a la mucosa, solitarias o múltiples y de larga evolución (Ranganathan y Umadevi, 2019), las cuales se han dividido según sus características clínico-patológicas en cuatro entidades: hiperplasia epitelial multifocal (HEMF), papiloma escamocelular (PEC), verruga vulgar (VV) y condiloma acuminado (CA). Estas cuatro entidades muestran un comportamiento benigno tanto en individuos sanos como en individuos con VIH/SIDA y están asociadas en su gran mayoría a los VPH de bajo riesgo (VPH-BR) (Betz, 2019; Rautava y Syrjänen, 2011; Feller y cols., 2011; Syrjänen, 2003).

La HEMF es una entidad rara, asociada a los VPH-BR 13 y 32 principalmente. Se presenta comúnmente en ciertos grupos étnicos, como los Eskimos e indígenas de América del Norte, Centro y Sur, en los que se ha observado una predisposición genética del gen HLA-DR4; En México existen pocos estudios, por lo que se ha reportado una baja prevalencia en esta población, de 0.03-0.06% (Ledesma y cols., 2005; García-Corona y cols., 2004). Se presenta con mayor frecuencia en jóvenes con ligera predilección por el sexo femenino, en forma de múltiples pápulas de color rosa, superficie lisa, asintomáticas, con un tamaño que varía entre 1 a 10 mm, las cuales pueden coalescer y formar una lesión extensa, y que pueden desvanecer ante la distensión de la mucosa. Su localización más común es la mucosa labial inferior, mucosa yugal y mucosa lingual, sin embargo, pueden presentarse en cualquier parte de la mucosa bucal (Betz, 2019; Said y cols., 2013; Feller y cols., 2011; Pérez y cols., 2010; Syrjänen, 2003).

La histopatología de la HEMF está caracterizada por una leve hiperqueratosis y una acantosis prominente del epitelio escamoso estratificado, con preservación de la maduración celular normal. Se pueden ver coilocitos y figuras mitosoides compuestas por células con núcleo carioréctico que simula una mitosis, en todo el espesor epitelial. Estas figuras mitosoides son la característica más importante de esta lesión (El-Naggar y cols., 2017).

El PEC es una lesión hiperplásica exofítica común, asociada a los VPH-BR 6 y 11, que se presenta en ambos sexos por igual, con mayor frecuencia entre la 3ª y 4ª década de vida. Esta caracterizado por una superficie multilobulada con aspecto de coliflor, de base pediculada o sésil, color rosa o blanco, normalmente único, pero puede ser múltiple y suele estar localizado en paladar blando, lengua, labios y mucosa gingival (Betz, 2019; Feller y cols., 2011; Syrjänen, 2003).

La histopatología del PEC está caracterizada por proliferaciones papilares de epitelio escamoso estratificado hiperplásico que puede o no presentar una capa de paraqueratina u ortoqueratina de espesor variable. Las proyecciones epiteliales digitiformes se extienden desde una base angosta soportada por tejido fibroconectivo con capilares dilatados. El estroma puede ser edematoso o hialinizado. La presencia de coilocitos es infrecuente, así como las mitosis, excepto ante la presencia de trauma o inflamación (El-Naggar y cols., 2017).

La VV es la lesión asociada a VPH más común en la piel, sin embargo, se ha encontrado también en la mucosa bucal. Se asocia a los VPH-BR 2 y 4, siendo este último un tipo de

VPH cutáneo. Suele localizarse en zonas queratinizadas como el paladar blando, mucosa gingival y labios (Betz, 2019; Feller y cols., 2011; Syrjänen S, 2003).

Histopatológicamente, la VV se caracteriza por proliferaciones papilares de epitelio escamoso estratificado hiperplásico que está cubierto por una gruesa capa de ortoqueratina. Los procesos epiteliales elongados convergen hacia el centro. Se observa una capa granular prominente con gránulos de queratohialina en donde se identifican cambios coilocíticos (El-Naggar y cols., 2017).

El CA bucal es una lesión hiperplásica exofítica rara, que corresponde al equivalente del CA anogenital. Está asociado a la presencia de los VPH-BR 6 y 11 y a transmisión por contacto sexual. Se presenta con mayor frecuencia en hombres adultos jóvenes, en la mucosa labial, paladar blando o frenillo lingual. Puede ser único o múltiple, de color rosa o rojo, de superficie ligeramente granular y tamaño variable, hasta 15 mm (Betz, 2019; Feller y cols., 2011; Syrjänen S, 2003).

El CA está caracterizado histopatológicamente por una proliferación de epitelio escamoso estratificado hiperplásico con papilas de tejido fibroconectivo en una base amplia. Puede verse alargamiento de los núcleos basales, pero la maduración de los queratinocitos se mantiene, típicamente sin la queratinización observada en la VV. Las proyecciones papilares son anchas y generalmente aplanadas en la superficie. Los procesos epiteliales son bulbosos, cortos y rectos y los coilocitos son muy evidentes (El-Naggar y cols., 2017).

En un estudio realizado en una cohorte de PVVS en México, se reportó que la LB-VPH más frecuente en individuos con VIH/SIDA bajo TARc fue el PEC en un 40%, seguida de la HEMF en un 27.3% y en menor frecuencia la VV en un 5.5%. También se reportaron lesiones con características clínicas e histopatológicas similares a PEC y VV, las cuales se denominaron Verrugas Orales (VO) y se presentaron en un 12.7%. Asimismo, se encontraron en conjunto HEMF y VO en un 14.5%. En cuanto a los tipos virales que se aislaron con mayor frecuencia, los VPH-BR 1, 6, 11, 13, 32 y 74 se reportaron en un 65.4%, en contraste con los VPH de alto riesgo (VPH-AR) 16 y 31 reportados en un 11.5%. Se aislaron también combinaciones de VPH-BR con VPH-AR 13 con 16 y 18 en un 7.7%, así como infección múltiple en un 15.4% (Anaya-Saavedra y cols., 2013).

Se ha observado que la prevalencia de estas lesiones es mayor en individuos con VIH/SIDA en comparación con individuos sanos, reportándose cifras entre 0.3% (Lourenço y cols., 2011) hasta 6.9% (Anaya-Saavedra y cols., 2013), mientras que en sujetos sanos se ha reportado una prevalencia de ≤ 0.1 (Robledo-Sierra y cols., 2013) a 0.5% (Feller y cols., 2011). De igual manera, se ha visto que las LB-VPH en PVVS tienen un comportamiento distinto, presentándose algunas veces de manera florida, resistentes al tratamiento y recidivantes (Camacho-Aguilar y cols., 2018; Esquivel y cols., 2015; Anaya-Saavedra y cols., 2013; Cameron y Hagensee, 2008). Esto puede ser consecuencia de la alteración en la respuesta inmunológica, principalmente la innata, sin embargo, hasta la fecha no hay estudios publicados sobre la respuesta inmune contra el VPH en la mucosa bucal de individuos con VIH/SIDA que respalden esta teoría.

1.2 Virus del Papiloma Humano

1.2.1 Generalidades y clasificación del VPH

El Virus del Papiloma Humano (VPH) pertenece a la familia *Papillomaviridae* y presenta en su genoma una copia de ADN de doble cadena. Existen más de 200 tipos de VPH, los cuales suelen clasificarse en dos grandes grupos: los VPH de alto riesgo (VPH-AR) y los VPH de bajo riesgo (VPH-BR), dentro de los cuales los tipos 16 y 18 y los tipos 6, 11, 13 y 32 son los más comunes respectivamente (Betz, 2019; Ranganathan y Umadevi, 2019). En condiciones normales, los VPH-BR suelen ser eliminados por el sistema inmunológico del huésped, sin embargo, los VPH-AR suelen persistir por mayor tiempo dentro de las células, lo que trae en consecuencia un mayor riesgo de transformación maligna (Syrjänen, 2018; Rautava y Syrjänen, 2011; Syrjänen, 2011).

En individuos sin VIH/SIDA se han reportado múltiples prevalencias de infección por VPH en la mucosa bucal debido a las diferentes técnicas usadas para la obtención de la muestra; estudios de meta-análisis recientes reportan una prevalencia de 7.7% (Betz, 2019). En contraste, en PVVS se ha reportado una mayor prevalencia, 23-36%, del cual los VPH-BR son los que se aíslan con mayor frecuencia, en comparación con los VPH-AR, aunque también se han encontrado combinaciones de VPH-BR con VPH-AR (Syrjänen, 2018; Syrjänen, 2011; Feller y cols., 2011). A pesar del relativamente bajo porcentaje de VPH-AR, existe un riesgo tres veces mayor de cáncer de cabeza y cuello en las PVVS posiblemente debido a la persistencia de este tipo de virus como consecuencia de la alteración en el sistema inmunológico, entre otras hipótesis (Syrjänen, 2018; Patton y cols., 2013; Syrjänen, 2011; Amornthatree y cols., 2011; Palefsky, 2006).

1.2.2 Patogenia de la infección por VPH

El VPH tiene como blanco las células basales del epitelio escamoso de la piel y las mucosas cuando éstas quedan expuestas por una discontinuidad epitelial ante un trauma o microabrasión. Una vez que el virus penetra la célula basal mediante endocitosis, el genoma episomal entra al núcleo para iniciar la replicación viral, la cual es completada paralelamente a la de las células del huésped, y posteriormente se integra de forma extracromosómica para ser propagado a las nuevas células hijas (aunque también puede existir integración cromosómica, sobre todo en los VPH-AR). A medida que las células infectadas se dividen y migran a estratos suprabasales para diferenciarse en queratinocitos, las copias del genoma viral se amplifican, se expresan las proteínas virales y se ensamblan los viriones o partículas virales. En consecuencia, al momento que los queratinocitos se descaman en las capas superficiales del epitelio, estas células cuentan con miles de viriones listos para infectar nuevas células. En algunas ocasiones, la replicación viral puede ser tan significativa que se genera una hiperplasia epitelial y es lo que clínicamente se identifica como una lesión asociada al VPH (Figura 1) (Betz, 2019; Ranganathan y Umadevi, 2019; Roden y Stern, 2018; Syrjänen, 2018; Stanley, 2012; Rautava y Syrjänen, 2011).

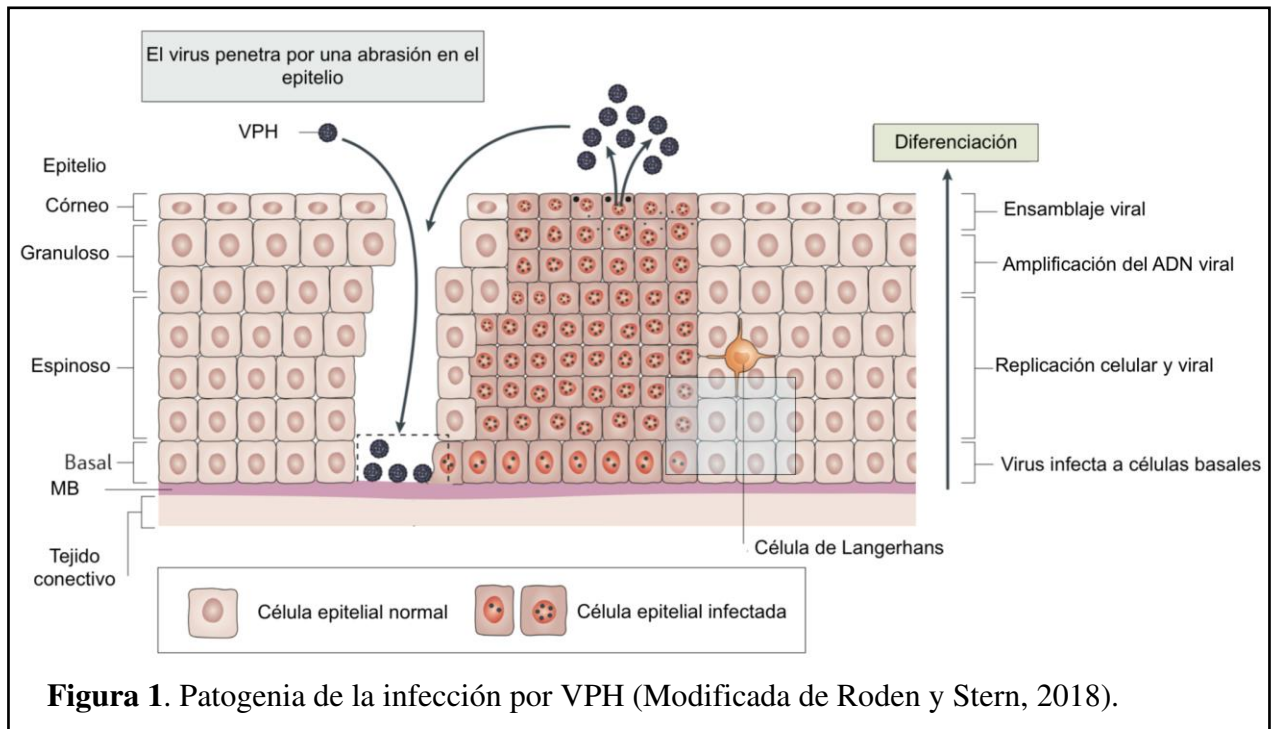


Figura 1. Patogénesis de la infección por VPH (Modificada de Roden y Stern, 2018).

1.2.3 Tratamiento para las LB-VPH

Actualmente no existe un protocolo de manejo, aunque se han reportado métodos quirúrgicos y tópicos con fármacos como la podofilina, el ácido tricloroacético, ácido salicílico, ácido retinoico, 5-fluorouracilo, interferón- α/β y el imiquimod. El imiquimod es un derivado imidazoquinolínico, clasificado como inmunomodulador, agonista del receptor tipo-Toll 7 y 8 en las células del sistema inmune innato, principalmente las células de Langerhans, que activa la secreción de citocinas como el interferón tipo I (IFN-I), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), entre otras, encargadas de la acción antiviral (Syrjänen, 2018; Muñoz-Santos y cols., 2013; Zhou y cols., 2013; Hober y cols., 2005). Existen estudios que han demostrado la eficacia y seguridad del imiquimod en lesiones anogenitales por VPH (Saiag y cols., 2009), sin embargo, en cuanto a LB-VPH solo hay algunos reportes de caso que demuestran su eficacia (Méndez-Flores y cols., 2016; Esquivel y cols., 2015; Ponte y cols., 2010; Yasar y cols., 2009). Esta diferencia en los resultados pudiera

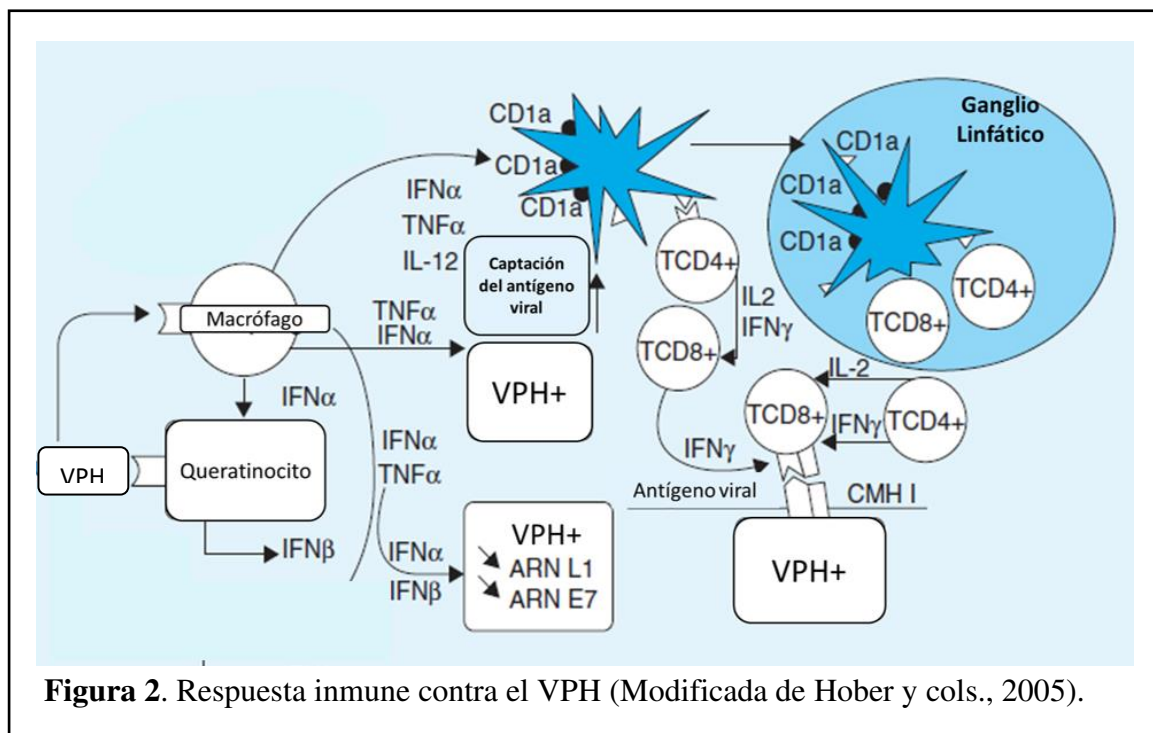
deberse a una expresión disminuida de los componentes del sistema inmune innato, específicamente de los receptores tipo-Toll (TLRs), del TNF α y/o de las células dendríticas, específicamente las células de Langerhans, lo que genera una intriga para investigación.

1.3 Respuesta inmune contra el VPH

El VPH, al ser un virus que actúa a nivel epitelial, depende de la respuesta inmune local del huésped para su resolución, proceso en el que están involucrados elementos del sistema inmune innato, pero también elementos del sistema inmune adquirido (Stanley, 2012). El primer contacto de la partícula de VPH con el huésped son los TLRs expresados en la membrana de las células epiteliales (queratinocitos), de las células de Langerhans (CL) y de los macrófagos (en caso de que el huésped presente alguna discontinuidad en el epitelio con exposición del tejido conectivo superficial al momento de la transmisión). Los TLRs internalizan al VPH, se desintegra su cápside y se libera su material genético (ADN), para ser reconocido por los TLRs endosomales. En consecuencia, al ligando formado por los TLRs con el virus, se desencadena una cascada de señalización para la formación de citocinas como el IFN-I (α , β), el TNF α y múltiples Interleucinas (IL). El IFN-I actúa sobre las células epiteliales infectadas, estimulando la producción de proteínas antivíricas para controlar la transcripción genética del VPH, mientras que el TNF α estimula a las CL para que aumenten su expresión de receptores membranales CD1a y exista una mayor presentación del antígeno viral en su superficie (Figura 2) (Bashaw y cols., 2017; Rautava y Syrjänen, 2012; Renn y cols., 2006; Hober y cols., 2005).

Una vez activada, la CL madura y expresa en su membrana Moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MHC-II) para dar inicio a la respuesta inmune adquirida

mediada por células. En este punto, los linfocitos T CD4+ se unen al MHC-II, se activan y secretan citocinas específicas para activar a los linfocitos T CD8 y poder atacar a las células epiteliales infectadas, las cuales expresan Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I (MHC-I) para ser captadas por estos linfocitos. Asimismo, la CL madura puede viajar al ganglio linfático más cercano para presentar los antígenos a los linfocitos T CD4+ y CD8+ inmaduros que residen en el ganglio, lo que los activa y así pueden migrar para atacar a las células infectadas por el VPH (Figura 2) (Rautava y Syrjänen, 2012; Renn y cols., 2006; Hober y cols., 2005).



En el caso de las PVVS, la respuesta inmune se encuentra modificada como consecuencia de la infección por VIH/SIDA, sin embargo, la manera en la que dicha respuesta se altera y en qué etapa de la infección por VIH ocurre no está bien esclarecido hasta el día de hoy (Syrjänen, 2018; Challacombe y Naglik, 2006).

Se han descrito varias teorías que podrían explicar la mayor prevalencia y el comportamiento atípico de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA, a pesar de la utilización de TARc. Una de ellas menciona la existencia de inestabilidad cromosómica, en la cual se sugiere que el daño genético de las células epiteliales infectadas por VPH ha sido tan fuerte, ocasionando que las células continúen proliferando a pesar de la restauración del sistema inmune con TARc (Palefsky, 2006). Otros autores sugieren que el aumento de estas lesiones pudiera asociarse al SIRC (Ottaria y cols., 2018; Speicher y cols., 2016; Patton y cols., 2013; King y cols., 2002).

Otro posible mecanismo es la regulación de la transcripción del VPH por parte del VIH, ya que se ha encontrado mRNA de la proteína Tat del VIH en muestras de CA (Batavia y cols., 2016; King y cols., 2002), sin embargo, Tat induce la expresión de los oncogenes E6 y E7 (Li y cols., 2010) que se asocian al VPH-AR y la mayoría de las LB-VPH son formadas por VPH-BR (Camacho-Aguilar y cols., 2018; Anaya-Saavedra y cols., 2013; Cameron y cols., 2005).

Sin embargo, una de las teorías más estudiadas trata sobre la posibilidad de una alteración en la respuesta inmune local. Es bien conocido que la respuesta inmune sistémica ante VPH es relativamente baja, debido a que la infección se restringe a las células epiteliales, y si se añade una disminución de células T de memoria específicas para VPH por el daño del VIH, el resultado es una respuesta inmune a VPH gravemente disminuida, la cual puede no recuperarse por completo a pesar de la reconstitución del sistema inmune con TARc (Ranganathan y Umadevi, 2019; Palefsky, 2006). Por lo que, al parecer, la TARc no tiene efecto en la inmunidad local de individuos con respuesta incompleta (Cruz y cols., 2012).

Con todo lo mencionado anteriormente, el VIH aparenta tener un efecto tanto en la respuesta inmune sistémica como en la local, siendo esta última la responsable de combatir la infección por VPH, y una de las principales células involucradas en la respuesta inmune local innata son las células de Langerhans, las cuales tienen una función esencial, ya que son el enlace entre la inmunidad innata y la inmunidad adquirida (Cunningham y cols., 2013; Upadhyay y cols., 2013)

1.3.1 Células de Langerhans

Las CL son células dendríticas derivadas de la médula ósea que se encuentran localizadas entre las células epiteliales de la piel y la mucosa. Están encargadas de la protección de estos tejidos debido a su rol en la respuesta inmunitaria, ya que tienen la capacidad de internalizar materiales extraños, migrar a los ganglios linfáticos y presentar antígenos a los linfocitos T inmaduros, por lo tanto, son consideradas células presentadoras de antígeno (Niedergang y cols., 2004; Chou y cols., 2000).

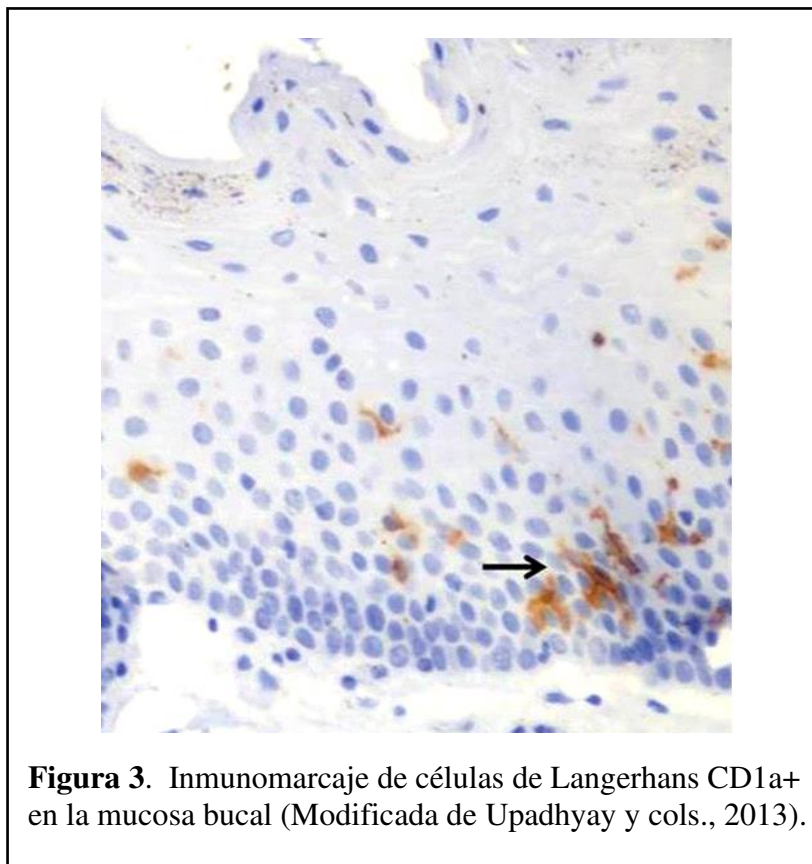
Estas células se pueden clasificar según su morfología y maduración en CL tipo 1 y tipo 2. Las CL tipo 1 exhiben largos procesos citoplasmáticos, numerosos gránulos de Bierbeck y se consideran inmaduras, mientras que las CL tipo 2 tienen menos dendritas y gránulos, y son consideradas como maduras (Upadhyay y cols., 2013; Gondak y cols., 2012). Las CL inmaduras tienen la habilidad de internalizar partículas por fagocitosis y degradarlas para presentar los antígenos en su membrana celular. Después de ser activadas por la presentación de antígenos en su superficie, las CL sufren un proceso de maduración (es decir, se convierten en una CL tipo 2), en donde adquieren la capacidad de migrar al tejido conectivo y a los ganglios linfáticos para presentar los antígenos a los linfocitos B y T

vírgenes, estimulando la respuesta inmune (Gondak y cols., 2012; Niedergang y cols., 2004).

En cuanto a los marcadores membranales, las CL inmaduras (exclusivas del epitelio) expresan CD1a y CD207 (langerina) en su superficie celular, así como CD40, CD80 y CD86 en menor proporción. En contraste, la maduración de las CL está asociada a la expresión del MHC-II y CD83, a la sobreexpresión de CD40, CD80, y CD86, y a la secreción de moléculas de adhesión y citocinas como la IL-10 e IL-12, con disminución de la expresión de CD1a y CD207 (Rhodes y cols., 2019; Gondak y cols., 2012; Niedergang y cols., 2004; Matthews y cols., 2003; Chou 2000).

El marcador CD1a es un isotipo de la familia de moléculas CD1, una de las principales familias de proteínas presentadoras de antígeno en los mamíferos, cuya función es presentar lípidos en la superficie de las células encargadas de la presentación de antígenos, con el fin de que exista un reconocimiento directo por las células T (Chancellor y cols., 2018). Por lo tanto, la sobreexpresión de CD1a en las células de Langerhans indica que éstas se encuentran activadas debido a la presentación antigénica en su membrana celular (Chancellor y cols., 2018; Cruz y cols., 2012). Existen otros marcadores de células Langerhans como el CD207, la proteína S100 y el HLA-DR, sin embargo, éstos pueden expresarse en otros tipos de células dendríticas, por lo que el marcador CD1a es el único específico para células de Langerhans ubicadas en el epitelio (Rhodes y cols., 2019; Bashaw y cols., 2017; Chou y cols., 2000).

En la mucosa bucal sana es normal encontrar células de Langerhans CD1a+ en una cantidad relativamente abundante, 2-4% (Upadhyay y cols., 2013; Gondak y cols., 2012; Chou y cols., 2000) (Figura 3), la cual varía según el sitio; en mucosa no queratinizada las cifras son mayores cuando se comparan con la mucosa queratinizada (Jivan y Meer, 2016). Sin embargo, las cifras de CL pueden estar alteradas ante algún proceso inflamatorio (Iwasaky, 2007; Challacombe y Naglik, 2006) o ante la señalización de las células epiteliales por la presencia de patógenos (Niedergang y cols., 2004).

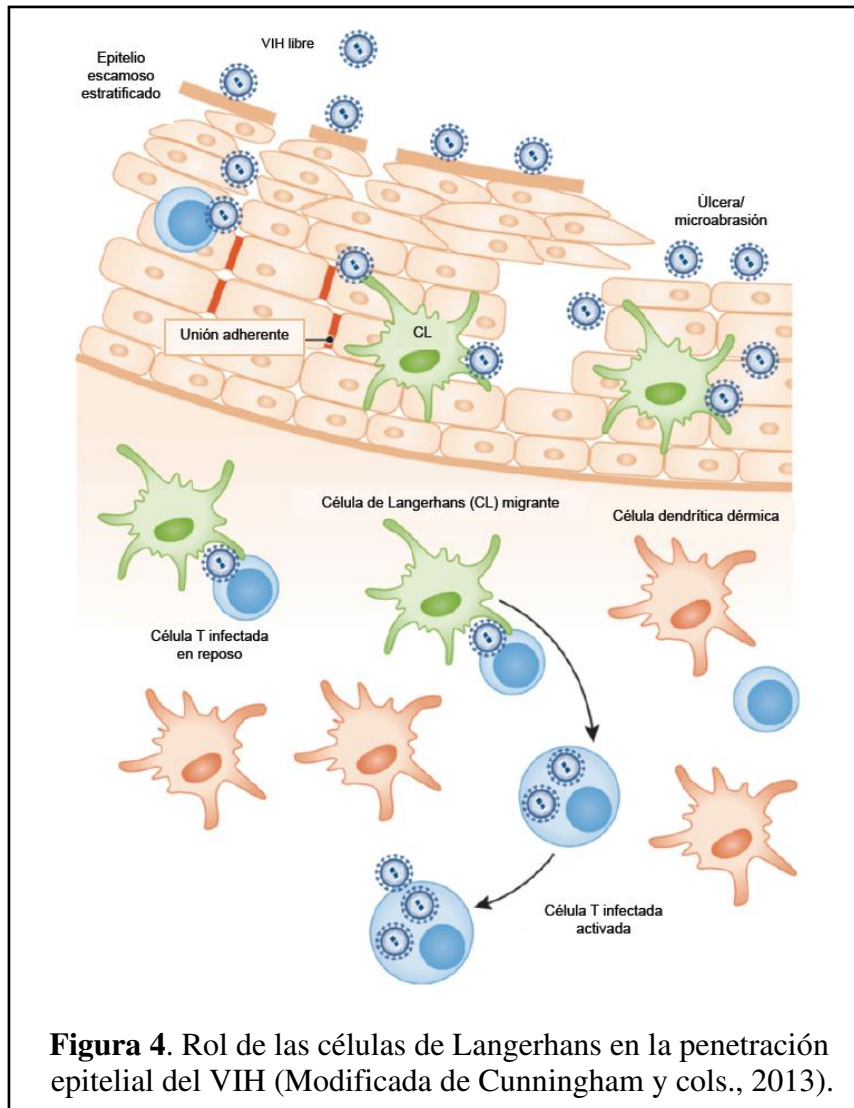


Existen diversos factores que pueden alterar la función de estas células presentadoras de antígeno, como la disminución en el conteo de las mismas, la disminución en la expresión del MHC-II, la presencia de dendritas atípicas, el desarrollo inadecuado de los organelos y

la ausencia de los gránulos de Bierbeck. Cualquiera de estos defectos tiene como consecuencia una alteración en la respuesta inmunológica general, ya que, si no se lleva a cabo la presentación de antígenos a las células T, éstas no podrán desarrollar una respuesta inmune adquirida mediada por células (Jivan y Meer, 2016).

Se han reportado anormalidades en el número y función de las CL en la patogénesis de varias enfermedades de la mucosa bucal como el liquen plano, la enfermedad periodontal y enfermedades infecciosas, entre ellas la candidiasis, las asociadas al virus del herpes, al VPH y al VIH/SIDA (Jivan y Meer, 2016; Cháirez-Atienzo y cols., 2016; Upadhyay y cols., 2013).

En la infección por VIH, las CL son el blanco inicial de este virus debido a que expresan receptores CD4 y CCR5 en su membrana celular (Rhodes y cols., 2019; Upadhyay y cols., 2013; Cunningham y cols., 2013; Challacombe y Naglik, 2006; Chou y cols., 2000); este contacto entre el VIH y las CL puede ocurrir directamente en el epitelio bucal o a través de CL precursoras infectadas. Una vez que el virus se encuentra dentro de la célula, ésta puede actuar como una barrera viral al degradar los viriones en el interior de sus gránulos de Bierbeck, sin embargo, el VIH puede replicarse dentro de la CL y ser transmitido a otras células T CD4+ (Rhodes y cols., 2019; Gondak y cols., 2012) (Figura 4).



Diversos estudios (Jivan y Meer, 2016; Nittayananta y cols., 2016; Gondak y cols., 2012; Chou y cols., 2000) han reportado una disminución de las células de Langerhans CD1a+ en individuos con VIH/SIDA en comparación con individuos sanos. Jivan y Meer (2016) observaron una reducción en el conteo de estas células en sarcoma de Kaposi de sujetos VIH+ en comparación con mucosa bucal libre de infección en sujetos sin VIH; Nittayananta y cols. (2016) reportaron una disminución en epitelio gingival y en leucoplasia vellosa de sujetos VIH+ en contraste con los VIH-; de igual modo, Gondak y

cols. (2012) y Chou y cols. (2000) encontraron una disminución en leucoplasia vellosa y mucosa sana de individuos con VIH en comparación con individuos sanos.

De igual modo, múltiples autores han demostrado la disminución de estas células CD1a+ en lesiones asociadas a VPH de mucosa anal y de cuello uterino en PVVS (Cruz y cols., 2012; Yaghoobi y cols., 2011; Levi y cols., 2005; Kobayashi y cols., 2004; Sobhani y cols., 2002), sin embargo, hasta el momento no hay reportes publicados sobre el inmunomarcaje de células de Langerhans en lesiones bucales asociadas al VPH en individuos con VIH/SIDA.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Las lesiones bucales asociadas al Virus del Papiloma Humano (LB-VPH) en individuos con VIH/SIDA presentan características clínicas e histopatológicas atípicas, y en ocasiones presentan resistencia a los tratamientos convencionales. Si bien existen fármacos inmunomoduladores tópicos que desencadenan una respuesta inmunitaria innata contra el VPH, mediada por múltiples citocinas expresadas por las células epiteliales y las células de Langerhans, actualmente no existe un protocolo de manejo para las LB-VPH. Las CL son células presentadoras de antígeno, que tienen un importante rol en la inmunidad innata, y que expresan la proteína CD1a en su superficie celular para poder llevar a cabo dicha presentación antigénica. Sin embargo, no existen estudios sobre los componentes inmunitarios innatos implicados en el desarrollo de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA, los cuales son necesarios para conocer la posible asociación entre el resultado terapéutico y dichos componentes inmunitarios.

Los resultados del presente estudio podrán ofrecer información sobre las posibles vías inmunológicas estimuladas por el VPH en la mucosa bucal de individuos con un sistema inmunológico alterado por la infección de VIH/SIDA, lo que aportará información sobre su patogénesis y podrá ser de utilidad para la instauración de medidas terapéuticas basadas en evidencia. Esto redundará benéficamente en el futuro manejo de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA y en la implementación de ensayos clínicos con miras al establecimiento de la mejor estrategia terapéutica en estos individuos.

Por todo lo anterior, el presente estudio propone la caracterización inmunohistoquímica del marcaje de las células de Langerhans con la proteína CD1a, en lesiones bucales asociadas al VPH en individuos con VIH/SIDA.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Identificar el inmunomarcaje de CD1a en las células de Langerhans de lesiones bucales asociadas al Virus del Papiloma Humano en un grupo de PVVS.

3.2 Objetivos específicos

- Establecer la frecuencia y características clínicas e histopatológicas de las LB-VPH en una cohorte de PVVS
- Identificar el inmunomarcaje (porcentaje y localización) de la proteína CD1a
- Identificar la posible asociación entre el inmunomarcaje de CD1a con algunas características clínicas relevantes

4. METODOLOGÍA

4.1 Diseño del estudio

Estudio retrolectivo, transversal, observacional y descriptivo, en el que se seleccionaron casos con diagnóstico histopatológico de papiloma escamocelular, verruga vulgar, hiperplasia epitelial multifocal y condiloma acuminado de la mucosa bucal de la cohorte de individuos con VIH/SIDA de las Clínicas Especializadas Condesa y Condesa-Iztapalapa comprendidos en el período de enero 2014 a julio del 2018. Este estudio forma parte del proyecto titulado “Tipificación de Virus del Papiloma Humano (VPH) en lesiones bucales de individuos infectados con VIH y su asociación con la Terapia Antirretroviral Altamente Activa”, el cual ha sido aprobado por el Consejo Divisional de Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM-Xochimilco en su sesión 9/17 y tiene una vigencia hasta diciembre de 2020.

Criterios de inclusión:

Individuos con VIH/SIDA que tuvieran diagnóstico histopatológico de papiloma escamocelular, verruga vulgar, hiperplasia epitelial multifocal o condiloma acuminado bucal, que cuenten con bloque de parafina para el estudio inmunohistoquímico, y que hayan aceptado participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- Individuos con VIH/SIDA con diagnóstico histopatológico de papiloma escamocelular, verruga vulgar, hiperplasia epitelial multifocal y condiloma acuminado bucal que hayan recibido tratamiento tópico para las LB-VPH en el mes previo a su inclusión en el estudio (ácido tricloroacético, ácido salicílico, ácido láctico, ácido retinoico, podofilina, cidofovir, bleomicina, 5-fluorouracilo, interferón- α/β , imiquimod)
- Individuos con VIH/SIDA con diagnóstico histopatológico de papiloma escamocelular, verruga vulgar, hiperplasia epitelial multifocal y condiloma acuminado bucal que hayan recibido tratamiento sistémico con fármacos antivirales en el mes previo a su inclusión en el estudio (aciclovir, valaciclovir, interferón- α/β , ganciclovir, foscarnet, famciclovir, vacunas contra VPH)
-

Criterios de eliminación:

- Individuos con información clínica incompleta
- Muestras con material biológico insuficiente para la realización del estudio inmunohistoquímico
- Muestras que, después de realizar la técnica de inmunohistoquímica, sufrieran algún daño que no permita su evaluación

4.2 Procedimientos clínicos

La información para el llenado de la ficha de recolección de datos se obtuvo mediante la revisión de los expedientes de la cohorte de pacientes con VIH/SIDA de la Clínica Especializada Condesa y Condesa Iztapalapa que tuvieran historia de LB-VPH y que hayan consentido participar en el estudio titulado “Tipificación de Virus del Papiloma Humano (VPH) en lesiones bucales de individuos infectados con VIH y su asociación con la Terapia Antirretroviral Altamente Activa”. Se incluyeron características demográficas (edad, sexo, fecha y lugar de nacimiento, residencia, ocupación y escolaridad), antecedentes personales patológicos (fecha de diagnóstico de VIH, signos y síntomas iniciales, conteo de linfocitos T CD4+ nadir, clasificación CDC, fecha de inicio de TARc, manifestaciones bucales asociadas a VIH), antecedentes personales no patológicos (hábito tabáquico, alcohólico y otras toxicomanías), así como valores de laboratorio de la cita basal (leucocitos, linfocitos, VDRL, CD4, CV) y características clínicas (número de lesiones, localización, color, base, superficie, tamaño, sintomatología, tiempo de evolución, diagnóstico clínico, antecedente de tratamiento y presencia o ausencia de recurrencia).

A cada sujeto de estudio se le realizó una exploración bucal sistemática completa, de acuerdo con un orden anteriormente establecido (Ramírez-Amador y cols., 1986), tanto en la visita basal como en las de seguimiento. En los que se encontró una o más lesiones con características de LB-VPH se les realizó la toma de biopsia con fines diagnósticos y terapéuticos. La muestra de tejido fue colocada en un frasco rotulado con formol al 10% y fue procesada en el Laboratorio de Patología y Medicina bucal de la UAM-Xochimilco.

4.3 Procedimientos de laboratorio

Evaluación de los casos. Se realizaron cortes histológicos de cada bloque de estudio, se tiñeron con hematoxilina y eosina y posteriormente fueron evaluados por dos patólogas bucales (IGAS y VARA) para cotejar el diagnóstico. Las LB-VPH se clasificaron en PEC, VV, HEMF o CA según las características histopatológicas descritas por la Organización Mundial de la Salud (Anexo 3).

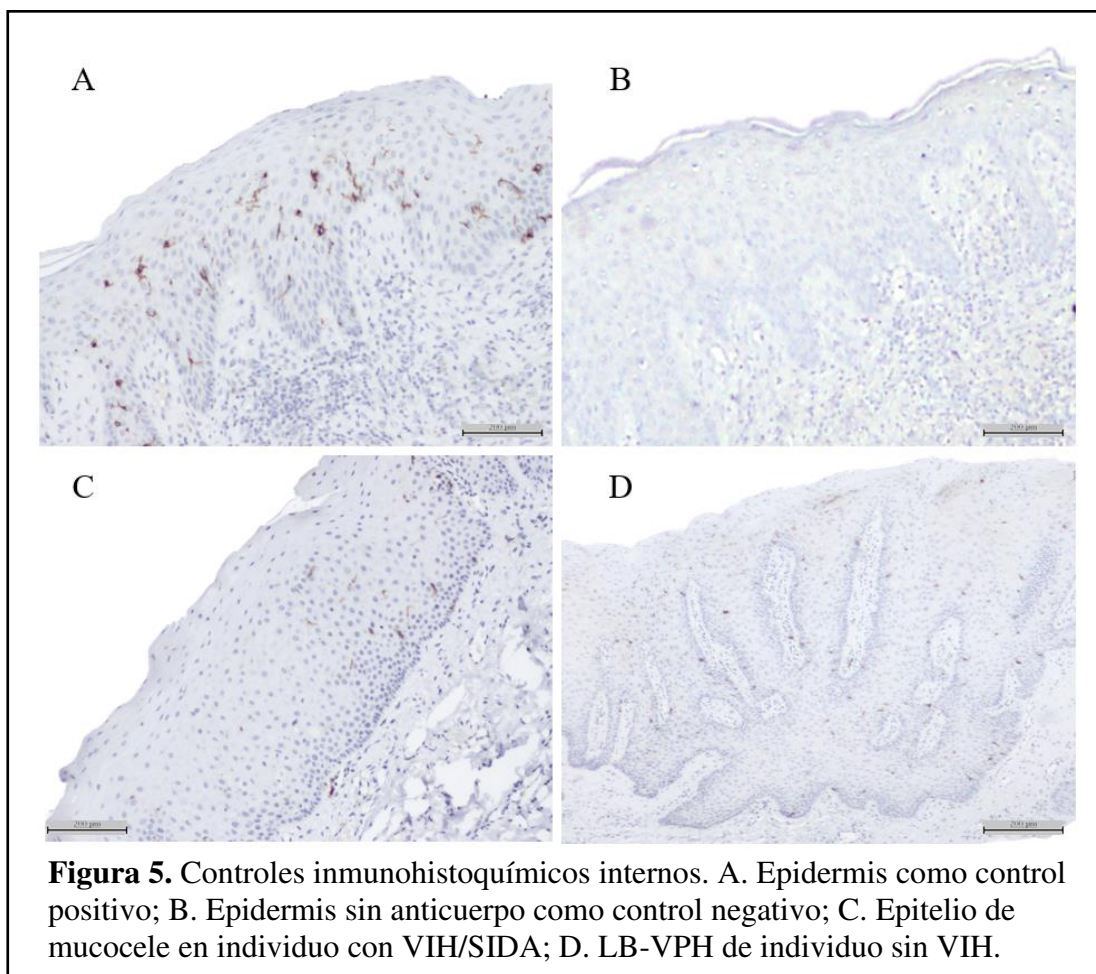
Técnica de inmunohistoquímica. La técnica de inmunohistoquímica fue realizada en el Laboratorio de Virus y Cáncer del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM con sede en el Instituto Nacional de Cancerología de la Ciudad de México, utilizando el anticuerpo primario CD1a. Se realizaron cortes de 2 µm de espesor de cada bloque de estudio y se montaron en laminillas electrocargadas (Kling-On Slides, Biocare Medical®, USA), para posteriormente iniciar el protocolo de la técnica de inmunohistoquímica que se realiza en dicho laboratorio, el cual consta de los siguientes procedimientos:

- Desparafinar las laminillas a 60° C por 30 min, colocarlas en xilol por 10 min, cambiarlas a xilol nuevo por 10 min, luego cambiarlas a etanol absoluto por 5 min, por último colocarlas en etanol absoluto nuevo por 5 min y dejarlas secar a temperatura ambiente
- Lavar las laminillas con PBS 1X por 5 min en agitación suave
- Recuperación antigénica con buffer de citratos (ImmunoDNA Retriever 20X with Citrate, Bio SB, USA) en Multiolla rápida Oster por 26 min (programar arroz + 2) y posteriormente dejar enfriar la solución a temperatura ambiente hasta que se torne clara; para obtener la solución de citratos se diluyen 2 ml del buffer en 38 ml de agua ultrapura (Milli-Q)

- Lavar con PBS 1X por 5 min en agitación suave
- Permeabilizar el tejido con tritón 100X (0.1%) /PBS 1X por 20 min en agitación suave; para preparar esta solución se deben diluir 40µl de tritón en 40 ml de PBS
- Lavar con PBS 1X por 5 min en agitación suave
- Rodear la muestra con pluma (Mini PAP PEN, Invitrogen, USA), colocar una gota de solución bloqueadora de peroxidases endógenas (PolyDetector Peroxidase Blocker, Bio SB, USA) e incubar en cámara húmeda por 15 min
- Lavar con PBS 1X por 1 min
- Colocar 100 µl de solución bloqueadora e incubar en cámara húmeda por 40 min; esta solución se prepara con 50 mg de BSA, 100 µl de Tris 1M pH 7.4, 27 µl de NaCl 4 M y 873 µl de agua de ampolleta
- Agregar a cada muestra 50 µl del anticuerpo primario monoclonal anti-CD1a (Abcam™, ratón) en una dilución de 1:300 e incubar en cámara húmeda a 4° C por 20 hrs. El anticuerpo se diluye con 20 µl de Tris pH 8.0, 7.4 µl de NaCl 4M y se completa con agua de ampolleta; para un volumen final de 100 µl se colocan 0.33 µl de anticuerpo, 20 µl de Tris, 7.4 µl de NaCl y 72.27 µl de agua
- Lavar con PBS 1X por 5 min en agitación suave
- Agregar a cada muestra 50 µl del anticuerpo secundario anti-ratón (Mouse/Rabbit ImmunoDetector DAB HRP Brown, Bio SB, USA) y posteriormente incubar en cámara húmeda por 40 min
- Lavar con PBS 1X por 5 min en agitación suave
- Revelar con sustrato cromogénico DAB (PolyDetector Liquid DAB HRP Brown Kit, Bio SB, USA) y lavar con PBS 1X para parar reacción

- Contra-teñir con hematoxilina por 30 seg y lavar con agua corriente hasta que el colorante se torne azul
- Lavar con PBS 1X por 1 min, lavar con agua bidestilada por 5 min y dejar secar las laminillas

Para garantizar la especificidad del anticuerpo se utilizó un fragmento de piel (epidermis) como control positivo y se realizaron ensayos omitiendo el anticuerpo primario (control negativo). De igual manera se utilizaron lesiones reactivas glandulares (mucoceles) de individuos con VIH/SIDA y LB-VPH de individuos sin VIH/SIDA como controles internos (Figura 5).



Análisis inmunohistoquímico. Para el análisis de inmunomarcaje se utilizó un microscopio óptico (Olympus BX53, Japón), a cada lesión se le tomaron fotomicrografías a 40X de cuatro áreas centrales consecutivas con una cámara (Olympus DP21, USA). Las fotomicrografías obtenidas se transfirieron al programa IMAGE-J 1.52, en donde se realizó el conteo de las células de Langerhans positivas. Se consideró un inmunomarcaje positivo para CD1a al observar tinción membranal en las células de Langerhans en el componente epitelial (Uhlen y cols., 2019). De acuerdo con Upadhyay y cols. (2013), en epitelio bucal sano de individuos inmunocompetentes, la cantidad de células de Langerhans varía entre 2 y 4%, por lo que, para fines del presente estudio, los porcentajes menores a 2% se consideraron como marcate bajo. Para el cálculo del porcentaje de inmunomarcaje se dividió el número de células positivas entre el total de células y se multiplicó por cien (Bologna-Molina y cols., 2011). Adicionalmente, se registró la localización de las células CD1a⁺, utilizando las categorías: 1) basal y suprabasal y 2) todo el espesor del epitelio.

4.4 Variables

Dependientes: Inmunomarcaje de CD1a (localización y porcentaje).

Independientes: Edad, sexo, consumo de tabaco, alcohol y otras toxicomanías, estadio clínico, tiempo con TARc, conteo de CD4, CV, número y tipo de lesiones bucales asociadas al VPH (papiloma escamocelular, hiperplasia epitelial multifocal, verruga vulgar, condiloma acuminado) y características histopatológicas.

4.5 Análisis estadístico

Los datos de la ficha de recolección fueron codificados y capturados en el programa estadístico SPSS Statistics versión 22 (IBM®). Se calcularon las medidas de tendencia

central (media y mediana) y de dispersión (desviación estándar, intervalos intercuartiles) para las variables continuas, y se calcularon proporciones para las variables categóricas. Se realizó el análisis bivariado para las variables continuas con la prueba U de Mann-Whitney y para las variables categóricas se usó la prueba de X^2 . La significancia estadística se aceptó para $p < 0.05$.

4.6 Consideraciones bioéticas

Todos los sujetos incluidos en el estudio recibieron un consentimiento informado, en el cual se les invitó a participar de manera voluntaria al estudio titulado “Tipificación de Virus del Papiloma Humano (VPH) en lesiones bucales de individuos infectados con VIH y su asociación con la Terapia Antirretroviral Altamente Activa”. Se les explicó que, en caso de consentir su participación, se utilizarán sus datos demográficos y clínicos, así como la muestra de su tejido resultante de la biopsia, con fines de investigación, de manera confidencial, para formar parte de la cohorte de individuos con VIH/SIDA de la Clínica Especializada Condesa y Condesa Iztapalapa y que, en caso de no consentir su participación, no se utilizarían sus datos ni su muestra y no habría ninguna repercusión hacia su persona ni a su atención.

En consideración del artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, se expresa que este estudio puede clasificarse dentro del grupo de investigaciones sin riesgo, explicando que estos son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran:

cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se les identifica ni se tratan aspectos sensitivos de su conducta.

La información clínica y las muestras incluidas en este estudio se encuentran bajo resguardo del Laboratorio de Patología y Medicina bucal de la UAM-Xochimilco y el riesgo para los individuos es inexistente. Así mismo, de acuerdo con el artículo 16 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos en materia de que toda persona tiene derecho a la protección de sus datos personales, se asegura la confidencialidad de los datos clínicos de las muestras de los individuos involucrados en el estudio, los cuales solo se utilizaron con fines estadísticos y no podrá relacionarse con ellos de ninguna manera.

5. RESULTADOS

En el presente estudio se incluyeron 40 individuos con VIH/SIDA y LB-VPH, 37 (92.5%) eran hombres, con una media de edad de 39 (± 11.4) años. Aproximadamente, la mitad de ellos no refirió antecedentes de consumo de tabaco (52.5%), y dos terceras partes consumían alcohol (67.5%). La mayor parte de los sujetos se encontraba en categoría clínica de SIDA (72.5%), con carga viral indetectable (60.5%) y con una mediana de linfocitos CD4+ de 306 (137.5-492) cél/ μ L. El 90% de los individuos incluidos recibían TARc, con una mediana de tiempo de uso de 951 (152.2 - 3,587.5) días (Cuadro 2).

Como se observa en el Cuadro 2, la LB-VPH más frecuentemente encontrada fue la HEMF (62.5%), seguida por el PEC (25%), y la VV (7.5%); solo se identificaron dos casos de CA (5%), a pesar de que 14 individuos refirieron presentar condilomas anogenitales (35%). Adicionalmente, nueve sujetos presentaron candidosis bucal (22.5%) y cuatro presentaron leucoplasia vellosa de manera conjunta (4%).

Más de la mitad de los individuos presentaron lesiones múltiples (21/40, 52.5%). Como se observa en el Cuadro 3, no se encontró diferencia estadísticamente significativa en el uso, tiempo y tipo de TARc, conteo de linfocitos T CD4 y carga viral entre lesiones únicas y múltiples ($p > 0.05$).

En el Cuadro 4 y Figura 6 se describen las características clínicas de las LB-VPH estudiadas. De manera interesante, se observaron tres casos (30%) de PEC múltiples, sin embargo, todos los casos de VV y CA fueron únicos y la mayoría de las HEMF múltiples (72%) ($p = 0.010$). La localización más frecuente fue la mucosa labial y yugal (35%); en seis

de los 40 sujetos (15%) se presentó recidiva de las lesiones (cuatro HEMF, un PEC y un CA), dos fueron tratadas quirúrgicamente y dos individuos se perdieron durante el seguimiento.

En cuanto a las características histopatológicas, todos los PEC mostraron proyecciones digitiformes y todos los casos de VV y CA presentaron hiperqueratinización. La HEMF fue la lesión con mayor número de figuras mitosoides (44%) ($p=0.003$), mientras que todos los casos de VV y uno de los CA presentaron coilocitos en abundancia. Un hallazgo interesante fue la presencia de hiperplasia del tejido fibroconectivo en tres casos de HEMF (12%) y de melanososis focal en el 20% de los casos de PEC y HEMF, así como los seis casos con exocitosis de neutrófilos, dos de ellos asociados a infección por *Candida spp.* En relación con las características sugestivas de transformación maligna, únicamente un caso de HEMF mostró displasia epitelial moderada, lesión que fue escindida quirúrgicamente y no presentó recidiva (Cuadro 5 y Figura 7).

Análisis inmunohistoquímico. Solo 7 de los 40 casos (17.5%) mostraron inmunomarcaje normal de CD1a (2-4%), identificándose la presencia de CL en todo el espesor del epitelio. En contraste, la mayor parte de las muestras analizadas (33/40, 82.5%) presentaron un bajo inmunomarcaje de CD1a (<2%), con CL localizadas principalmente en estrato basal y suprabasal. (Figura 8 y 9).

El Cuadro 6 describe las características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH de acuerdo con el marcate de CD1a. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el inmunomarcaje y las variables como sexo, edad, consumo de alcohol o

tabaco, estadio clínico, conteo de linfocitos CD4, carga viral, o uso y tiempo de uso de TARc. En las muestras con marcaje normal se observó una mediana de leucocitos menor (4,370 [3,800-5,620] cél/ μ L) que en aquellas con marcaje bajo (5,500 [5,035-6,375] cél/ μ L) ($p=0.033$). De manera similar, la cantidad de CL no mostró diferencias en variables clínicas como el diagnóstico y tipo de LB-VPH, su localización, tamaño o recidiva (Cuadro 7).

Cuadro 2. Características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH.

	n	(%)
Sexo		
Femenino	3	(7.5)
Masculino	37	(92.5)
Media de edad (\pmDE) en años	39 \pm 11.4	
Tabaco		
No	21	(52.5)
Si	19	(47.5)
Alcohol		
No	13	(32.5)
Si	27	(67.5)
Categoría clínica VIH		
Asintomático	11	(27.5)
SIDA	29	(72.5)
Mediana de linfocitos CD4 (Q₁-Q₃) (cél/μL)	306 (137.5-492)	
Carga viral (CV) (n=38)		
\leq 40 copias/mL	23	(60.5)
$>$ 40 copias/mL	15	(39.5)
Mediana de CV detectable (Q₁-Q₃) (copias/mL)	13,990 (705-52,703)	
TARc		
No	4	(10.0)
Si	36	(90.0)
Mediana de tiempo con TARc (Q₁-Q₃) en días (n=38)	951 (152.2-3,587.5)	
Diagnóstico LB-VPH		
Hiperplasia epitelial multifocal	25	(62.5)
Papiloma escamocelular	10	(25.0)
Verruga vulgar	3	(7.5)
Condiloma acuminado	2	(5.0)

DE: Desviación estándar; Q₁-Q₃: intervalo intercuartil.

Cuadro 3. Características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH única y múltiple.

	LB-VPH única	LB-VPH múltiple	<i>P</i>
	(n=19)	(n=21)	
	n (%)	n (%)	
Tabaco			
No	9 (47.4)	12 (57.1)	0.536 ^a
Si	10 (52.6)	9 (42.9)	
TARc			
No	1 (5.3)	3 (14.3)	0.342 ^a
Si	18 (94.7)	18 (85.7)	
Mediana de tiempo TARc (Q₁-Q₃) (días)	951 (130-3,141.25) (n=18)	1,277.5 (298-4,427.5) (n=20)	0.224 ^b
Tipo de TARc			
ITRAN + II	0 (0)	1 (5.6)	0.286 ^a
ITRAN + ITRNN	14 (77.8)	10 (55.6)	
ITRAN + IP	4 (22.2)	5 (27.8)	
ITRNN + IP + II	0 (0) (n=18)	2 (11.1) (n=18)	
Mediana de linfocitos CD4 (Q₁-Q₃) (cél/μL)	352 (172-474)	285 (110-508.5)	0.797 ^b
Carga viral			
≤ 40 copias/mL	12 (63.2)	11 (57.9)	0.740 ^a
> 40 copias/mL	7 (36.8)	8 (42.1) (n=19)	

LB-VPH: Lesión bucal asociada al Virus del Papiloma humano; Q₁-Q₃: intervalo intercuartilar; ^aChi-cuadrada ^bU de Mann-Whitney.

Cuadro 4. Características clínicas de las LB-VPH en 40 individuos con VIH/SIDA.

	PEC (n=10)	HEMF (n=25)	VV (n=3)	CA (n=2)	P
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Tipo de LB-VPH					
Única	7 (70.0)	7 (28.0)	3 (100)	2 (100)	0.010^a
Múltiple	3 (30.0)	18 (72.0)	0 (0)	0 (0)	
Localización					
Mucosa labial y yugal	3 (30.0)	8 (32.0)	2 (66.7)	1 (50.0)	0.218 ^a
Lengua	3 (30.0)	3 (12.0)	1 (33.3)	0 (0)	
Paladar y encía	1 (10.0)	1 (4.0)	0 (0)	1 (50.0)	
Múltiples sitios	3 (30.0)	13 (52.0)	0 (0)	0 (0)	
Tamaño (mm)					
3-9	9 (90.0)	19 (86.4)	3 (100)	1 (50.0)	0.415 ^a
10-15	1 (10.0)	3 (13.6)	0 (0)	1 (50.0)	
		(n=22)			
Color					
Rosa	5 (71.4)	12 (75.0)	2 (66.7)	1 (50.0)	0.933 ^a
Blanco	1 (14.3)	1 (6.2)	1 (33.3)	1 (50.0)	
Rojo	0 (0)	1 (6.2)	0 (0)	0 (0)	
Mixto	1 (14.3)	2 (12.5)	0 (0)	0 (0)	
	(n=7)	(n=16)			
Superficie					
Lisa	0 (0)	5 (35.7)	0 (0)	0 (0)	0.401 ^a
Papilomatosa	7 (100)	8 (57.1)	2 (100)	2 (100)	
Lisa + papilomatosa	0 (0)	1 (7.1)	0 (0)	0 (0)	
	(n=7)	(n=14)	(n=2)		
Recidiva					
No	9 (90.0)	21 (84.0)	3 (100)	1 (50.0)	0.446 ^a
Si	1 (10.0)	4 (16.0)	0 (0)	1 (50.0)	

PEC: Papiloma escamocelular; HEMF: Hiperplasia epitelial multifocal; VV: Verruga vulgar; CA: Condiloma acuminado; ^aChi-cuadrada.

Cuadro 5. Características histopatológicas de las LB-VPH en 40 individuos con VIH/SIDA.

	PEC (n=10)	HEMF (n=25)	VV (n=3)	CA (n=2)	P
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Proyecciones epiteliales					
Ausentes	0 (0)	24 (96.0)	1 (33.3)	2 (100)	0.000^a
Digitiformes	4 (40.0)	1 (4.0)	0 (0)	0 (0)	
Filiformes	0 (0)	0 (0)	2 (66.7)	0 (0)	
Papilomatosas	6 (60.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Queratina					
Normal	5 (50.0)	14 (56.0)	0 (0)	0 (0)	0.153 ^a
Hiperqueratinizado	5 (50.0)	11 (44.0)	3 (100)	2 (100)	
Figuras mitosoides					
Ausentes	4 (40.0)	1 (4.0)	3 (100)	1 (50.0)	0.003^a
Pocas	5 (50.0)	13 (52.0)	0 (0)	1 (50.0)	
Abundantes	1 (10.0)	11 (44.0)	0 (0)	0 (0)	
Coilocitos					
Ausentes	0 (0)	2 (8.0)	0 (0)	0 (0)	0.202 ^a
Pocos	7 (70.0)	13 (52.0)	0 (0)	0 (0)	
Abundantes	3 (30.0)	10 (40.0)	3 (100)	2 (100)	
Tejido conectivo hiperplásico					
No	10 (100)	22 (88.0)	3 (100)	2 (100)	0.584 ^a
Si	0 (0)	3 (12.0)	0 (0)	0 (0)	
Infiltrado inflamatorio					
Leve	1 (10.0)	11 (44.0)	0 (0)	1 (50.0)	0.390 ^a
Moderado	8 (80.0)	12 (48.0)	3 (100)	1 (50.0)	
Severo	1 (10.0)	2 (8.0)	0 (0)	0 (0)	

PEC: Papiloma escamocelular; HEMF: Hiperplasia epitelial multifocal; VV: Verruga vulgar; CA: Condiloma acuminado; ^aChi-cuadrada.

Cuadro 6. Características clínicas de 40 individuos con VIH/SIDA con LB-VPH de acuerdo con el marcaje de CD1a.

	CD1a		P
	Marcaje bajo (n=33)	Marcaje normal (n=7)	
	n (%)	n (%)	
Sexo			
Femenino	3 (9.1)	0 (0)	0.407 ^a
Masculino	30 (90.9)	7 (100)	
Media de edad (± DE) en años	39 ± 11.9	39 ± 10	0.972 ^b
Tabaco			
No	16 (48.5)	5 (71.4)	0.270 ^a
Si	17 (51.5)	2 (28.6)	
Alcohol			
No	10 (30.3)	3 (42.9)	0.519 ^a
Si	23 (69.7)	4 (57.1)	
Categoría clínica VIH			
Asintomático	10 (30.3)	1 (14.3)	0.389 ^a
SIDA	23 (69.7)	6 (85.7)	
Mediana de leucocitos (Q₁-Q₃) (K/μL)	5,500 (5,035-6,375) (n=32)	4,370 (3,800-5,620)	0.033^b
Mediana de linfocitos CD4 (Q₁-Q₃) (cél/μL)	311 (120-491)	285 (151-633)	1.00 ^b
Carga viral (n=38)			
≤ 40 copias/mL	21 (65.6)	2 (33.3)	0.138 ^a
> 40 copias/mL	11 (34.4)	4 (66.7)	
TARc			
No	3 (9.1)	1 (14.3)	0.677 ^a
Si	30 (90.9)	6 (85.7)	
Mediana de días con TARc (Q₁-Q₃)	760 (240-3,070) (n=31)	3,473.5(27-5,019) (n=6)	0.615 ^b

DE: Desviación estándar; Q₁-Q₃: intervalo intercuartil; ^a Chi-cuadrada; ^b U de Mann-Whitney.

Cuadro 7. Características de las LB-VPH en 40 individuos con VIH/SIDA de acuerdo con el marcaje de CD1a.

	CD1a		<i>P</i>
	Marcaje bajo (n=33)	Marcaje normal (n=7)	
	n (%)	n (%)	
Diagnóstico LB-VPH			
Hiperplasia epitelial multifocal	20 (80.0)	5 (20.0)	0.695 ^a
Papiloma escamocelular	9 (90.0)	1 (10.0)	
Verruga vulgar	2 (66.7)	1 (33.3)	
Condiloma acuminado	2 (100)	0 (0)	
Tipo de LB-VPH			
Única	17 (89.5)	2 (10.5)	0.270 ^a
Múltiple	16 (76.2)	5 (23.8)	
Localización			
Mucosa labial y yugal	13 (92.9)	1 (7.1)	0.525 ^a
Lengua	6 (85.7)	1 (14.3)	
Paladar y encía	2 (66.7)	1 (33.3)	
Múltiples sitios	12 (75.0)	4 (25.0)	
Tamaño (mm) (n=37)			
3-9	26 (81.2)	6 (18.8)	0.290 ^a
10-15	5 (100)	0 (0)	
Recidiva			
No	28 (82.4)	6 (17.6)	0.954 ^a
Si	5 (83.3)	1 (16.7)	

LB-VPH=Lesión bucal asociada al Virus del Papiloma Humano. ^aChi-cuadrada.



Figura 6. Presentación clínica de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA. A. Papiloma escamocelular; B. Hiperplasia epitelial multifocal; C. Verruga vulgar; D. Condiloma acuminado.

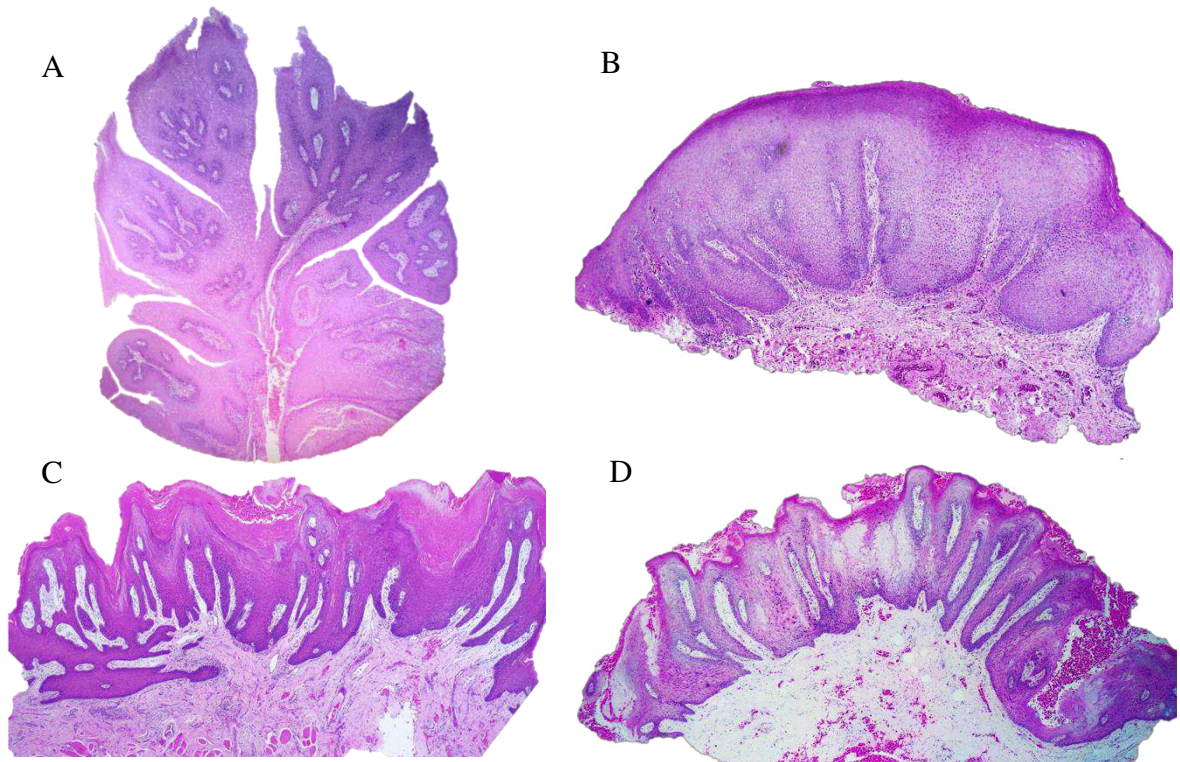


Figura 7. Histopatología de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA. A. Papiloma escamocelular; B. Hiperplasia epitelial multifocal; C. Verruga vulgar; D. Condiloma acuminado.

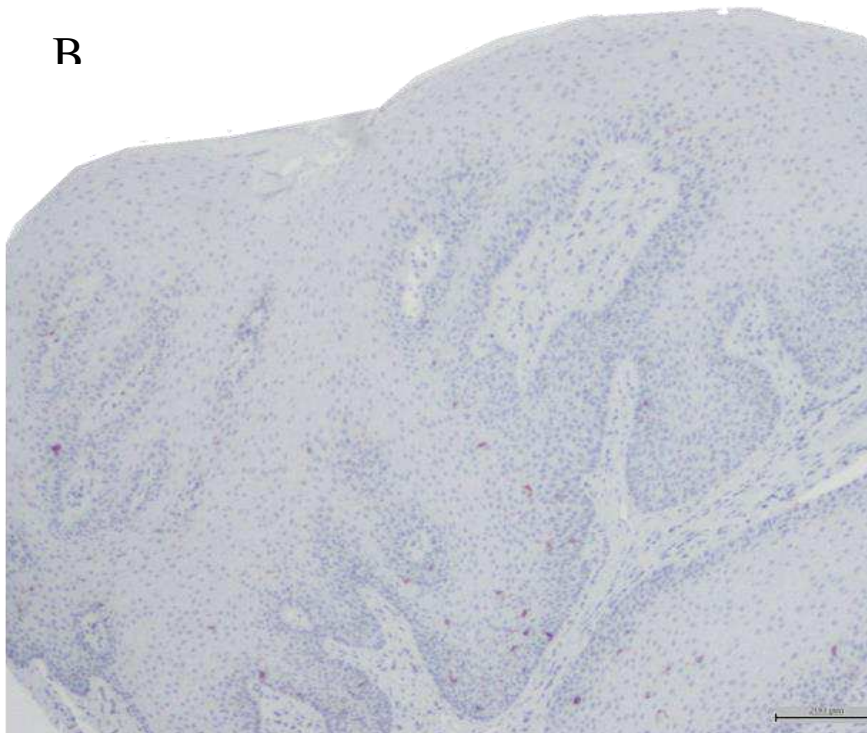
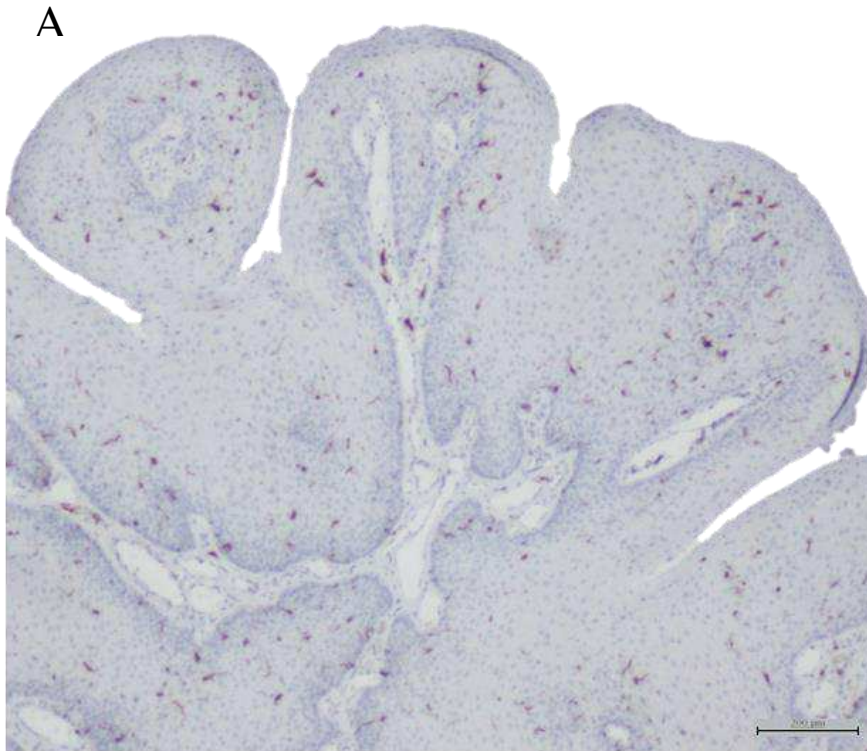


Figura 8. Inmunomarcaje de CD1a en LB-VPH de individuos con VIH/SIDA. A. Marcaje normal con localización en todo el espesor epitelial en PEC. B. Marcaje bajo con localización basal y suprabasal en HEMF.

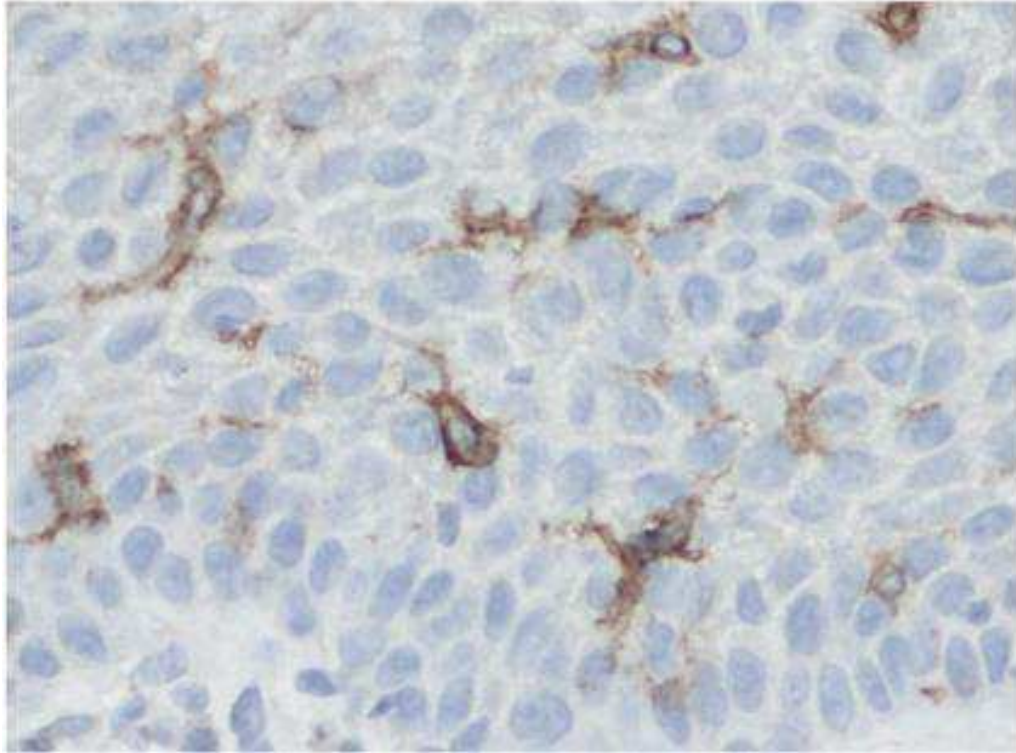


Figura 9. Tinción membranal en las células de Langerhans CD1a+ en LB-VPH de individuos con VIH/SIDA.

6. DISCUSIÓN

En el presente estudio se identificó un bajo inmunomarcaje de CD1a en las LB-VPH de individuos con VIH/SIDA, lo que significa que se encontró un número reducido de células de Langerhans en estas entidades patológicas. Ello pudiera explicar la alteración en la respuesta inmune local y el consecuente desarrollo de LB-VPH con características clínicas atípicas. Sin embargo, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre la cantidad de células de Langerhans y las variables clínicas de importancia.

De acuerdo con los datos epidemiológicos de la infección por VIH/SIDA en México en 2019, la mayoría de los individuos incluidos eran hombres de la cuarta década de la vida, en estadios avanzados de la enfermedad y con una alta cobertura de TARc (90%). De acuerdo con los datos del Centro Nacional para la prevención y el control del VIH/SIDA (CENSIDA, 2019), el 82% de los casos de VIH/SIDA corresponde a hombres, el 45% de ellos de entre 30 y 45 años. El uso de TARc en México es universal desde el año 2003 (CENSIDA, 2019), lo cual se refleja en que el 90% de nuestra población contaba con TARc. Sin embargo, a pesar de la alta cobertura de antirretrovirales, solamente 60% tenían supresión viral, y la mediana de CD4 no mostraba una reconstitución inmunológica satisfactoria.

Al igual que en estudios previos (Camacho-Aguilar y cols., 2018; Rosales-Terrazas y cols., 2014; Anaya-Saavedra y cols., 2013), las lesiones más frecuentes fueron la HEMF (62%) y el PEC (25%). La alta frecuencia de HEMF pudiera ser explicada por la susceptibilidad genética de nuestra población debido a la presencia del antígeno leucocitario humano subtipo HLA-DR4 (Syrjänen 2018; Said y cols., 2013; Pérez y cols., 2010; Ledesma y

cols., 2005; García-Corona y cols., 2004). Por otro lado, algunos autores han reportado que la mayoría de las LB-VPH se asocian al VPH-32, que es un genotipo frecuentemente aislado en la HEMF (Syrjänen 2011, Cameron y Hagensee, 2008), sin embargo, la mayoría de los estudios utilizan el término genérico de “verrugas orales” para referirse a las distintas LB-VPH, por lo que la posibilidad de hacer comparaciones entre la prevalencia de estas lesiones en países caucásicos es limitada. Existen algunos reportes de caso de HEMF en países europeos como Bélgica, Portugal e Italia, aunque los últimos dos son en PVVS originarias de Sudáfrica (Galanakis y cols., 2014; Ponte y cols., 2010; Moerman y cols., 2001).

La presentación múltiple en el 53% de los individuos es parcialmente explicable dado que la mayor parte de las lesiones correspondieron a HEMF; sin embargo, un tercio de los PEC fueron múltiples. Este hallazgo ha sido reportado por otros autores, los cuales sugieren que la presentación múltiple de las LB-VPH puede estar asociada a una respuesta inmune local alterada como consecuencia de la infección por VIH/SIDA, a pesar del uso de TARc (Camacho-Aguilar y cols., 2018; Esquivel y cols., 2015; Anaya-Saavedra y cols., 2013); debido a que la infección por VPH se restringe a las células epiteliales, el virus puede evadir el reconocimiento inmune local gracias a su método de replicación, en el cual los queratinocitos basales infectados no expresan partículas virales hasta ser completamente diferenciados en estratos superiores, donde la célula es descamada de manera natural, evitando de este modo una citólisis inducida por virus y la consecuente secreción de citocinas inflamatorias que activen a las células inmunitarias circulantes (Stanley, 2012; Stanley, 2006). A pesar que se ha sugerido que las LB-VPH múltiples son más frecuentes en individuos con tiempo de uso de TARc prolongado y con categorías clínicas avanzadas

(Syrjänen 2018; Camacho-Aguilar y cols. 2018; Ottria y cols., 2018; Rosales-Terrazas y cols. 2014; Anaya-Saavedra y cols., 2013; Feller y cols., 2011), en nuestro estudio no identificamos asociación entre esta variable y las características clínicas.

En relación al carácter recidivante de estas lesiones, el 15% de las LB-VPH analizadas mostraron recidiva, particularmente la HEMF, en concordancia con reportes previos (Esquivel y cols., 2015; Said y cols., 2013; Baccaglioni y cols., 2007). Cuatro de los cinco casos con localización conocida recurrieron en el sitio de la biopsia, al igual que los casos reportados por Esquivel y cols. (2015). Este hallazgo pudiera explicarse por la permanencia de células epiteliales infectadas con VPH en el lecho quirúrgico, ya que realizar la escisión de la lesión no implica la eliminación de la infección intracelular en las células aledañas del huésped (Cháirez-Atienzo y cols., 2016; Kobayashi y cols., 2004). Además, si permanecen otras lesiones (en el caso de LB-VPH múltiples), la recidiva pudiera deberse a la autoinoculación de partículas virales en el lecho quirúrgico (Pezzi y cols., 2019). Por otro lado, múltiples estudios (Said y cols., 2013; Yaghoobi y cols., 2011; Fausch y cols., 2005) han reportado una asociación entre recidiva y conteos bajos de CD4 en PVVS.

El 22.5% de los sujetos estudiados presentaban candidosis bucal al momento de la toma de biopsia, hallazgo similar al de King y cols. (2002), quienes reportaron un 32% (18/56) de casos con sobreinfección. La presencia de candidosis bucal se asocia con carga viral alta y bajos niveles de CD4 (Ottria y cols., 2018; Shiboski y cols., 2009; Baccaglioni y cols. 2007), razón por la que el porcentaje de individuos afectados con candidosis en este estudio fue bajo.

Las características histopatológicas observadas en los diferentes tipos de LB-VPH estudiadas concuerdan con lo descrito por otros autores (Betz, 2019; El-Naggar y cols., 2017; Syrjänen, 2003), en relación con el carácter benigno de estas entidades patológicas. Si bien en estudios previos (Muller y cols., 2015; Regezi y cols., 2002) se ha informado la presencia de displasia epitelial en las LB-VPH, en nuestro estudio solo un caso mostró ligero pleomorfismo celular y nuclear con hipercromatismo y procesos epiteliales gotosos. Estos hallazgos histopatológicos pudieran deberse al fenómeno inflamatorio inducido por la actividad viral (Regezi y cols, 2002), lo cual ha sido documentado a través del estudio de proteínas asociadas a invasión en las LB-VPH con displasia epitelial, como la tenascina-C, integrina $\beta 6$ y MMP1; éstas no se expresan de manera normal en la mucosa bucal, pero son altamente expresadas en el carcinoma bucal de células escamosas, y de forma interesante, se ha observado una expresión variable de las mismas en LB-VPH de PVVS, desde 14/22 con tenascina-C, 15/22 con $\beta 6$ y 11/22 con MMP1, pero con un promedio de intensidad de 1.1, 1.2 y 0.6 respectivamente, por lo que los autores concluyen que este tipo de lesiones poseen un escaso riesgo de progresión a carcinoma debido al bajo inmunomarcaje de las proteínas asociadas a invasión y sugieren estudios de seguimiento a largo plazo para probar lo contrario.

El bajo inmunomarcaje de CD1a en la mayoría de las LB-VPH estudiadas, traducido como conteos reducidos de células de Langerhans, es un hallazgo interesante de este estudio. Aunque no contamos con otros reportes sobre el inmunomarcaje de CD1a en LB-VPH de PVVS, existen reportes similares realizados en otras mucosas como la anal y la de cuello uterino (Cruz y cols., 2012; Yaghoobi y cols., 2011; Kobayashi y cols., 2004; Sobhani y cols., 2002; Sobhani y cols., 2001; Arany y Tyring, 1998). Al respecto, estudios realizados

en PVVS con condiloma anal (Yaghoobi y cols., 2011; Sobhani y cols. 2002, 2001) han encontrado números reducidos de CL y del mRNA de estas células en condilomas anales de PVVS, en comparación con poblaciones sin VIH. En relación a los casos de malignidad, un estudio previo (Cruz y cols., 2012) identificó una menor cantidad de CL en PVVS con carcinoma anal VPH+, en comparación con PVVS sin carcinoma anal (0.21 vs. 0.96 células respectivamente, $p=0.0219$), este hallazgo se repitió al comparar con individuos sin VIH (con y sin cáncer anal) (0.21 vs. 1.52 células respectivamente, $p=0.002$ y 0.21 vs. 1.38 células respectivamente, $p=0.002$); y en otro estudio realizado en mujeres que viven con VIH/SIDA (Kobayashi y cols., 2004), se mostraron conteos bajos de CL en aquellas con neoplasia intraepitelial cervical VPH+ en comparación con mujeres sin VIH y con la misma patología cervical (15 $\text{cél}/\text{mm}^2 \pm 15$ vs. 69 $\text{cél}/\text{mm}^2 \pm 40$ respectivamente).

Por otro lado, múltiples estudios han reportado que las PVVS presentan una menor cantidad de CL en diferentes mucosas, incluida la bucal, en comparación con individuos sin VIH/SIDA (Jivan y Meer, 2016; Nittayananta y cols., 2016; Gondak y cols., 2012; Levi y cols. 2005; Chou y cols., 2000; Charton-Bain y cols., 1999). Sin embargo, de acuerdo con Gondak y cols. (2012), quienes cuantificaron las células de Langerhans CD1a+, HLA-DR+ y CD83+ en PVVS con alguna infección bucal oportunista y sin infección (10 con candidiasis, 10 con herpes, 10 con leucoplasia vellosa y 10 sin lesión), el conteo de CL maduras e inmaduras no es diferente entre los sujetos con y sin patología oportunista ($p>0.922$ para CD1a; $p>0.512$ para HLA-DR; $p>0.997$ para CD83), lo que sugiere que el VIH induce la disminución de las CL a pesar de la presencia o ausencia de otra infección bucal.

La disminución de CL puede deberse al efecto citopático directo del VIH en las células de Langerhans, que poseen receptores CD4, así como a la actividad lítica de los linfocitos T CD8 sobre las CL que albergan antígenos del VIH y/o a la migración de las CL a los ganglios linfáticos (Jivan y Meer, 2016; Gondak y cols., 2012; Challacombe y Naglik, 2006; Chou y cols., 2000).

Considerando lo anteriormente expuesto, las LB-VPH pudieran ser una consecuencia de la reducida cantidad de CL a expensas del VIH, independientemente de la presencia del VPH. Adicionalmente, se ha reportado una correlación entre la detección de la proteína p17 del VIH y la disminución de las CL, lo que sugiere una vinculación directa entre estas células inmunitarias y la infección por VIH (Nittayananta y cols., 2016).

El hallazgo de conteos normales de CL en una baja proporción de los individuos estudiados pudiera deberse a la evasión inmune viral, que produce alteraciones en la función de las CL sin afectarlas en cantidad; a este respecto, se ha demostrado que la proteína Tat del VIH desregula la expresión de citocinas en las CL, como la IL-10, necesaria para la activación de los linfocitos T reguladores (Kobayashi y cols., 2004).

Por otro lado, independientemente del VIH/SIDA, la infección por VPH puede inducir reducción en el número de CL en múltiples mucosas, incluyendo la bucal (Cháirez-Atienzo y cols., 2016; Jiang y Xue, 2015; Santegoets y cols., 2008; Hayati y Zulkarnaen, 2007; Hubert y cols., 2005; Mathews y cols., 2003), debido a la acción directa de los mecanismos evasivos del VPH, particularmente los de alto riesgo, sobre la respuesta inmune hospedera. Iijima y cols. (2013), en un estudio experimental, transversal y comparativo realizado en

células cancerígenas con y sin VPH para evaluar su efecto en células mononucleares de sangre periférica, reportaron mediante citometría de flujo que el VPH-AR bloquea la diferenciación de los monocitos a células de Langerhans. En diferentes estudios previos realizados en mucosa de cuello uterino (Stanley, 2006; Hubert y cols., 2005; Matthews y cols., 2003) se observó que el VPH-AR reduce la expresión de los genes inductores de IFN- α y de E-cadherina en los queratinocitos infectados, evitando así la activación de las CL, con su subsecuente reducción.

En cuanto a la localización de las CL, la mayoría (70%) de las identificadas en los sujetos de estudio con inmunomarcaje bajo se encontraban basal y suprabasalmente, en contraste con aquellos con marcaje normal, que se distribuían por todo el espesor del epitelio. Resultados similares fueron reportados por Levi y cols. (2005), quienes observaron el marcaje de CL en zona basal y suprabasal de lesiones cervicales de bajo y alto grado VPH+ en mujeres con VIH/SIDA. Es bien reconocido que las CL se localizan de manera normal en el estrato inferior, y viajan a estratos superficiales ante estímulos quimiotácticos de los queratinocitos infectados (Bashaw y cols., 2017). Considerando los mecanismos de evasión inmune del VIH y del VPH, se ha sugerido que las CL no recibieron dichos estímulos para llegar a los estratos superiores, que es donde los viriones son expulsados y reconocidos (Bashaw y cols., 2017; Stanley, 2012; Stanley, 2006; Fausch y cols., 2005; Kobayashi y cols., 2004; O'Brien y Saveria-Campo, 2002). Lo anterior explica el insuficiente reconocimiento de antígenos y la escasa respuesta inmune contra el virus tempranamente.

Si bien, al igual que Levi y cols. (2005), no se encontraron diferencias significativas entre el número de CL y las características clínicas de los individuos incluidos en este estudio y

curiosamente, estos autores también encontraron resultados contrarios a lo esperado respecto al conteo de CD4. Otros estudios reportan una asociación entre el conteo bajo de CL y la CV alta en lesiones benignas y potencialmente malignas de mucosa anal y de cuello uterino (Yaghoobi y cols., 2011; Levi y cols., 2005), y con niveles bajos de linfocitos T CD4 en condilomas anales (Arany y Tyring, 1998). El único hallazgo clínico con significancia estadística en el presente estudio fue el conteo de leucocitos totales, sin embargo no hay una explicación razonable para dichos resultados, ya que éstos también fueron contrarios a lo esperado; es probable que lo observado sea consecuencia del reducido tamaño de muestra.

Un hallazgo interesante es que el 83% de los casos de LB-VPH recidivantes tuvieron bajo marcaje de CD1a, en concordancia con lo informado previamente (Sobhani y cols., 2001), respecto a que el número reducido de CL pudiera ser un factor de riesgo para la recidiva de condilomas anales en PVVS, independientemente del papel de la inmunosupresión inducida por el VIH (Yaghoobi y cols., 2011; Stanley, 2006). La presencia de las CL es importante ya que son el vínculo entre la respuesta inmune innata y la adaptativa, es por ello que existe una alteración de la misma si las células están disminuidas y esto pudiera explicar la permanencia o recidiva de las lesiones asociadas al VPH.

Dado que la etiopatogenia de las LB-VPH en PVVS se modifica por acción del VIH, éstas pudieran deberse a la cantidad reducida de CL en esta población, y el uso de terapias inmunomoduladoras que actúen directamente en las CL, como el imiquimod, podría ayudar en el tratamiento de las LB-VPH en PVVS.

Limitaciones. Una de las principales limitaciones del presente estudio es la ausencia de un grupo control de individuos sin VIH/SIDA, que permita confirmar si la presencia de LB-VPH en esta población está relacionada con la disminución de las CL. Otras limitaciones son los datos incompletos sobre la recidiva y el tamaño de muestra relativamente pequeño, que podrían explicar el por qué no se observaron resultados con significancia estadística. Por último, es importante mencionar que este es el primer estudio en el país en aportar información acerca del papel de las células de Langerhans en las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA.

7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La tendencia de bajo inmunomarcaje de células de Langerhans (CD1a) observada en la mayoría de las LB-VPH en individuos con VIH/SIDA, pudiera confirmar que las características clínicas atípicas de estas lesiones en esta población se relacionan con la respuesta inmune local alterada.

El presente estudio contribuye al conocimiento de la patogénesis de las LB-VPH en sujetos con VIH/SIDA, lo cual será de utilidad para instaurar medidas terapéuticas basadas en evidencia que sean más efectivas.

Dentro de las perspectivas del presente estudio se contempla la incorporación de un grupo control de individuos sin VIH/SIDA, lo que pudiera permitir dilucidar si el bajo inmunomarcaje de las CL es debida a la acción del VPH o del VIH o de la interacción entre ambos virus.

8. REFERENCIAS

- Amornthatree K, Sriplung H, Mitarnun W, Nittayananta W (2011). Impacts of HIV infection and long-term use of antiretroviral therapy on the prevalence of oral human papilloma virus type 16. *J Oral Pathol Med*, 41, 309-14.
- Anaya-Saavedra G, Flores-Moreno B, García-Carrancá A, Irigoyen-Camacho E, Guido-Jiménez M, Ramírez-Amador V (2013). HPV oral lesions in HIV-infected patients: the impact of long-term HAART. *J Oral Pathol Med*, 42, 443-9.
- Arany I, Tyring SK (1998). Systemic immunosuppression by HIV infection influences HPV transcription and thus local immune responses in condyloma acuminatum. *Int J STD AIDS*, 9, 268-71.
- Baccaglini L, Atkinson JC, Patton LL, Glick M, Ficarra G, Peterson DE (2007). Management of oral lesions in HIV-positive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 103, S50.e1-S50.e23.
- Batavia AS, Secours R, Espinosa P, Juste MA, Severe P, Pape JW, *et al.* (2016). Diagnosis of HIV-associated oral lesions in relation to early versus delayed antiretroviral therapy: results from the CIPRA HT001 trial. *PLoS ONE*, 11, e0150656.
- Bashaw AA, Leggatt GR, Chandra J, Tuong ZK, Frazer IH (2017). Modulation of antigen presenting cell functions during chronic HPV infection. *Papillomavirus Res*, 4, 58-65.
- Betz SJ (2019). HPV-Related Papillary Lesions of the Oral Mucosa: A Review. *Head Neck Pathol*, 13, 80-90.
- Bologna-Molina R, Damián-Matsumura P, Molina-Frechero N (2011). An easy cell counting method for immunohistochemistry that does not use an image analysis program. *Histopathology*, 59, 801-3.
- Camacho-Aguilar S, Ramírez-Amador V, Rosendo-Chalma P, Guido-Jiménez M, García-Carrancá A, Anaya-Saavedra G (2018). Human papillomavirus load in benign HPV-associated oral lesions from HIV/AIDS individuals. *Oral Dis*, 24, 210-4.
- Cameron JE, Mercante D, O'Brien M, Gaffga AM, Leigh JE, Fidel PL Jr, Hagensee ME (2005). The impact of highly active antiretroviral therapy and immunodeficiency on human papillomavirus infection of the oral cavity of human immunodeficiency virus-seropositive adults. *Sex Transm Dis*, 32, 703-9.
- Cameron JE, Hagensee ME (2008). Oral HPV complications in HIV infected patients. *Curr HIV/AIDS Rep*, 5, 126-31.
- Centro Nacional para la Prevención y Control del VIH/SIDA (2019). *Vigilancia epidemiológica de casos de VIH/SIDA en México Registro Nacional de Casos de SIDA Actualización al Cierre de 2019*. Recuperado de <https://www.gob.mx/censida/documentos/epidemiologia-registro-nacional-de-casos-de-sida>
- Cháirez-Atienzo P, Vega-Memije ME, García-Vázquez FJ, Cuevas-González JC (2016). Expresión de E-cadherina y células de Langerhans en verruga vulgar y papiloma bucal. *Revista ADM*, 73, 291-6.
- Challacombe SJ, Naglik JR (2006). The effects of HIV infection on oral mucosal immunity. *Adv Dent Res*, 19, 29-35.
- Chancellor A, Gadola SD, Mansour S (2018). The versatility of the CD1 lipid antigen presentation pathway. *Immunology*, 154, 196-203.

- Charton-Bain MC, Terris B, Dauge MCH, Marche C, Walker F, Bouchaud O, *et al.* (1999). Reduced number of Langerhans cells in esophageal mucosa from AIDS patients. *Histopathology*, 34, 399–404.
- Chou LL, Epstein J, Cassol SA, West DM, He W, Firth JD (2000). Oral mucosal Langerhans' cells as target, effector and vector in HIV infection. *J Oral Pathol Med*, 29, 394–402.
- Cruz SH, Nadal SR, Nadal CR, Calore EE (2012). Evaluation of Langerhans cells counts comparing HIV-positive and negative anal squamous cell-carcinoma patients. *Acta Cir Bras*, 27, 720-6.
- Cunningham AL, Harman A, Nasr N (2013). Initial HIV mucosal infection and dendritic cells. *EMBO Mol Med*, 5, 658–60.
- Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S (2015). HIV infection. *Nat Rev Dis Primers*, 1;1:15035.
- Delgado R (2011). Características virológicas del VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29, 58–65.
- El Howati A, Tappuni A (2018). Systematic review of the changing pattern of the oral manifestations of HIV. *J Invest Clin Dent*, e12351.
- El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ (2017). *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. Lyon, Francia: IARC.
- Engelman A, Cherepanov P (2012). The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. *Nat Rev Microbiol*, 10, 279–90.
- Esquivel-Pedraza L, Fernández-Cuevas L, Saeb-Lima M, Guerrero-Ramos BA, Hernández-Salazar A, Méndez-Flores S (2015). Recalcitrant oral squamous cell papilloma lesions in two HIV-infected patients successfully treated with topical imiquimod. *J Dermatol Case Rep*, 9, 19-22.
- Fausch SC, Fahey LM, Da Silva DM, Kast WM (2005). Human papillomavirus can escape immune recognition through Langerhans cell phosphoinositide 3-Kinase activation. *J Immunol*, 174, 7172-8.
- Feller L, Khammissa RA, Wood NH, Marnewick JC, Meyerov R, Lemmer J (2011). HPV-associated oral warts. *SADJ*, 66, 82-5.
- Galanakis A, Palaia G, Tenore G, Del Vecchio A, Romeo U (2014). Focal epithelial hyperplasia in a human immuno-deficiency virus patient treated with laser surgery. *World J Clin Cases*, 2, 293-6.
- García-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, Yamamoto-Furusho JK, Rodríguez-Carreón AA, Ruiz-Morales JA, *et al.* (2004). Association of HLA-DR4 (DRB1*0404) with human papillomavirus infection in patients with focal epithelia hyperplasia. *Arch dermatol*, 140, 1227-31.
- Gondak RO, Alves DB, Silva LF, Mauad T, Vargas PA (2012). Depletion of Langerhans cells in the tongue from patients with advanced stage acquired immune deficiency syndrome: relation to opportunistic infections. *Histopathology*, 60, 497-503.
- Hayati AR, Zulkarnaen M (2007). An immunohistochemical study of CD1a and CD83-positive infiltrating dendritic cell density in cervical neoplasia. *Int J Gynecol Pathol*, 26.
- Hober D, Ajram L, Chehadeh W, Lazrek M, Goffard A, Dewilde A, Wattré P (2005). Mécanismes de l'activité antivirale indirecte de l'imiquimod. *Ann Biol Clin*, 63, 155-63.
- Hubert P, Caberg JH, Gilles C, Bousarghin L, Franzen-Detrooz E, Boniver J, Delvenne P (2005). E-cadherin-dependent adhesion of dendritic and Langerhans cells to

- keratinocytes is defective in cervical human papillomavirus-associated (pre)neoplastic lesions. *J Pathol*, 206, 346-55.
- Iijima N, Goodwin EC, Dimaio D, Iwasaki A (2013). High-risk human papillomavirus E6 inhibits monocyte differentiation to Langerhans cells. *Virology*, 444, 257-62.
 - Iwasaki A (2007). Mucosal dendritic cells. *Annu Rev Immunol*, 25, 381-418.
 - Jiang B, Xue M (2015). Correlation of E6 and E7 levels in high-risk HPV16 type cervical lesions with CCL20 and Langerhans cells. *Genet Mol Res*, 14, 10473-81.
 - Jivan V, Meer S (2016). Quantification of oral palatine Langerhans cells in HIV/AIDS associated Kaposi sarcoma with and without candidiasis. *J Can Res Ther*, 12, 705-11.
 - King MD, Reznik DA, O'Daniels CM, Larsen NM, Osterholt D, Blumberg HM (2002). Human papillomavirus-associated oral warts among human immunodeficiency virus-seropositive patients in the era of highly active antiretroviral therapy: an emerging infection. *Clin Infect Dis*, 34, 641-8.
 - Kobayashi A, Greenblatt RM, Anastot K, Minkoff H, Massad LS, Young M, *et al.* (2004). Functional attributes of mucosal immunity in cervical intraepithelial neoplasia and effects of HIV infection. *Cancer Res*, 64, 6766-74.
 - Ledesma-Montes C, Vega-Memije E, Garcés-Ortíz M, Cardiel- Nieves M, Juárez-Luna C (2005). Multifocal epithelial hyperplasia. Report of nine cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 10, 394-401.
 - Levi G, Feldman J, Holman S, Salarieh A, Strickler HD, Alter S, *et al.* (2005). Relationship between HIV viral load and Langerhans cells of the cervical epithelium. *J Obstet Gynaecol Res*, 31, 178-84.
 - Li JC, Yim HC, Lau ASY (2010). Role of HIV-1 Tat in AIDS pathogenesis: its effects on cytokine dysregulation and contributions to the pathogenesis of opportunistic infection. *AIDS*, 24, 1609-23.
 - Lourenço AG, Motta AC, de Figueiredo LT, Machado AA, Komesu MC (2011). Oral lesions associated with HIV infection before and during the antiretroviral therapy era in Ribeirao Preto, Brazil. *J Oral Sci*, 53, 379-85.
 - Maartens G, Celum C, Lewin SR (2014). HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet*, 384, 258–71.
 - Matthews K, Leong CM, Baxter L, Inglis E, Yun K, Bäckström BT, *et al.* (2003). Depletion of Langerhans cells in human papillomavirus type 16-infected skin is associated with E6-mediated down regulation of E-Cadherin. *J Virol*, 77, 8378-85.
 - Méndez-Flores S, Esquivel-Pedraza L, Hernández-Salazar A, Charli-Joseph Y, Saeb-Lima M (2016). Focal epithelial hyperplasia in adult patients with HIV infection: clearance with topical imiquimod. *Skinmed*, 14, 395-7.
 - Moerman M, Danielides VG, Nousia CS, Van Wanseele F, Forsyth R, Vermeersch H (2001). Recurrent focal epithelial hyperplasia due to HPV13 in an HIV-positive patient. *Dermatology*, 203, 339–41.
 - Moir S, Chun TW, Fauci AS (2011). Pathogenic mechanisms of HIV disease. *Annu Rev Pathol*, 6, 223-48.
 - Muller K, Kazimiroff J, Fatahzadeh M, Smith RV, Wiltz M, Polanco J, *et al.* (2015). Oral human papillomavirus infection and oral lesions in HIV-positive and HIV-negative dental patients. *J Infect Dis*, 212, 760-8.
 - Muñoz-Santos C, Pigem R, Alsina M (2013). Nuevos tratamientos en la infección por virus del papiloma humano. *Actas Dermosifiliogr*, 104, 883-9.

- Niedergang F, Didierlaurent A, Kraehenbuhl JP, Sirard JC (2004). Dendritic cells: the host Achille's heel for mucosal pathogens? *Trends Microbiol*, 12, 79-88.
- Nittayananta W, Tao R, Jiang L, Peng Y, Huang Y (2016). Oral innate immunity in HIV infection in HAART era. *J Oral Pathol Med*, 45, 3-8.
- O'Brien PM, Saveria-Campo M (2002). Evasion of host immunity directed by papillomavirus-encoded proteins. *Virus Res*, 88, 103-17.
- Ottria L, Lauritano D, Oberti L, Candotto V, Cura F, Tagliabue A, Tettamanti L (2018). Prevalence of HIV-related oral manifestations and their association with HAART and CD4+ T cell count: a review. *J Biol Regul Homeost Agents*, 32, 51-9.
- Palefsky J (2006). Biology of HPV in HIV Infection. *Adv Dent Res*, 19, 99-105.
- Patton LL, Ramírez-Amador V, Anaya-Saavedra G, Nittayananta W, Carrozzo M, Ranganathan K (2013). Urban legends series: oral manifestations of HIV infection. *Oral Diseases*, 19, 533-50.
- Pérez AD, del Pino GT, López ML (2010). Hiperplasia epitelial multifocal: actualidades y tratamiento. *Revista Mexicana de Cirugía Bucal y Maxilofacial*, 6, 111-5.
- Pérez R, Gibson S, Lopez P, Koenig E, De Castro M, Yamamura Y (2011). Distribution of HIV-1 infection in different T lymphocyte subsets: antiretroviral therapy-naive vs. experienced patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 27, 399-410.
- Pezzi ME, Passerini P, Frontera M, Vescovi P, Meleti M (2019). Recurrent p16-positive human papillomavirus (HPV) associated oral lesions treated with a diode laser: a case report. *J Dent Indones*, 26, 109-13.
- Pinto-Cardoso S, Klatt NR, Reyes-Terán G (2017). Impact of antiretroviral drugs on the microbiome: unknown answers to important questions. *Curr Opin HIV AIDS*, 12, 1-7.
- Ponte P, Serrão V, Fiadeiro T (2010). Focal epithelial hyperplasia (Heck's Disease) in two siblings: response to treatment with imiquimod 5% cream. *Eur J Dermatol*, 20, 248-9.
- Ramírez-Amador VA, Espinosa E, González-Ramírez I, Anaya-Saavedra G, Ormsby CE, Reyes-Terán G (2009). Identification of oral candidosis, hairy leukoplakia and recurrent oral ulcers as distinct cases of immune reconstitution inflammatory syndrome. *Int J STD AIDS*, 20, 259-61.
- Ranganathan K, Umadevi KMR (2019). Common oral opportunistic infections in human immunodeficiency virus infection/acquired immunodeficiency syndrome: Changing epidemiology; diagnostic criteria and methods; management protocols. *Periodontol 2000*, 80, 177-88.
- Rautava J, Syrjänen S (2011). Human papillomavirus infections in the oral mucosa. *JADA*, 142, 905-14.
- Rautava J, Syrjänen S (2012). Biology of human papillomavirus infections in head and neck carcinogenesis. *Head and Neck Pathol*, 6, S3-S15.
- Regezi JA, Dekker NP, Ramos DM, Li X, Macabeo-Ong M, Jordan RC (2002). Proliferation and invasion factors in HIV-associated dysplastic and nondysplastic oral warts and in oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical and RT-PCR evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94, 724-31.
- Renn CN, Sanchez DJ, Ochoa MT, Legaspi AJ, Oh CK, Liu PT, *et al.* (2006). TLR activation of Langerhans cell-like dendritic cells triggers an antiviral immune response. *J Immunol*, 177, 298-305.
- Rhodes JW, Tong O, Harman AN, Turville SG (2019). Human dendritic cell subsets, ontogeny, and impact on HIV infection. *Front. Immunol*, 10, 1088.

- Robledo-Sierra J, Mattsson U, Svedensten T, Jontell M (2013). The morbidity of oral mucosal lesions in an adult Swedish population. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 18, e766–72.
- Roden RBS, Stern PL (2018). Opportunities and challenges for human papillomavirus vaccination in cancer. *Nat Rev Cancer*, 18, 240-54.
- Rosales-Terrazas E, Ramírez-Amador V, García-Carrancá A, Guido-Jimenez M, Irigoyen-CAmacho E, Ortíz-Sánchez E, Anaya-Saavedra G (2014). P16ink4a immunoexpression profile in HPV-oral lesions from HIV-infected patients. *J AIDS Clin Res*, 6, 1-7.
- Saiag P, Bauhofer A, Bouscarat F, Aquilina C, Ortonne JP, Dupin N, Mougin C (2009). Imiquimod 5% cream for external genital or perianal warts in human immunodeficiency virus-positive patients treated with highly active antiretroviral therapy: an open-label, noncomparative study. *Br J Dermatol*, 161, 904-9.
- Said AK, Leao JC, Fedele S, Porter SR (2013). Focal epithelial hyperplasia-an update. *J Oral Pathol Med*, 42, 435-42.
- Santegoets LA, van Seters M, Heijmans-Antonissen C, Kleinjan A, van Beurden M, Ewing PC, *et al.* (2008). Reduced local immunity in HPV-related VIN: Expression of chemokines and involvement of immunocompetent cells. *Int J Cancer*, 123, 616-22.
- Schneider E, Whitmore S, Glynn KM, Dominguez K, Mitsch A, McKenna MT, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2008). Revised surveillance case definitions for HIV infection among adults, adolescents, and children aged <18 months and for HIV infection and AIDS among children aged 18 months to <13 years--United States, 2008. *MMWR Recomm Rep*, 57, 1-12.
- Shiboski CH, Patton LL, Webster-Cyriaque JY, Greenspan D, Traboulsi RS, Ghannoum M, *et al.* (2009). The Oral HIV/AIDS Research Alliance: updated case definitions of oral disease endpoints. *J Oral Pathol Med*, 38, 481-8.
- Sobhani I, Vuagnat A, Walker F, Vissuzaine C, Mirin B, Hervatin F, *et al.* (2001). Prevalence of high-grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papillomavirus-infected individuals. *Gastroenterology*, 120, 857-66.
- Sobhani I, Walker F, Aparicio T, Abramowitz L, Henin D, Cremieux AC, Soule JC (2002). Effect of anal epidermoid cancer-related viruses on the dendritic (Langerhans') cells of the human anal mucosa. *Clin Cancer Res*, 8, 2862-9.
- Speicher DJ, Ramirez-Amador V, Dittmer DP, Webster-Cyriaque J, Goodman MT, Moscicki A (2016). Viral infections associated with oral cancers and diseases in the context of HIV: Workshop 3B. *Oral Dis*, 22, 181-92.
- Stanley MA (2006). Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*, 30, S16-22.
- Stanley MA (2012). Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin Microbiol Rev*, 25, 215-22.
- Syrjänen S (2003). Human papillomavirus infections and oral tumors. *Med Microbiol Immunol*, 192, 123-8.
- Syrjänen S (2011). Human papillomavirus infection and its association with HIV. *Adv Dent Res*, 23, 84-9.
- Syrjänen S (2018). Oral manifestations of human papillomavirus infections. *Eur J Oral Sci*, 126, 49–66.
- The Joint United Nations Programme on HIV and AIDS (2019). *UNAIDS Data 2019*. Recuperado de <http://rstes.unaids.org/publications/global-publications/item/208-unaids-data-2019>.

- Thompson MA, Aberg JA, Cahn P, Montaner JS, Rizzardini G, Telenti A, *et al.* (2010). Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2010 recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA*, 304, 321-33.
- Uhlen M, Lindskog C, Lundberg E, Ponten F, Mulder J, Nielsen J, *et al.* (2019). *The Human Protein Atlas*. Recuperado de <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000158477-CD1A/tissue>.
- Upadhyay J, Upadhyay RB, Agrawal P, Jaitley S, Shekhar R (2013). Langerhans cells and their role in oral mucosal diseases. *North Am J Med Sci*, 5, 505-14.
- Yaghoobi M, Le Gouvello S, Aloulou N, Duprez-Dutreuil C, Walker F, Sobhani I (2011). FoxP3 overexpression and CD1a+ and CD3+ depletion in anal tissue as possible mechanisms for increased risk of human papillomavirus-related anal carcinoma in HIV infection. *Colorectal Dis*, 13, 768-73.
- Yasar S, Mansur AT, Serdar ZA, Goktay F, Aslan C (2009). Treatment of focal epithelial hyperplasia with topical imiquimod: Report of three cases. *Pediatr Dermatol*, 26, 465–8.
- Zhou Q, Zhu K, Cheng H (2013). Toll-like receptors in human papillomavirus infection. *Arch Immunol Ther Exp*, 61, 203-15.

8. ANEXOS

ANEXO 1. CATEGORÍAS CLÍNICAS EN LA INFECCIÓN POR VIH/SIDA

Categoría A	Una o más de las siguientes condiciones: Infección asintomática Infección aguda Linfadenopatía generalizada persistente
Categoría B	Condiciones sintomáticas que no se incluyan en la categoría C como: Angiomatosis bacilar Candidiasis orofaríngea Candidiasis vulvovaginal; persistente, frecuente, o con poca respuesta a tratamiento Displasia cervical o carcinoma in situ cervical Síntomas constitucionales: fiebre (38.5 C) o diarrea >1 mes de duración Leucoplasia vellosa Herpes zoster, al menos dos episodios distintos Púrpura trombocitopénica idiopática Listeriosis Enfermedad inflamatoria pélvica Neuropatía periférica
Categoría C	Candidiasis esofágica y/o de bronquios, tráquea o pulmones Cáncer cervical invasivo Coccidioidomicosis diseminada o extrapulmonar Criptococosis extrapulmonar Criptosporidiosis crónica intestinal >1 mes Enfermedad por citomegalovirus (no hígado, bazo o nódulos) Retinitis por citomegalovirus (con pérdida de la visión) Encefalopatía Herpes simple, úlceras crónicas > 1mes Histoplasmosis diseminada o extrapulmonar Isosporiasis crónica intestinal >1 mes Sarcoma de Kaposi Linfoma de Burkitt, inmunoblástico y/o primario del cerebro Infección por <i>Micobacterium avium</i> , <i>M. kansasii</i> , y/o <i>M. tuberculosis</i> Neumonía por <i>Pneumocystis carinii</i> Neumonía recurrente Leucoencefalopatía multifocal progresiva Septicemia por <i>Salmonella</i> Toxoplasmosis cerebral Síndrome de desgaste

ANEXO 2. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-MAESTRÍA EN PATOLOGÍA Y MEDICINA BUCAL
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EL PROYECTO:



“INMUNOEXPRESIÓN DE CD1A EN LESIONES BUCALES ASOCIADAS AL VPH EN INDIVIDUOS CON VIH/SIDA”

FICHA IDENTIFICACIÓN

ID: _____ Nombre: _____ Exp: _____ Sexo: _____ Edad: _____ Fecha Nac: _____
Lugar Nac: _____ Residencia: _____ Ocupación: _____ Escolaridad: _____

ANTECEDENTES

Fecha Dx VIH: _____ Signos y sx iniciales: _____ CD4 Nad: _____ Fecha: _____ CDC: _____
Inicio TARc: _____ Esquema en basal: _____ inicio: _____ Ant MB-VIH y localización: _____
Ant Tx MB-VIH: _____ Tabaco: no () si () ex () Cig/día: _____ Edad inicio: _____ Edad interrup: _____ Duración: _____
Suspensiones: _____ Duración de int: _____ Cig/año: _____ Paq/año: _____ Alcohol: no () si () ex () UB/semana: _____
UB/mes: _____ Edad inicio: _____ Edad interrup: _____ Duración: _____ Suspensiones: _____ Duración de int: _____
UB/año: _____ Otras Toxicomanías: no () si () ex () Sustancia(s) y frecuencia: _____
Edad inicio: _____ Edad interrup: _____ Duración: _____ Suspensiones: _____ Duración de int: _____

DATOS CLÍNICOS

Fecha cita biopsia: _____ TARc: _____ Inicio: _____ Otros padecim actuales: _____
Medicam actuales: _____ Ant Antivirales: no () si () Fecha susp: _____
L-VPH: no () CA () anal () genital () Leuco tot: _____ Linf tot: _____ Pla: _____ Erit: _____ Hemog: _____ Albúm: _____ Gluc: _____
VDRL: _____ Fecha: _____ CD4: _____ Fecha: _____ CV: _____ Fecha: _____
LB-VPH: Única () Múltiple () Dx clínico y localización: PE () HEMF () VV () CA ()
Color: _____ Base: _____ Superficie: _____ Tamaño: _____ Sintomatología: _____ Sitio de biopsia: _____
Tiempo de evolución: días () meses () años () Otras MB-VIH y localización: _____ Tx MB-VIH: _____
Ant Tx LB-VPH: _____ Fecha inicio: _____ Susp: _____ Tx indicado: _____
Seguimiento. Resolución: no () parcial () si () fecha: _____ Recurrencia LB-VPH: no () si () fecha: _____
TARc: _____ CD4: _____ CV: _____ Dx clínico: PE () HEMF () VV () CA () Localización: _____
Tx LB-VPH: no () si () Fecha: _____ Resolución: no () parcial () si () fecha: _____

DATOS HISTOPATOLÓGICOS

Dx histopatológico: PE () HEMF () VV () CA () Fecha: _____ #Bloque: _____
Epitelio. Proyecciones: no () digitiformes () filiformes () papilomas () Superficie: plana () papilomatosa () irregular ()
Queratina: no () para () orto () hiperpara () hiperorto () criptas llenas de queratina () Estrato granular prominente: no () si ()
Procesos epiteliales: elongados () amplios () anastomosados () Hiperplasia basal: no () si ()
Figuras mitosoides: no () pocas () abundantes () Coilocitos: no () pocos () abundantes ()
Tejido conectivo. normal () hiperplásico ()
Infiltrado inflamatorio: no () leve () moderado () abundante () / mixto () agudo () crónico ()
Vasos sanguíneos: normales () dilatados ()

DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

Inmunoexpresión CD1a

No. de células: campo 1 () campo 2 () campo 3 () campo 4 () Total de células: ()
No. de células CD1a positivas: campo 1 () campo 2 () campo 3 () campo 4 () Total de células CD1a+: ()
Porcentaje de células CD1a positivas ()
Localización de inmunomarcaje: () Intensidad de inmunomarcaje: ()

Observaciones: _____

CÓDIGOS FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Sexo: Fem¹ Masc²

Lugar Nac: CDMX¹ Edo Mex² Provincia³ Extranjero⁴

Residencia: CDMX¹ Edo Mex² Provincia³ Extranjero⁴

Escolaridad: Prim¹ Sec² Prepa³ Lic⁴ Maest⁵ Doc⁶

MB-VIH: No⁰ CanE¹ CanPs² QA³ LV⁴ HS⁵ PE⁶ CA⁷ VV⁸ HEMF⁹ SIF¹⁰ GUN¹¹ PUN¹² EAR¹³ U-NOS¹⁴ SK¹⁵ LNH¹⁶ CCE¹⁷ LB-VPH¹⁸

Localización: Com lab izq¹ Com lab der² Muc lab sup³ Fren lab sup⁴ Muc lab inf⁵ Fren lab inf⁶ Muc yug izq⁷ Muc yug der⁸ Enc ves sup⁹ Enc palat¹⁰ Proceso alv sup¹¹ Pal duro¹² Pal blan¹³ Úvula¹⁴ Orofaringe¹⁵ Enc ves inf¹⁶ Enc lin¹⁷ Proceso alv inf¹⁸ Dor lin¹⁹ Bor lin izq²⁰ Bor lin der²¹ Fren lin²² Vien lin²³ Piso d boca²⁴ Labio sup²⁵ Labio inf²⁶

Tx MB-VIH: No⁰ Biopsia¹ Antimicótico² Antibiótico³ Antiviral⁴ Otro⁵

Tx LB-VPH: No⁰ Biopsia¹ Crioterapia² Laser³ Electrocoag⁴ IFNα⁵ Ácido retinoico⁶ Podofilina⁷ Imiquimod⁸ Otros⁹

UB: Cerveza y pulque (330 ml)¹ Vino (125 ml)² Tequila, ron, mezcal, brandy (30 ml)³

Sustancias: Marihuana¹ Cocaína² Piedra³ LSD⁴ Heroína⁵ Poppers⁶ Metanfetaminas⁷ Otro⁸

TARc:

- No⁰
- **Combinaciones:** Kaletra (LPV/RTV)¹, Atripla (EFV/FTC/TDF)², Epzicom (3TC/ABC)³, Trizivir (AZT/3TC/ABC)⁴, Prezcoxib (DRV/COBI)⁵, Triumeq (ABC/DTG/3TC)⁶, Juluca (DTG/RPV)⁷, Epizcom/Atripla⁸, Truvada (FTC/TDF)⁹
- **ITRAN:** Zidovudina (AZT)¹¹ DDI¹² Lamivudina (3TC)¹³ D4T¹⁴ Abacavir (ABC)¹⁵ Emtricitabina (FTC)¹⁶ Tenofovir (TDF)¹⁷ Zalcitabina¹⁸
- **ITRNN:** Efavirenz (EFV)²¹ Etravirina²² Nevirapina²³ Rilpivirina²⁴
- **IP:** Indinavir³¹ Ritonavir³² Saquinavir³³ Nelfinavir³⁴ Tipranavir³⁵ Atazanavir (ATZ)³⁶ Darunavir³⁷ Fosamprenavir³⁸ Rescriptor (Delaverdine)³⁹ Amprenavir (Agenesarse)⁴⁰
- **IF:** Enfurtida (T20)⁴¹
- **IE:** Maraviroc⁵¹
- **II:** Dolutegravir (DTG)⁶¹ Elvitegravir (EVG)⁶² Raltegravir⁶³

VDRL: Negativo⁰ Positivo¹

Color: Rosa¹ Blanco² Rojo³ Otro⁴

Base: Sésil¹ Pediculada²

Superficie: Lisa¹ Papilomatosa² Filiforme³ Ulcerada⁴

Sintomatología: Ninguna⁰ Dolor¹ Ardor² Otra³

Localización de inmunomarcaje: Superficial¹ Suprabasal² Basal³ Todo el espesor⁴

Intensidad de inmunomarcaje: Nula⁰ Leve¹ Moderada² Intensa³

ANEXO 3. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE LAS LB-VPH

Hiperplasia epitelial multifocal	<ul style="list-style-type: none">-Leve hiperqueratosis-Acantosis prominente del epitelio escamoso estratificado-Coilocitos y figuras mitosoides en todo el espesor epitelial
Papiloma escamocelular	<ul style="list-style-type: none">-Proliferaciones digitiformes del epitelio escamoso estratificado-Puede o no presentar una capa de paraqueratina u ortoqueratina de espesor variable-Coilocitos infrecuentes-Base angosta soportada por tejido fibroconectivo con capilares dilatados
Verruga vulgar	<ul style="list-style-type: none">-Proliferaciones papilares del epitelio escamoso estratificado-Gruesa capa de ortoqueratina y capa granular prominente con cambios coilocíticos-Los procesos epiteliales elongados convergen hacia el centro
Condiloma acuminado	<ul style="list-style-type: none">-Proliferaciones papilares del epitelio escamoso estratificado, anchas y aplanadas en la superficie-Los procesos epiteliales son bulbosos, cortos y rectos-Los coilocitos son muy evidentes-Papilas de tejido fibroconectivo en una base amplia