



**Universidad Autónoma del Estado de México**

**Facultad de Odontología**

**Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología. (CIEAO)  
"Dr. Keisaburo Miyata"**

**TESIS  
INMUNOEXPRESIÓN DE CÉLULAS DE LANGERHANS EN HIPERPLASIA  
EPITELIAL MULTIFOCAL.**

**Que para obtener el grado de:  
MAESTRA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

**Presenta  
C.D. EMPB. Flores Solano Violeta Evelyn**

**Tutor académico:  
Dr. En Estoma. Pat. Víctor Hugo Toral Rizo**

**Tutor adjunto: M en C. Luis Edmundo Martínez Calixto**

**Tutora adjunta: Dra. En C.S. Edith Lara Carrillo**

**Toluca. Estado de México, junio 2022**



## ÍNDICE

Resumen.....	3
Introducción: .....	4
1. Antecedentes.....	5
1.1. Hiperplasia Epitelial Multifocal (HEMF).....	5
1.1.1. Distribución geográfica y étnica.....	5
1.1.2. Etiología.....	6
1.1.3. Características Clínicas.....	7
1.1.4. Características histopatológicas.....	9
1.1.5. Tratamiento .....	10
1.2. Virus del Papiloma Humano .....	11
1.2.1. Organización del genoma del VPH .....	12
1.2.2. Células dendríticas-Células de Langerhans.....	15
1.2.3. Respuesta inmune frente la infección por VPH. ....	16
1.2.3.1. Respuesta inmune adaptativa.....	17
1.2.4. Hiperplasia epitelial multifocal y Células de Langerhans .....	18
1.2.5. Inmunomarcador CD1a .....	19
1.2.6. inmunomarcador S-100.....	20
2. Planteamiento del problema.....	21
3. Pregunta de investigación .....	22
4. Justificación .....	23
5. Hipótesis.....	24
6. Objetivos generales.....	25
6.1. Objetivos específicos.....	25
7. Materiales y Métodos.....	26
7.1. Diseño del estudio .....	26
7.2. Población y universo .....	26
7.3. Universo.....	26
7.3.1. Muestreo.....	26
7.3.2. Criterios de inclusión.....	26
7.3.3. Criterios de exclusión.....	27
7.3.4. Criterios de eliminación .....	27

7.4. Variables.....	27
8. Procedimiento clínico.....	28
8.1. Estandarización de examinadores.....	28
8.1.1. Criterios histológicos.....	28
8.2. Procedimientos de laboratorio.....	29
8.2.1. Procedimientos microscópicos.....	30
8.2.2. Conteo de la expresión celular CD1a y S100.....	30
8.3. Consideraciones Bioéticas.....	31
8.3.1. Aspectos éticos.....	31
8.4. Análisis estadístico.....	32
9. Resultados.....	33
10. Discusión.....	35
11. Conclusiones.....	38
12. Referencias Bibliográficas.....	39
13. Anexos.....	43
14. Acuse de recibido para publicación.....	45

## ABREVIATURAS

HEMF	Hiperplasia epitelial multifocal
VPH	Virus de papiloma humano
CDs	Células dendríticas
CL	Células de Langerhans
CD1a	Differentiation cluster 1 <sup>a</sup>
S100	Proteína extracelular
IMQ	Inmunohistoquímica
UAEMex	Universidad Autónoma del Estado de México
ADN	Ácido desoxiribonucleico
WHO	World Health Organization
HLA	Antígenos leucocitarios; Human Leukocyte Antigen
CMH	Complejo mayor de Histocompatibilidad (MCH)
LTCD4	Linfocito T helper
LTCD8	Linfocito T citotóxico
CPA	Célula presentadora de antígeno
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida
DRB1	Genes MHC-II
SEDENA	Secretaría de la Defensa Nacional

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Características clínicas de HEMF (paciente infantil).....	7
Figura 2 Características clínicas de HEMF (múltiple) .....	8
Figura 3 Características clínicas de HEMF (en lengua) .....	8
Figura 4 Características clínicas de HEMF (paciente adulto) .....	8
Figura 5 Características Histológicas de HEMF .....	9
Figura 6 Mapa genético del VPH .....	12
Figura 7 Genoma del VPH.....	15
Figura 8 Esquema de evasión de la respuesta inmune.....	18

## Resumen

Las células dendríticas (CDs) células de Langerhans (CL) son las responsables de la respuesta inmunitaria adaptativa en el epitelio. La Hiperplasia epitelial multifocal (HEMF) es una enfermedad relacionada con el virus de papiloma humano de bajo riesgo, genotipo 13 y 32<sup>1-12</sup>; es un virus epiteliotrópico, que tiene afinidad por la mucosa bucal. De acuerdo con la literatura las CL se bloquean y pasan inadvertidas ante la infección viral por VPH. por tal motivo, el propósito de este estudio es establecer el porcentaje de células maduras e inmaduras en relación con el total de células positivas a través de inmunohistoquímica en muestras tisulares con HEMF<sup>13-16</sup>

**Método.** Estudio transversal, retrolectivo y descriptivo. en el que se seleccionaron bloques de parafina con diagnóstico de HEMF, correspondientes al periodo de 2006 al 2019 provenientes de dos laboratorios de Histopatología. Se obtuvieron datos demográficos y clínicos, se realizó tinción de inmunohistoquímica con S-100 y CD1a, se tomaron fotomicrofotografías y se cuantificaron las células con el método software *ImageJ*. Se estimaron los porcentajes de las células positivas y se generaron medidas de resumen (medias y medianas) y medidas de dispersión (desviación estándar y cuartiles) Para comparar los porcentajes de la expresión de los marcadores en el conteo celular de los dos grupos, se realizará un análisis de varianza a través de la prueba Anova unifactorial. El nivel de significancia estadística será de 0.05.

**Conclusiones.** Las células de Langerhans probablemente estén inactivas ante la infección por VPH-13,32, Los estudios adicionales en una población más grande pueden proporcionar un conocimiento más profundo en este tema relevante.

## **Introducción:**

La Hiperplasia epitelial multifocal (HEMF) es una enfermedad benigna, producida por el virus de papiloma humano (VPH) genotipo 13, 32.

Su patogenia no está bien definida, existen factores de riesgo que condicionan su aparición, sin embargo, se considera una enfermedad de carácter autosómica recesiva, porque se ha descrito en más de un integrante de la familia, y a su vez se ha estudiado la relación que tiene con genes susceptibles; de acuerdo a la literatura cuando el VPH tiene contacto con las células dendríticas, este utiliza sus proteínas de replicación para bloquear a las células dendríticas y que esta no realice su función, ante la infección viral.

Las células dendríticas son las responsables de la respuesta inmunitaria adaptativa, son la primera línea de defensa inmunitaria puesto que su función es la de realizar: captación, procesamiento y presentación de antígenos, de ahí que se les denomina células presentadoras de antígeno. (CPA). Cuando los VPH penetran en las células del epitelio de piel y mucosas, este escapa de las células dendríticas y estas no reconocen al virus. CD1a, este es un receptor lipídico que nos indica si las células están presentes en el epitelio de lesiones con hiperplasia epitelial multifocal, El segundo marcador seleccionado en este estudio es S-100, receptor de antígenos peptídicos, este nos permitirá saber, si las células están activas ya que, si su expresión es positiva, indicara que las células están llevando a cabo una respuesta inmune activa. Por tal el motivo el objetivo de esta investigación es establecer el porcentaje de células maduras e inmaduras en relación con el total de células positivas a través de inmunohistoquímica en muestras tisulares de la mucosa bucal con Hiperplasia Epitelial Multifocal. Identificar la expresión de estos inunomarcadores ayudará a ampliar el conocimiento de proceso de salud enfermedad de dicha entidad.

## **1. Antecedentes**

### **1.1. Hiperplasia Epitelial Multifocal (HEMF)**

La Hiperplasia Epitelial Multifocal (HEMF) conocida también como hiperplasia epitelial focal, ó enfermedad de Heck, es una enfermedad que se caracteriza por la proliferación del epitelio plano estratificado, es una enfermedad benigna, exclusiva de la mucosa bucal, causada por virus de papiloma humano, genotipo 13, 32. (VPH).<sup>1,2,3,4,5,6</sup>

#### **1.1.1. Distribución geográfica y étnica**

De acuerdo con lo reportado en la literatura esta entidad se ha descrito en poblaciones indígenas en todo el mundo, desde 1881 a 1894 fue descrita en esquimales en Groenlandia, y en poblaciones de centro y Sudamérica. En 1964, Soneira y Fonseca la describieron por primera vez en niños indígenas venezolanos. Sin embargo, el reconocimiento internacional de esta patología se hizo en el año, de 1965, cuando Archard, Heck y Stanley reportaron 15 casos de indios norteamericanos, acuñándose el término de Enfermedad de Heck.<sup>3</sup> El término Hiperplasia epitelial multifocal fue propuesto por Sedano y Carlo en 1995, debido a su presentación clínica múltiple.<sup>1,2,3,4</sup> La HEMF se ha descrito en esquimales de Groenlandia, Norte de Canadá, población mestiza del centro y Sudamérica, países como Guatemala, Colombia (13%), Venezuela y Brasil, entre otros.<sup>5,6,7,8,9</sup> En México las etnias como los náhuatl muestran hasta un 32% de incidencia y comunidades como los mazahuas hasta un 7.1 %. Estados como Tabasco, Chiapas, Querétaro, Puebla y Estado de México, alcanzan el mayor porcentaje de incidencia con el resto de los estados de la república mexicana. En el resto del mundo Kloch Bendtsen y cols (2021)<sup>1</sup> informan que el numero de casos notificados ha ido en aumento en los últimos 20 años en caucásicos, aunque el número es bajo (20 casos, 0.11%) este va en incremento, al igual que es Estados Unidos, afroamericanos, árabes, indios, sudafricanos y argentinos.<sup>1,4,9,10</sup> esto muy probablemente por la migración de las personas<sup>1</sup>.

### 1.1.2. Etiología

Los virus de papiloma humano (VPH) genotipo 13 y 32, del género alfa están implicados en el origen de la enfermedad, son exclusivos de HEMF, estos genotipos no son oncogénicos es decir no tienen transformación maligna y se les denomina de bajo riesgo. Otros genotipos hallados en esta enfermedad han sido:1,6,11,16,18 y 55, todos de bajo riesgo. En adultos mayores principalmente se asocia al genotipo 32. Así mismo su incidencia ha aumentado en pacientes con infección por VIH/SIDA y se han reportado casos aislados en pacientes con transplantes<sup>1</sup>

La patogenia de la HEMF no está bien definida, existen factores de riesgo que condicionan su aparición, como pobreza, hacinamiento, inmunosupresión, hábitos higiénico dietéticos deficientes y deficiencias nutricionales, no obstante, se ha considerado como una enfermedad de carácter autosómica recesiva, porque se ha descrito en más de un integrante de la familia, y también se sabe que la saliva<sup>1</sup>, juega un papel importante en su transmisión ya que se ha encontrado VPH-13 en individuos infectados, adicionalmente se ha estudiado la relación que tiene con genes susceptibles y se ha establecido que existen individuos con ciertos antígenos leucocitarios humanos, HLA -DRB1 \* alelo 0404 que son mayormente susceptibles de padecer la enfermedad,<sup>1,3,4,11</sup>, de ahí su origen étnico y distribución geográfica. Cabe destacar que la infección por VPH es diversa e incluso puede ocurrir en el periodo perinatal y por vía horizontal de mucosa a mucosa, de piel a mucosas (autoinoculación), o piel a piel y por contacto sexual.<sup>4,5,6</sup>

### 1.1.3. Características Clínicas

La HEMF, se caracteriza clínicamente por lesiones papulares y nodulares de distintos tamaños de color similar a la mucosa, y levemente blanquecinos que miden aproximadamente de 1 a 10 mm de diámetro, presentan superficie lisa, aunque algunas veces pueden ser rugosas, son sésiles y en algunos casos pueden diagnosticarse erróneamente como papilomas, verrugas o condilomas. Suelen ser elevaciones redondeadas, ovales, de límites bien definidos, consistencia firme y suave, estas lesiones tienden a coalescer, son asintomáticas y en ocasiones la lesión se puede traumatizar.<sup>1</sup> El comportamiento a largo plazo de las lesiones es impredecible, ya que tienden a involucionar con la edad, se ha establecido en reportes de casos un mínimo de 15 meses, para la completa resolución<sup>2</sup> · son de crecimiento lento y no se ha observado transformación neoplásica maligna <sup>1-4</sup> Esta entidad es más prevalente en niños, hasta en un 40% y adolescentes con predominio por el sexo femenino en una proporción 5:1.<sup>1</sup> La localización topográfica clínica más común es la mucosa interna de labios inferior (figura 1), más que la superior y la mucosa bucal, más evidente sobre el plano oclusal, comisuras, bordes laterales de la lengua, el paladar duro y la encía son lugares menos frecuentes.<sup>1-12</sup> (figura 1,2,3)



A) Mucosa yugal y carrillos



B) Lesión múltiple en mucosa labial inferior

**Figura 1** Características clínicas de HEMF (paciente infantil)



(C)

(D)

. (C-D) presentación múltiple en mucosa yugal

**Figura 2** Características clínicas de HEMF (múltiple)



**E)** Lesión única en paciente adulto



**F)** Lesión múltiple en paciente adolescente

(fuente: Clínica Orocentro- UAEMex-FO)

**Figura 3** Características clínicas de HEMF (en lengua)

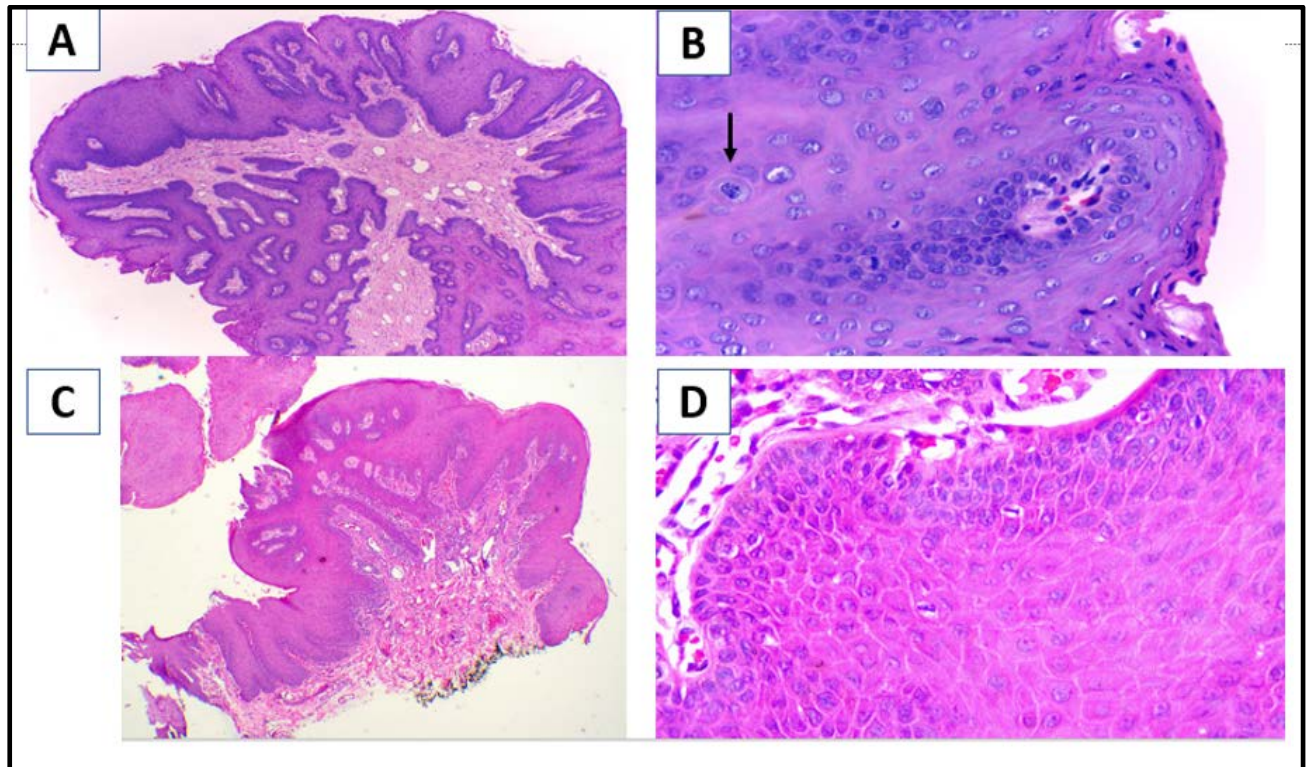


**Figura 4** Características clínicas de HEMF (paciente adulto)

Paciente adulto con lesiones múltiples (fuente: Clínica Orocentro- UAEMex-FO)

#### 1.1.4. Características histopatológicas

Histológicamente se presenta como una lesión de estirpe epitelial compuesta por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado, acantótico, con procesos epiteliales anchos y convergentes hacia el centro de la lesión, muchos de los cuales se fusionan entre sí. Se observan células vacuoladas (coilocitos) que se menciona que son células con daño citopático viral. Como característica particular, hay presencia de células con degeneración nuclear (cariorrexis) llamados cuerpos mitosoides. Aunque algunos estudios sugieren que puede tratarse de una verdadera mitosis, siendo altamente positiva al anticuerpo de proliferación celular Ki67.<sup>13,14,19</sup>



**Figura 5** Características Histológicas de HEMF

A) Acanthosis del epitelio y fusión de crestas epiteliales, B) presencia de figuras mitosoides, C) paraqueratosis D) coilocitos ocasionales.

Fuente: Orocentro-UAEMex-FO

### 1.1.5. Tratamiento

El tratamiento de HEMF no siempre será conveniente ya que las lesiones son asintomáticas, y regularmente en niños y adolescentes involucionan espontáneamente (en cuestión de meses a años), además de que el diagnóstico es clínico, sin embargo, las lesiones pueden ser un problema estético (por ejemplo, si están en la parte anterior de la encía o labios) y el paciente puede traumatizar las lesiones más exofíticas. Los tratamientos sugeridos de primera línea de HEMF son la eliminación de las lesiones por escisión quirúrgica selectiva (cirugía de bisturí), y se han reportado métodos como crioterapia, láser de CO<sub>2</sub>, electrocoagulación o electrodesecación, sustancias quelantes, Levamisol, resina de Podofilina y modificadores de la respuesta inmune como interferón tópico, e incluso complementos vitamínicos; Sin embargo, estos procedimientos se han descrito como reportes de caso y son escasos los estudios de seguimiento a largo plazo. Algunos de estos métodos son invasivos y costosos. La escisión quirúrgica es probable que sea el método más comúnmente empleado para tratar HEMF. El método atraumático, no quirúrgico más sugerido en los últimos años es el uso de *Imiquimod al 5%* y *ácido tricloroacético*, este ha demostrado ser una alternativa no quirúrgica útil, ya que las lesiones tienen una resolución en un lapso de 45 días con tres aplicaciones de 30 a 60 segundos.<sup>15</sup>

Se necesitan estudios de cohorte para ver los beneficios de los tratamientos en el tiempo.

## 1.2. Virus del Papiloma Humano

El virus del Papiloma Humano (VPH) es parte de la familia *Papovavirus*, también nombrada *Papilomaviridae*, el cual como ya se mencionó tiene afinidad por los epitelios, es un virus epiteliotrópico, es decir tiene afinidad por piel y mucosas y puede inducir el desarrollo de lesiones benignas y malignas en individuos inmunocompetentes.<sup>16,17, 18</sup>

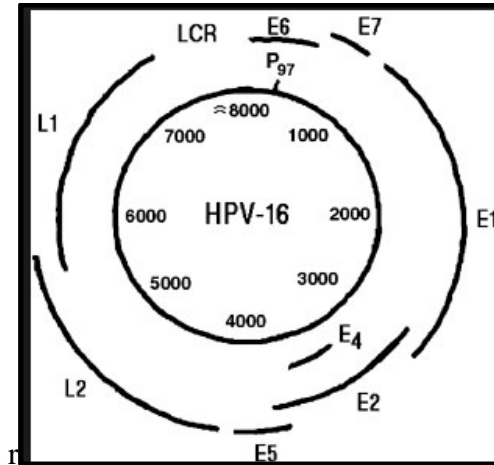
Hasta ahora se ha aislado y secuenciado el genoma aproximadamente de 120 tipos de VPH, no obstante, hay reportes donde se ha descrito la existencia de más de 300 tipos diferentes. La variedad de tipos de VPH se describe basándose en su secuencia genómica y se identifican con un número;<sup>17</sup> Si la secuencia genómica varía en más de un 10% se reconoce un nuevo tipo viral, si la variación es entre un 2% y 10% se define como subtipo, si la variación es menor a 2% se define como una variante <sup>16</sup>

Acorde con el potencial para desarrollar lesiones malignas, los tipos virales se clasifican en bajo y alto riesgo, sin olvidar que existen lesiones de “riesgo indeterminado” (VPH-Genotipo: 34, 57, 83) Los virus de bajo riesgo están asociadas con lesiones proliferativas, verrugosas y papilomatosas benignas, en tanto que los virus de alto riesgo presentan un riesgo incrementado de desarrollo de neoplasias malignas. <sup>16-22</sup>

Los papilomavirus comprenden un grupo de virus icosaédricos que se replican en el núcleo celular, sin envoltura y con un ADN circular de doble hélice formado por 8000 pares de bases (pb), de 50 nm, y contiene 72 capsómeros pentaméricos que rodean al ADN. <sup>17</sup>

### 1.2.1. Organización del genoma del VPH

La organización genética de todos los VPH presentan una estructura básica similar, en la cual se han identificado tres regiones principales: región temprana (E), región de expresión tardía (L) y región larga de control (LCR).<sup>17</sup>



**Figura 6** Mapa genético del VPH

Donde están presentando las distintas regiones del genoma viral.

Tomado de <http://www.respyn.uanl.mx/ii/2/ensayos/papiloma.html>

En la región temprana se encuentran todos los genes reguladores de la transcripción, replicación, transformación y ciclo viral E (E1, E2, E4, E5, E6, E7 y E8); en la región tardía se encuentran los genes que regulan las proteínas mayores (L1) y menor (L2) de la cápside viral. La región larga de control (LCR), que no tiene función codificante, es un segmento del genoma viral de aproximadamente 1,000 pb, en ella se encuentran los genes reguladores de la transcripción viral (p97) y del origen de la replicación (ori) la cual ocurre exclusivamente en el núcleo de la célula huésped. Cabe mencionar que la información genética se encuentra codificada en una sola de las cadenas de DNA, debido a que los genes tienen una sola orientación transcripcional.

“Las proteínas de expresión temprana E: early) tienen funciones específicas: E1 participa en el inicio de la replicación viral, E2 participa en la replicación del virus y en la regulación de la transcripción de los oncogenes E6 y E7, E4 participa en la ruptura

de citoqueratinas, E5 es una proteína transformadora de membranas, E6 se une a P53 e induce su degradación y activa telomerasa, el gen E7 se une a una serie de proteínas celulares regulatorias: pRB, p130 y c-jun. Los productos de los oncogenes E6 y E7 inducen el mantenimiento del estado inmortalizado de las células que contienen secuencias de VPH".<sup>21,22</sup>

El VPH infecta las células epiteliales mitóticamente activas, y persisten en estas como elementos extraocromosómicos circulares de múltiples copias: episomas. El número de copias episómicas en estas células basales suelen ser alrededor de 200/ célula.) específicamente a los queratinocitos a través de microabrasiones mediante contacto directo de célula a célula, llegando primero a la membrana basal y sin ocasionar signos clínicos de viremia.

La infección comienza cuando las proteínas de la cápside viral se unen a los receptores de la membrana celular de los queratinocitos basales. Después de la unión a la célula, el genoma viral se traslada al núcleo donde ocurre la integración del DNA episomal viral en el genoma celular permaneciendo en estado de latencia. En este punto hay una replicación muy baja en coordinación con el ciclo celular; Cuando las células infectadas se diferencian y migran desde la capa basal hacia el estrato espinoso del epitelio, la replicación viral se estimula, produciendo la acumulación de viriones dentro del núcleo.<sup>20,21</sup>

El genoma viral se replica en los siguientes estadios:

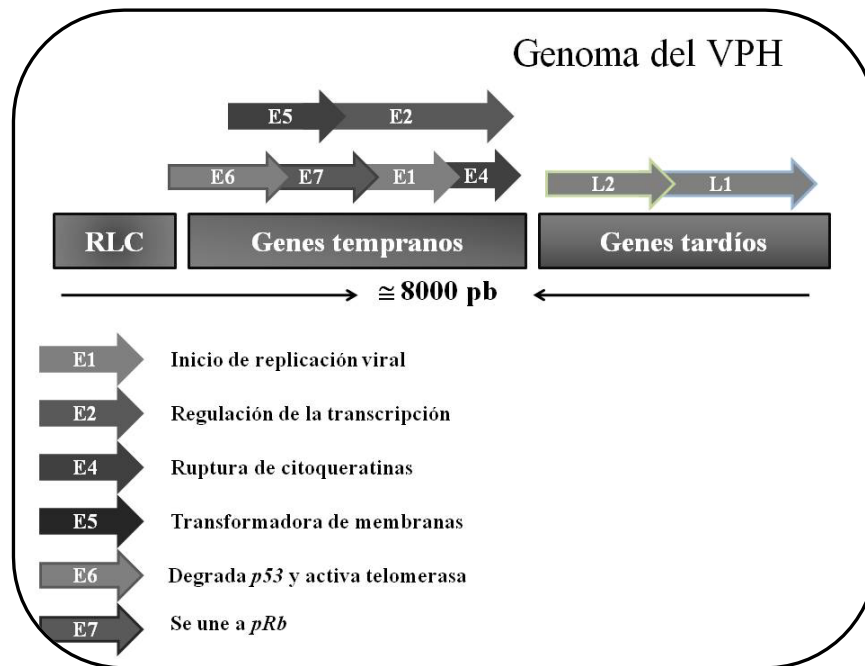
- Primer estadio: Las proteínas tempranas E1 y E2 son sintetizadas y como resultado se replican de 10 a 200 copias virales
- Segundo estadio: En este estadio ocurre proliferación viral sin que se presente destrucción de las células hospederas. Durante el ciclo celular ocurre la replicación. Ocurre la expresión de los genes E6 y E7, las células presentan un ciclo de vida corto y divisiones celulares frecuentes, lo cual se traduce en la formación de lesiones exofíticas benignas.

- Tercer estadio: Las proteínas E1 y E2 se activan y se producen miles de copias de ADN viral, asimismo se activan los genes L1 y L2 necesarias para el ensamblado de la cápside viral. <sup>19-22</sup>

La producción final de viriones y su liberación requiere de la diferenciación terminal de las células infectadas en el epitelio, mediante el proceso normal de descamación. se piensa que la especificidad epitelial de VPH pueda estar determinada por la región larga de control.

La forma de replicación en las lesiones benignas, el genoma del VPH se integra de forma episomal extra cromosómico (plásmido) mientras que, en las lesiones malignas, el DNA viral se integra en el cromosoma del hospedero.

Una de las principales diferencias que caracterizan a los tipos de VPH de bajo riesgo y de alto riesgo, es que los primeros no usan típicamente sus productos de genes E6 y E7 para impulsar una proliferación celular extensa en las capas de células basales y parabasales. Esto es una consecuencia de la regulación transcripcional diferente de estos genes en papilomavirus de bajo riesgo y también a las diferencias en la función de la proteína viral. Una consecuencia importante de esto se refleja en la pobre capacidad de los tipos de VPH de bajo riesgo para conducir la neoplasia y conducir la progresión a cáncer. <sup>16,17,18, 21,22</sup>



**Figura 7** Genoma del VPH

### 1.2.2. Células dendríticas-Células de Langerhans

Las células dendríticas (CD) son células mieloides que tienen proyecciones citoplasmáticas que les da un aspecto dendrítico, en mucosas son llamadas células de Langerhans y se encuentran principalmente en el estrato espinoso del epitelio en una proporción del 3 al 5 % de la población celular, aproximadamente de 54.9 células x mm<sup>2</sup> son las responsables de la respuesta inmunitaria adaptativa, son la primera línea de defensa inmunitaria puesto que su función es la de realizar: captación, procesamiento y presentación de antígenos, de ahí que se les denomina como células presentadoras de antígeno. (CPA), además de que tienen la capacidad de migrar a los ganglios linfáticos y desarrollar una actividad inmunoestimuladora. Su efectividad depende de las moléculas denominados complejos mayores de histocompatibilidad (CMH) clase I y II comandados por los genes HLA, los cuáles a través de sus receptores de membrana y moléculas coestimuladoras (CD40, CD54, CD58, CD80 y CD86) posicionan a los fragmentos antigénicos, para que sean reconocidos e induzcan a Linfocitos helper (LTCD4) y Linfocitos T citotóxicos (LTCD8) a realizar la respuesta inmunitaria dirigida. además de que pueden mantener la tolerancia inmunitaria.<sup>23,24,25</sup>

De acuerdo con el tejido donde se localizan células dendríticas reciben diferentes nombres, sin embargo, su función es la misma.

Tejido	Tipo de célula dendrítica
<b>Epidermis y mucosas</b>	<b>Célula de Langerhans</b> (descritas por Paul Langerhans en 1968) <sup>24</sup>
Órganos linfoides primarios: médula ósea, timo, zona marginal del bazo	Célula interdigitante
Riñón, corazón, pulmón	Células intersticiales
Vías aferentes linfáticas, órganos linfoides secundarios	Células veladas
Sangre	Células sanguíneas dendríticas

Cuadro 1. Tipos de células dendríticas

Una vez sintetizadas las células dendríticas son liberadas a los tejidos donde permanecen en un estado estacionario o inactivo, denominándose células dendríticas inactivas. Cuando se activan son funcionales y son capaces de realizar el proceso captar, procesar y presentar antígenos previos al proceso de fagocitosis y pinocitosis., en este momento se denominan células dendríticas maduras, adquieren una morfología diferente, proyecciones dendríticas mas evidentes, mayor aumento en la expresión de CMH clase I y II y aumenta la expresión de moléculas de coestimulación (CD40, CD54/ICAM-1, CD58/LFA-3, CD80 y CD86), aumenta el CD83 (marcador de activación de células dendríticas) y son capaces de producir grandes cantidades de citocinas como la IL-12, IFN $\alpha$  e incluso IL-10.<sup>23,24,26</sup>

### 1.2.3. Respuesta inmune frente la infección por VPH.

Una vez que el VPH tiene contacto con los queratinocitos, puede tener una inactivación por barreras físicas innatas como fluido protector viscoso y péptidos antimicrobianos que se encuentran en la saliva de la mucosa y los ácidos grasos de la piel.

Una vez que el VPH alcanza la matriz extracelular, las proteasas extracelulares desencadenan cambios conformacionales en la cápside del virus para la internalización del virus. Tras la absorción de las partículas virales por macropinocitosis, los virus viajan a lo largo de la vía endocítica/ endosomas tardías, ácidos / lisosomas, y tráfico retrógrado a través del Golgi para alcanzar el núcleo durante la digestión intracelular la mayoría de las partículas de virus se degradan y eliminan por la autofagia del huésped.

En la respuesta inmune participan los linfocitos T intraepiteliales principalmente Linfocito T, molécula de diferenciación 8+ (CD8) Y CD4 que se encuentran en la zona de transición del epitelio escamoso estratificado de la mucosa bucal, hay presencia de inmunoglobulinas Ig A e IgM, en la lámina propia de la mucosa hay presencia de abundantes capilares linfáticos que drenan a los ganglios linfáticos locales en donde se encuentran Linfocitos B y T, y en el tejido conectivo hay LB activados, células plasmáticas, macrófagos, células dendríticas eosinófilos y mastocitos <sup>24,26,27</sup>

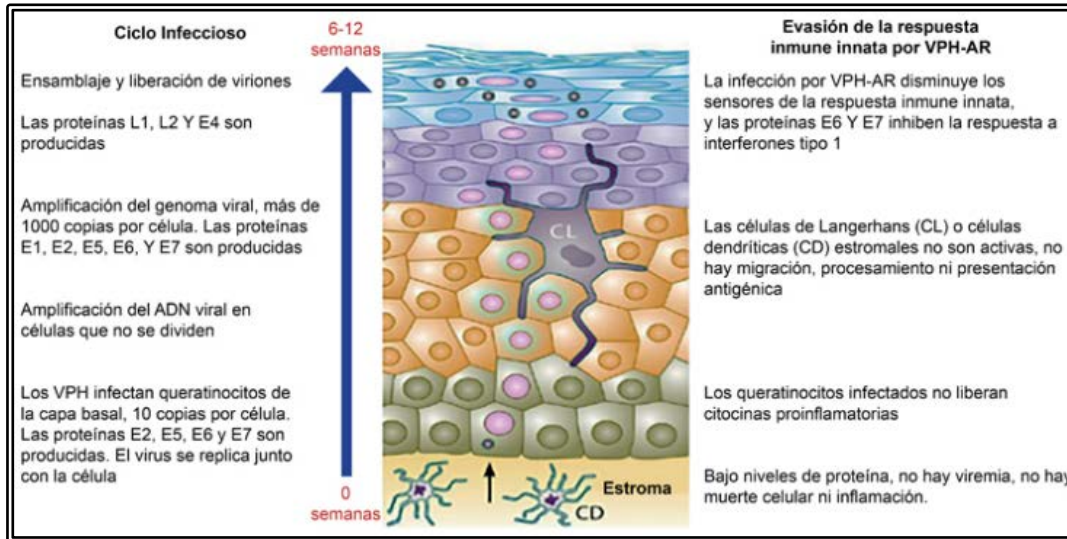
### **1.2.3.1. Respuesta inmune adaptativa**

Los VPH que permanecen fuera de la célula son neutralizados por anticuerpos antivirales, que se fijan a la cápside viral evitando su entrada a otras células.

Citocinas como INF tipo II son liberadas por células infectadas que las producen como resultado de coestimulación o por linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTLs) principales células contra la infección por virus, ya que reconocen antígenos virales citosólicos de síntesis endógena, presentados en asociación con la moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), gracias al reconocimiento de las células presentadoras de antígeno (APCs) que captan y procesan antígenos (péptidos) y se acoplan al MHC y los presentan a los linfocitos TCD8+.

De acuerdo con la literatura se ha intentado explicar, en epitelio de cérvix, como las células dendríticas responden ante el ataque de VPH, una de las explicaciones es que la infección disminuye sensores de la respuesta inmune innata y las proteínas E6 Y E7 inhiben la respuesta de los interferones tipo I. Las células de Langerhans no son activas, no hay migración, procesamiento ni presentación antigénica, los

queratinocitos infectados no liberan células inflamatorias y por lo tanto no hay muerte celular ni inflamación. Fig,8. <sup>26</sup>



**Figura 8** Esquema de evasión de la respuesta inmune.

Ciclo infeccioso y mecanismos de evasión de la respuesta inmune innata durante la infección por VPH. (Stanley MA. 2012)<sup>26</sup>

#### 1.2.4. Hiperplasia epitelial multifocal y Células de Langerhans

Cuando el VPH, infecta las células del epitelio de piel y mucosas, este escapa del sistema inmunitario, uno de los mecanismos explicativos es que las células de Langerhans (células presentadoras de antígeno) no reconocen los fragmentos peptídicos virales, adicionalmente se cree que existen individuos susceptibles con HLA específicos donde, sus moléculas de complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) están programadas genéticamente para no realizar la presentación antigénica, Adicionalmente la proteínas virales como E6 y E7 inhiben la expresión de las proteínas de clase 1 del CMH, en la superficie celular, específicamente E5 también regula a la baja el CMH/HLA, Clase 1, que presenta péptidos virales a los LTCD8. Estos procesos entre otros bloquean al sistema inmune innato y mediado por células.<sup>16-21</sup>

García Corona y cols (2004).<sup>11</sup> estudiaron a 22 pacientes mexicanos con HEMF, tipificaron el ADN viral, y concluyeron que el 85% tenía el genotipo 13, y que el locus HLA-DR tiene un papel en la fisiopatología de HEMF, afirmaron que los individuos son genéticamente susceptibles, particularmente aquellos homocigotos para HLA-DR4 (subtipos DRB1 \* 0404), que tienen ciertas secuencias de aminoácidos en la tercera región hipervariable. (P< 0.001), con una razón de probabilidad 3.9, intervalo de confianza del 95%, 1.86-8.03) Esta secuencia de aminoácidos a su vez restringe la presentación de antígenos de péptidos derivados de la cápside viral a los linfocitos CD4, y así mismo los autores sugieren que, en consecuencia, se produce la acumulación de estos péptidos dentro de la célula, generando así la imagen de figuras "mitosoides". La presencia de HLA-DR4 y su alelo 0404 sugieren que los amerindios de las poblaciones están en riesgo, ya que este alelo es relativamente frecuente en la población mexicana.<sup>1,2,11</sup>

### **1.2.5. Inmunomarcador CD1a**

Las moléculas CD 1 (Cluster of differentiation number 1) son un grupo de proteínas transmembranales, que presentan antígenos lipídicos y glucolípidos. CD1a es una subdivisión de tres proteínas que se subdividen en a,b y c. (a) es una proteína de membrana que está asociada con el CMH-I, principalmente capta antígenos de origen lipídico, y se encuentra en células dendríticas. (CPA)

Se ha detectado su expresión en células de Langerhans en la epidermis de la piel y las mucosas en combinación con la expresión de Langerina.

Su expresión en piel y mucosas sanas indica que cumple una función muy importante en la presentación de antígenos, además de que sus niveles y su migración se elevan en procesos inflamatorios y este evento sea crucial para la activación de las células T dependientes de CD1a, por lo tanto, esto es considerado un proceso de inmunidad celular. Así mismo se han descrito Linfocitos T autorreactivos, que no necesariamente se activarán por la naturaleza molecular del antígeno, si no por la proteína CD1a y a su vez pueden funcionar como inhibidores de la respuesta de LT dependientes de CD1a.<sup>27</sup>

### **1.2.6. inmunomarcador S-100**

Es una molécula dimérica que pertenece a la familia de al menos 21 miembros de proteínas fijadoras de Calcio, son expresadas por células del sistema nervioso central y tejidos derivados de la cresta neural, ayudan en la diferenciación epidérmica, apéndices dérmicos, melanocitos y células de Langerhans. Se piensa que las proteínas S-100 ayudan en parte a la activación de los linfocitos T, ya que se encuentran en los queratinocitos y que estos al auto activarse, ayuden a que las células dendríticas se activen, sin embargo, esto sigue en estudio ya que, en diversos estudios. Se ha visto que las CD disminuyen considerablemente en procesos tumorales avanzados, también se sobre expresa en condiciones inflamatorias, autoinmunes, el factor quimiotáctico de neutrófilos y producción de TNF-  $\alpha$  e IL-1  $\beta$ , elementos que hacen respaldar la teoría de la autoactivación de los linfocitos T.<sup>28,29,30</sup>

## **2. Planteamiento del problema**

En la Hiperplasia epitelial multifocal, hay una alteración en la respuesta inmunológica; las proteínas virales desregulan el reconocimiento, procesamiento y presentación de antígenos en las células dendríticas (células de Langerhans) e inhiben a los complejos mayores de histocompatibilidad.

Esto aunado a la predisposición de la infección en individuos susceptibles, provoca la pérdida de la tolerancia inmunológica, y se producen lesiones bucales asociadas a Hiperplasia epitelial multifocal.

Esto no ha sido suficientemente estudiado en investigaciones de expresión de marcadores celulares de lesiones bucales por Hiperplasia epitelial multifocal y su relación con la función de células dendríticas.

### **3. Pregunta de investigación**

¿La expresión de marcadores de inmunohistoquímica (**CD1a, y S-100**) indicará células dendríticas inactivas y se asocian con respuesta inmune evasiva por la infección de VPH-Hiperplasia epitelial multifocal?

#### **4. Justificación**

Las células dendríticas son la primera línea de defensa en la inmunidad, captan, procesan y presentan antígenos, su función es vital en la respuesta inmune innata y adaptativa, identificar los mecanismos de respuesta inmune en lesiones bucales relacionadas con VPH específicamente Hiperplasia Epitelial Multifocal ayudaría a entender el proceso de respuesta inmune y salud-enfermedad.

## 5. Hipótesis

La expresión positiva de (CD1a, y S-100) en tejidos diagnosticados con HEMF indicará células dendríticas maduras y se asocian con respuesta inmune activa por la infección por Hiperplasia epitelial multifocal.

### Hipótesis alterna

La no expresión **(CD1a, y S-100)** en tejidos diagnosticados con HEMF indicará células dendríticas **inmaduras** y se asocian con respuesta inmune **inactiva** por la infección por Hiperplasia epitelial multifocal.

## **6. Objetivos generales**

Establecer el porcentaje de células maduras e inmaduras en relación con el total de células positivas a través de inmunohistoquímica en muestras tisulares con Hiperplasia Epitelial Multifocal.

### **6.1. Objetivos específicos**

- Cuantificar la expresión de CD1a y S-100 en muestras histológicas de mucosa bucal con Hiperplasia Epitelial Multifocal.
- Estimar la asociación de variables demográficas y clínicas, con la expresión de los marcadores de inmunohistoquímica.

## **7. Materiales y Métodos**

### **7.1. Diseño del estudio**

Estudio transversal, retrolectivo y descriptivo.

### **7.2. Población y universo**

La población será identificada por todos los bloques de parafina con diagnóstico de HEMF, del laboratorio de histopatología de la Universidad Autónoma del Estado de México UAEM, del periodo 2006 al 2019 y laboratorio de histopatología de la Secretaría de la Defensa Nacional. SEDENA.

### **7.3. Universo**

Todos los bloques de parafina de laboratorio de histopatología de la Universidad Autónoma del Estado de México UAEM y Laboratorio de Histopatología de la Secretaría de la Defensa Nacional. SEDENA.

#### **7.3.1. Muestreo**

No probabilístico por conveniencia

#### **7.3.2. Criterios de inclusión**

- Muestras tisulares en parafina con diagnóstico de Hiperplasia epitelial multifocal según la OMS
- Cortes histológicos con suficiente tejido para realizar el estudio de inmunohistoquímica.
- Solicitud de estudio histopatológico que cuenten con datos clínicos y datos sociodemográficos completos.

### **7.3.3. Criterios de exclusión**

- Cortes histológicos que no tengan suficiente tejido para realizar el estudio de inmunohistoquímica.
- Cortes histológicos que presenten inflamación.

### **7.3.4. Criterios de eliminación**

- Muestras que el análisis histopatológico no correspondan con las características definidas para Lesiones bucales por VPH, Hiperplasia epitelial multifocal.

## **7.4. Variables**

Las variables a considerar son:

Variable dependiente:

-HEMF

Variables Independientes:

-Expresión de células dendríticas, edad, procedencia, sexo, y localización intrabucal.

## **8. Procedimiento clínico.**

### **Diseño del estudio**

Estudio transversal y descriptivo se seleccionaron bloques de parafina con el diagnóstico histológico de HEMF. Los bloques provenían de casos recibidos en el laboratorio de Histopatología del centro de investigación y estudios avanzados en Odontología “Dr. Keisaburo Miyata” Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM y el laboratorio de Patología oral y Maxilofacial de la Unidad de Especialidades Odontológicas de la Secretaría de la Defensa Nacional. SEDENA. Las características clínico-patológicas se obtuvieron de las solicitudes de estudio. Se unificaron criterios histológicos por tres patólogos bucales (CMLE, FSVE y TRVH) en base a los criterios descritos por la OMS 2017, (WHO Classification of Head and Neck Tumours)<sup>13</sup> (Fig. 5) Una vez revisados los cortes histológicos se seleccionaron los bloques para realizar técnicas de inmunohistoquímica de cada uno de los cortes histológicos. Esta investigación fue aprobada por el Consejo Científico de la UAEM.

### **8.1. Estandarización de examinadores**

Con el fin de unificar los criterios histológicos tres examinadores (VTR, VEFS y LEMC) se realizó una revisión de cortes histológicos que previamente habían sido diagnosticados como, Hiperplasia Epitelial Multifocal, los examinadores se basaron en los criterios descritos por la OMS 2017<sup>13</sup>, los resultados de los tres examinadores se evaluaron por medio de una prueba de Kappa. > 80%.

#### **8.1.1. Criterios histológicos**

Se basaron en los establecidos previamente por la WHO Classification of Head and Neck Tumours. (El-Naggar 2017 y cols)<sup>13</sup>

**Hiperplasia Epitelial Multifocal.** Histológicamente se presenta como una lesión de estirpe epitelial compuesta por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado, acantótico, con procesos epiteliales anchos y convergentes hacia el centro de la lesión, muchos de los cuales se fusionan entre sí. Se observan abundantes células vacuoladas (coilocitos). Como característica particular, hay presencia de células con degeneración nuclear llamados cuerpos mitosides.<sup>13,14,19</sup>

## **8.2. Procedimientos de laboratorio**

La hidratación comienza eliminando la parafina en dos baños de Xilol por 5 y 30 segundos, respectivamente; posteriormente, se realiza la hidratación a partir de alcohol absoluto anhidro, 96% y agua destilada. Se realiza la recuperación Antigénica inducida por calor que expone el epítipo (Desenmascaramiento EDTA pH 9) en olla exprés, se elimina la peroxidasa endógena, con el peróxido de hidrógeno al 3% (tissue primer) y se incubo de 5-10 minutos, 100µl, se lavaron las muestras con solución PBST, posteriormente se colocó bloqueador de proteína albúmina sérica bovina al 1% y se incubo de 5-10 min a temperatura ambiente, se colocó 100 µl del anticuerpo primario, 45 minutos de incubación. Se realizó un lavado con solución PBST y se esperó 5 minutos. Se colocó anticuerpo secundario, (sistema detector de polímeros, se incubo 20 minutos, la dilución fue con diluyente de anticuerpos, se lavó con solución PBST y se esperó 5 minutos. Se aplicó la peroxidasa de rábano, 100 microlitros y se incubo 20 minutos. Posteriormente se lavó de revelado con solución PBST y se esperó 5 minutos. Se colocó el cromógeno para hacer visible la unión diaminobencidina, y se monitoreo al microscopio (1 gota (50 microlitros) de DAB en 1 ml de buffer Se lavó con agua destilada y finalmente se contrastó con tinción de Hematoxilina de Harris, 2 minutos, se lavó con bicarbonato de litio 7 minutos en agua corriente. Se deshidrató con el tren de alcoholes ascendentes 96% a Absoluto y Xylol y se colocan cubreobjetos.

### **8.2.1. Procedimientos microscópicos**

Patrones de tinción característicos.

Para la evaluación de la expresión de los marcadores celulares, se tomarán en consideración las siguientes características. Para CD1a; tinción de la membrana celular nítida de color marrón, S-100; color marrón castaño en el núcleo y en el citoplasma.

### **8.2.2. Conteo de la expresión celular CD1a y S100**

Para el análisis cuantitativo de la tinción de inmunohistoquímica de las células dendríticas, se detectaron mediante los anticuerpos S100 y CD1a. La cuantificación de la población celular de los marcadores para células dendríticas se llevó a cabo mediante fotomicrografías de cuatro campos a 400x y se seleccionó una zona representativa para la cuantificación de la expresión del marcador.

Se contaron las células expresadas por campo con un software Image J (*Maryland USA*) que se realizó el conteo celular, calculando de forma manual el número de células positivos entre el total de campos, obteniendo así el porcentaje de expresión del marcador.

Se estimaron los porcentajes de las células positivas para cada caso de CD1a y S-100. Se generaron medidas de resumen (medias y medianas) y medidas de dispersión (desviación estándar y cuartiles).

### **8.3. Consideraciones Bioéticas**

Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Prestación de Servicios de Atención Médica; 8 fracción V y 9, fracción IV Bis, del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, ordenamiento la publicación, en el Diario Oficial de la Federación, del: PROY-NOM-037-SSA3-2013, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios de anatomía patológica

- El reglamento de la ley general en materia de control sanitario, para investigación: componentes, tejidos y sustancias que conforman el cuerpo humano capítulo I, artículo 4. Fracción VI. Para instituciones educativas.
- Cap 17. Fracción 2. Riesgo mínimo.
- La ley federal de protección de datos personales en posesión de los particulares, artículo 1. Se garantiza la privacidad y el derecho a la autodeterminación informativa de las personas. Las personas que acuden al laboratorio de histopatología del centro de investigación y estudios avanzados en Odontología “Dr. Keisaburo Miyata” Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM, y SEDENA firman un aviso de privacidad, cuando dejan su tejido para estudio histopatológico. NORMA Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. Realización de investigación competente.

#### **8.3.1. Aspectos éticos**

Todos los bloques de parafina que se ocuparan son propiedad del laboratorio de histopatología del centro de investigación y estudios avanzados en Odontología “Dr. Keisaburo Miyata” Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM, y Laboratorio de Patología Bucal SEDENA, todas las personas que acuden a solicitar el servicio de diagnóstico histopatológico, firman un aviso de privacidad, y el tejido incluido en parafina para diagnóstico queda resguardado, no obstante el paciente puede solicitar

su bloque y laminillas cuando lo desee. Los bloques de parafina, de ninguna manera pueden salir de las instalaciones del laboratorio de histopatología UAEMex y SEDENA.

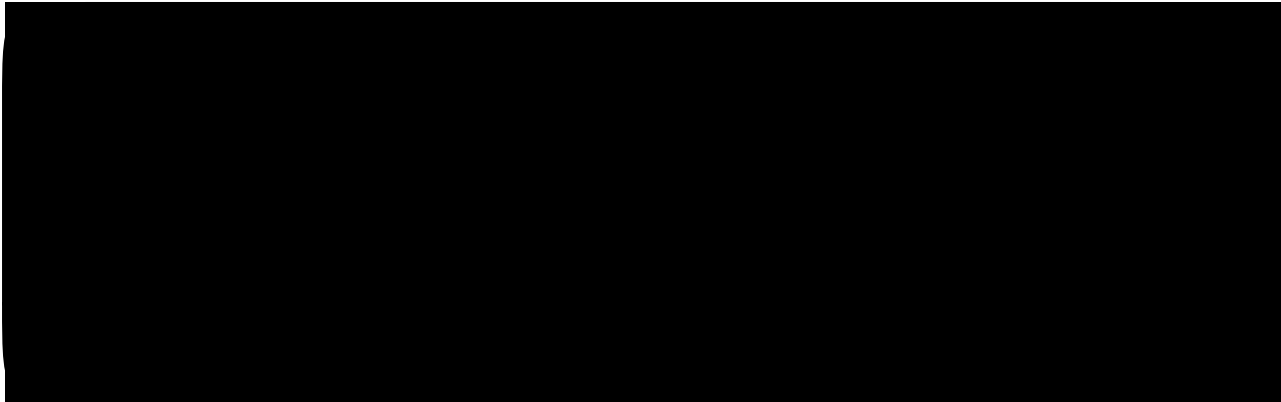
- Los investigadores no corren riesgo de ningún tipo al trabajar o manipular, dichos tejidos, Las laminillas y bloques de parafina, por sus características de inocuidad, no son considerados RPBI. (Residuos peligrosos biológico-infecciosos)

#### **8.4. Análisis estadístico**

Se estimaron los porcentajes de las células positivas para cada caso de CD1a y S-100. Se generaron medidas de resumen (medias y medianas) y medidas de dispersión (desviación estándar y cuartiles).

Para comparar los porcentajes de la expresión de los marcadores en el conteo celular de los dos grupos, se realizará un análisis de varianza a través de la prueba Anova unifactorial. El nivel de significancia estadística será de 0.05.

## 9. Resultados



Mis envíos de autoría Q Buscar

Id.	Autor; título	Fase
▶ 2747	Toral-Rizo et al.; Inmunexpresión de células dendríticas con CD1a / S-100 en Hiperplasia Epitelial Multifocal	<a href="#">Propuesta</a>

1 de 1 elementos

Archivos Argentinos de Pediatría Español (España) Ver el sitio toralrizo

**SAP** Biblioteca de envío Ver metadatos

**Tareas** 0

**Propuestas**

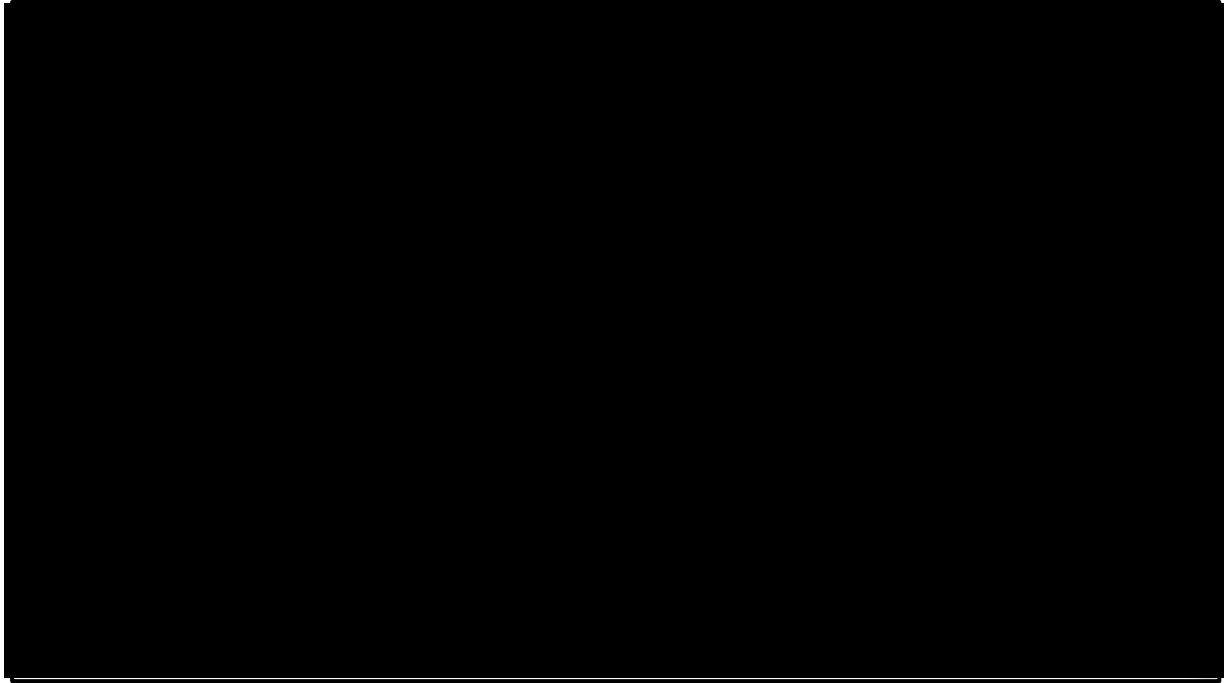
**Inmunexpresión de células dendríticas con CD1a / S-100 en Hiperplasia Epitelial Multifocal**  
Violeta Evelyn Flores-Solano, Edith Lara-Carrillo, Luis Eduardo Calixto-Martinez, Elias N...

Propuesta **Revisión** Editorial Producción

**Archivos de envío** Q Buscar

▶ 32929-1	toralrizo, Autor; Manuscript.docx	Texto del artículo
▶ 32930-1	toralrizo, Autor; Fig 1.jpg	Tablas y figuras
▶ 32931-1	toralrizo, Autor; Fig 2.jpg	Tablas y figuras
▶ 32932-1	toralrizo, Autor; Fig 3.jpg	Tablas y figuras

[Descargar todos los archivos](#)



## 10. Discusión

Existen diferentes tipos de células dendríticas (CDs) Su diferenciación radica en la expresión de sus marcadores de superficie que nos indican su origen, localización y grado de maduración.<sup>23,24</sup> Existen algunos marcadores de inmunohistoquímica que sugieren ser de utilidad para comprobar la función de las células dendríticas y en qué etapa se encuentran. En el presente estudio se seleccionó un marcador de células inmaduras, no activas CD1a, este es un receptor lipídico en las células dendríticas que nos indicó si las células están presentes en el epitelio de lesiones con hiperplasia epitelial multifocal,<sup>23</sup> El segundo marcador seleccionado en este estudio fue S-100, receptor de antígenos peptídicos, este nos permitió saber, si las células están activas (maduras) ya que si su expresión es positiva y alto porcentaje , indicara que las células están llevando a cabo una respuesta inmune activa<sup>22,23</sup>.

De acuerdo con el análisis de la literatura, la localización clínica, coincide con la literatura y actualmente se observan en pacientes mayores de 40 años, sin embargo, es más prevalente hasta en un 40% en población infantil y adolescente.<sup>1,2,3,4,5</sup>

Se ha estudiado la densidad e intensidad de células de Langerhans (CD), en procesos neoplásicos, inflamatorios, displásicos, autoinmunes, y su relación con virus de Papiloma humano (VPH) de alto grado, principalmente en mucosa de cérvix, por medio del marcador CD1a. En procesos inflamatorios, displasia de diferentes grados, carcinoma in situ, carcinoma invasor, las células presentadoras de antígeno (CL) desempeñan un papel antitumoral, las conclusiones hasta ahora es que las CD disminuye en casos de Cáncer cervicouterino en presencia de VPH, lo que indica que existe disminución de la respuesta inmunitaria.<sup>27,28</sup> Gama-Cuellar AG et al. (2022) Determinó por medio de CD1a y CD83 que la población de CD inmaduras y maduras en los compartimientos intratumorales y peritumorales de Carcinoma escamoso de orofaringe, disminuyo independientemente del estado de VPH, así mismo concluyen que el número de CD no mostraron asociación con el pronóstico de los tumores y que los tumores VPH positivos contribuyen a una mayor supervivencia. En nuestro estudio la determinación de células inmaduras fue por medio del marcador S-100 y observamos una disminución de la densidad de CD en comparación con células

CD1a+,<sup>29</sup> sin embargo un punto importante a considerar es que en HEMF, no existe inflamación, ni ambiente tumoral, factores importantes para la inducción de la maduración de las CD y por ende su función de presentadoras de antígeno, cabe destacar que las células tumorales, inflamatorias entre otras, originan citocinas, como TGF- $\beta$ , VEGF, IL-6 e IL-10, que median la supresión de la maduración de las CL y las respuestas inmunitarias en el microambiente tumoral.

Kovalenko S. et al. (2009)<sup>28</sup> Estimaron la densidad de células dendríticas en papilomas laríngeos a asociados a VPH 6 y 11 (ambos genotipos de bajo riesgo) y evaluaron la relación entre el número de células dendríticas (CD1a+ y CD83+, marcador para CD maduras) y la gravedad de la enfermedad. Dentro de los resultados, estos concuerdan con los nuestros donde mostraron que hay una disminución de CD1a+, en el grosor epitelial de los papilomas, en pacientes con más de tres operaciones, más de un año con la enfermedad e inicio temprano de la misma, aunque por el tamaño de la muestra probablemente no encontraron diferencias significativas, sin embargo observaron aumento en la densidad de CD83+ en pacientes con enfermedad severa y esto podría indicar una alteración en la migración de las células dendríticas en etapas iniciales y que en etapas avanzadas y con los factores de riesgo se induzca su maduración, otra posible explicación para la disminución de las CD, se atribuye a que cuando hay infección por VPH, existe una alteración en el nivel de expresión de las moléculas de adhesión como las E- Cadherinas, que provocan el decremento de CD cuando interaccionan con las células epiteliales, este fenómeno probablemente este asociado a la proteína E6 del VPH.<sup>26</sup>

Se han estudiado diversos marcadores que se expresan en la células de Langerhans y se ha visto que estos pueden disminuir en la infección por VPH hasta en un 60%, se ha correlacionado significativamente ( $P=0.001$ ) la baja CD-S-100 en lesiones VPH+, incluso en lesiones de bajo grado, está demostrado que la presencia de S-100 se encuentra en grandes cantidades solo cuando la carga viral es mayor a 1000 copias, lo que podría sugerir que una replicación viral extensa para activación del antígeno podría representar un indicador del control de la infección por parte del sistema inmunitario, esto podría explicar la relación con HEMF, ya que esta descrito que conforme el individuo crece y madura, las lesiones involucionen y tienden a

desaparecer<sup>24</sup>. La presencia de células de Langerhans en la etapa inicial de la infección por VPH podría representar un indicador del control de la infección por parte del sistema inmunitario, no obstante, en etapas avanzadas, una disminución en el número de estas células puede ser una indicación de que la presentación del antígeno por parte de estas células a los linfocitos T, no ocurre en la etapa inicial. Por lo tanto, los períodos de intensa replicación viral provocan alteraciones celulares características y la infección es productiva, se acompañará de la aparición de la respuesta inmunitaria intolerante. La persistencia de la replicación viral y las alteraciones celulares se convierten en factores de riesgo de malignidad en VPH de alto riesgo. Los hallazgos de este artículo, como la presencia predominante de expresión de S100, CD68 y MHCII en muestras con alteraciones histológicas, podrían sugerir que el sistema inmunitario no logra controlar la replicación del VPH en las primeras etapas de la infección<sup>25, 26, 27</sup>

#### Limitaciones del estudio

Los estudios adicionales en una población más grande pueden proporcionar un conocimiento más profundo en este tema relevante.

Aumentar el número de muestras podría contribuir a obtener resultados diferentes.

El conteo celular se llevó a cabo como está descrito en la literatura, en diferentes publicaciones.

## **11. Conclusiones**

El presente estudio sugiere que los defectos en la inmunoregulación de las células dendríticas pueden estar involucrada en la patogénesis de HEMF

Identificar la expresión de estos inunomarcadores en hiperplasia epitelial multifocal ayudará a ampliar el conocimiento de proceso de salud- enfermedad de dicha entidad.

## 12. Referencias Bibliográficas

1. Bendtsen SK, Jakobsen KK, Carlander AF, Grønhøj C, von Buchwald C. Focal Epithelial Hyperplasia. *Viruses*. 2021; 13:1529.
2. Agnew C, Alexander S, Prabhu N. Multifocal Epithelial Hyperplasia. *J Dent Child*. 2017; 15:47-49.
3. Méndez-Mendoza, A., Ledesma-Montes, C., & Garcés-Ortíz, M. Multifocal epithelial hyperplasia. *North American journal of medical sciences*. 2012; 4: 510–511.
4. Syrjänen S. Oral manifestations of human papillomavirus infections. *Eur J Oral Sci*. 2018; Suppl 1:49-66.
5. Patil K, Guledgud MV, Sanjay CJ, Penumatsa B. Oral Multifocal Epithelial Hyperplasia: An Unusual Entity. *Int J Appl Basic Med Res*. 2019; 9:253-255.
6. Betz S. J. HPV-Related Papillary Lesions of the Oral Mucosa: A Review. *Head and neck pathology*. 2019;13: 80–90.
7. Ledesma-Montes C, Vega-Memije E, Garces-Ortiz M, Cardiel-Nieves M, Juarez-Luna C. Multifocal epithelial hyperplasia. Report of nine cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10: 394–401.
8. Ledesma-Montes C, Garcés-Ortíz M, Hernández-Guerrero JC. Clinicopathological and Immunocytochemical Study of Multifocal Epithelial Hyperplasia. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65:2211-2217.
9. Ledesma- Montes C, Méndez- Mendoza A. Inusualmente alta incidencia de hiperplasia epitelial multifocal en niños de la población náhuatl de México. *Indio J Dermatol Venereol Leprol*. 2017; 83: 663-666.
10. Lopez-Villanueva M.E, Conde-Ferráez L, Ayora-Talavera G, Cerón-Espinosa J.D, González-Losa M.d.R. Human papillomavirus 13 in a Mexican Mayan community with multifocal epithelial hyperplasia: Could saliva be involved in household transmission?. *Eur. J. Dermatol*. 2011; 21:396–400.

11. García-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, Yamamoto-Furusho JK, Rodríguez-Carreón AA, Ruiz-Morales JA, Salgado N, Granados J. Association of HLA-DR4 (DRB1\*0404) with human papillomavirus infection in patients with focal epithelial hyperplasia. *Arch Dermatol*. 2004; 140:127-31.
12. Ahmed K. Said, Jair C. Leao, Stefano Fedele, Stephen R. Porter. Focal epithelial hyperplasia – an update. *J Oral Pathol Med*. 2013; 42: 435–442
13. El- Naggari A, Chan JK.C. Grandis J, Takata T, Sroog P. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. WHO Classification of Tumours, Volume 10, IARC WHO Classification of Tumours No 10. International Agency for research on Cancer LYON 2017; 117-118.
14. Woo, Sook-Bin. Bacterial, viral, fungal, and other infectious conditions. In: *Oral Pathology*.; 2018:51-57.
15. Carmona Lorduy M, Harris Ricardo J, Hernández Arenas Y, Medina Carmona W. Use of trichloroacetic acid for management of oral lesions caused by human papillomavirus. *Gen Dent*. 2018; 66:47-49.
16. Bernard J. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005; 32: 1-6.
17. Harden ME, Munger K. Human papillomavirus molecular biology. *Mutat Res Rev* 2017; 772: 3-12.
18. Kumaraswamy KL, Vidhya M. Human papilloma virus and oral infections: An update. *J Can Res Ther* 2011; 7:120-7.
19. Khanal S, Cole ET, Joh J, et al. Human papillomavirus detection in histologic samples of multifocal epithelial hyperplasia: A novel demographic presentation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2015;120:733-743.
20. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shan KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348:518-27.
21. Doorbar, J., Egawa, N., Griffin, H., Kranjec, C., & Murakami, I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Reviews in Medical Virology*; 2015; 25: 2–23.

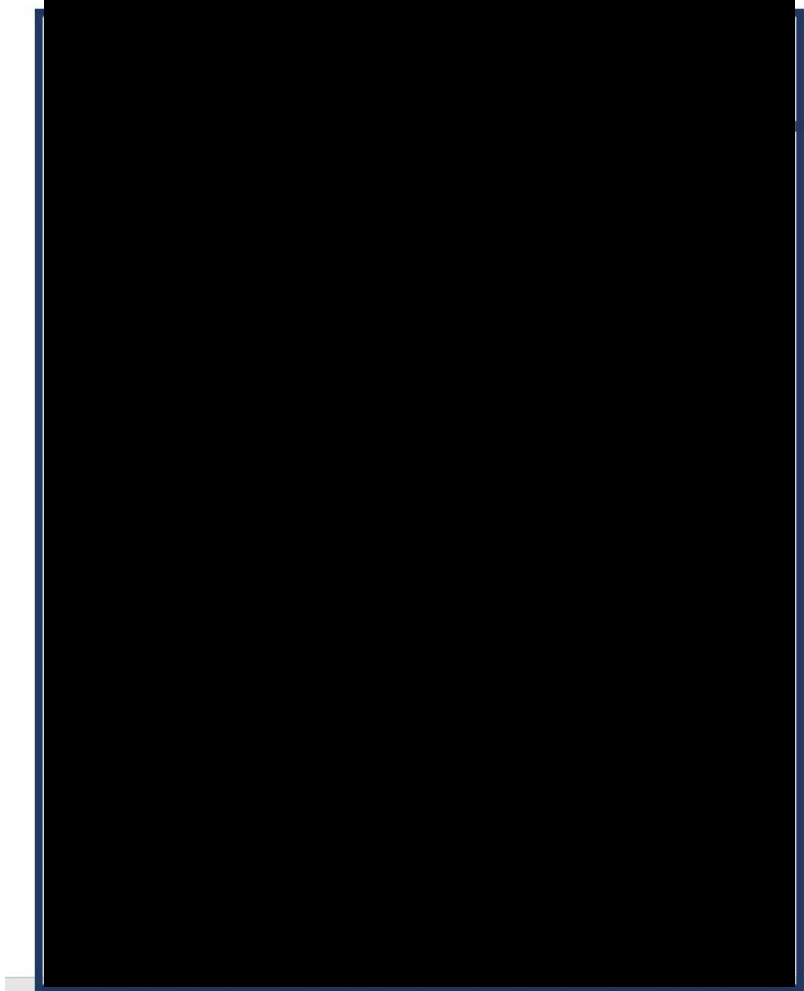
22. Egawa, N., Egawa, K., Griffin, H., & Doorbar, J.. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. *Viruses*. 2015; 7: 3863–3890.
23. Jaitley S, Saraswathi T. Pathophysiology of Langerhans cells. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*. 2012; 16(2):239-244. doi:10.4103/0973-029X.99077.
24. Monserrat Sanz J, Martín M, Reyes E, Prieto Martín A. Células presentadoras de Antígeno. *Medicine*. 2013;11(28):1720-7.
25. Abd Warif, N. M., Stoitzner, P., Leggatt, G. R., Mattarollo, S. R., Frazer, I. H., & Hibma, M. H. Langerhans Cell Homeostasis and Activation Is Altered in Hyperplastic Human Papillomavirus Type 16 E7 Expressing Epidermis. *PLoS ONE*. 2015; 10: e0127155.
26. Stanley MA. Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(2):215-22
27. Pereira KM, Soares RC, Oliveira MC, Pinto LP, Costa Ade L. Immunohistochemical staining of Langerhans cells in HPV-positive and HPV-negative cases of oral squamous cells carcinoma. *J Appl Oral Sci*. 2011;19:378-383.
28. Kovalenko S, Lukashenko P, Romanovskaya A, Soldatski IL, Bakanov SI, Pfister H, Gerein V. Distribution and density of CD1a+ and CD83+ dendritic cells in HPV-associated laryngeal papillomas. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009; 73:249-56.
29. Gama-Cuellar AG, Francisco ALN, Scarini JF, Mariano FV, Kowalski LP, Gondak R. Decreased CD1a + and CD83 + cells in tonsillar squamous cell carcinoma regardless of HPV status. *J Appl Oral Sci*. 2022; 16;30:e20210702.
30. Cassandri F, Tozetti IA, Fernandes CE, Almeida FG, Falcão GR, Scapulatempo ID, Prata TT, Padovani CT, Alves DB, Ferreira AT, Abdo MA. S100, CD68, and MHC class II molecule expression in cervical high- and low-grade HPV-induced lesions. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012; 45:3-8.

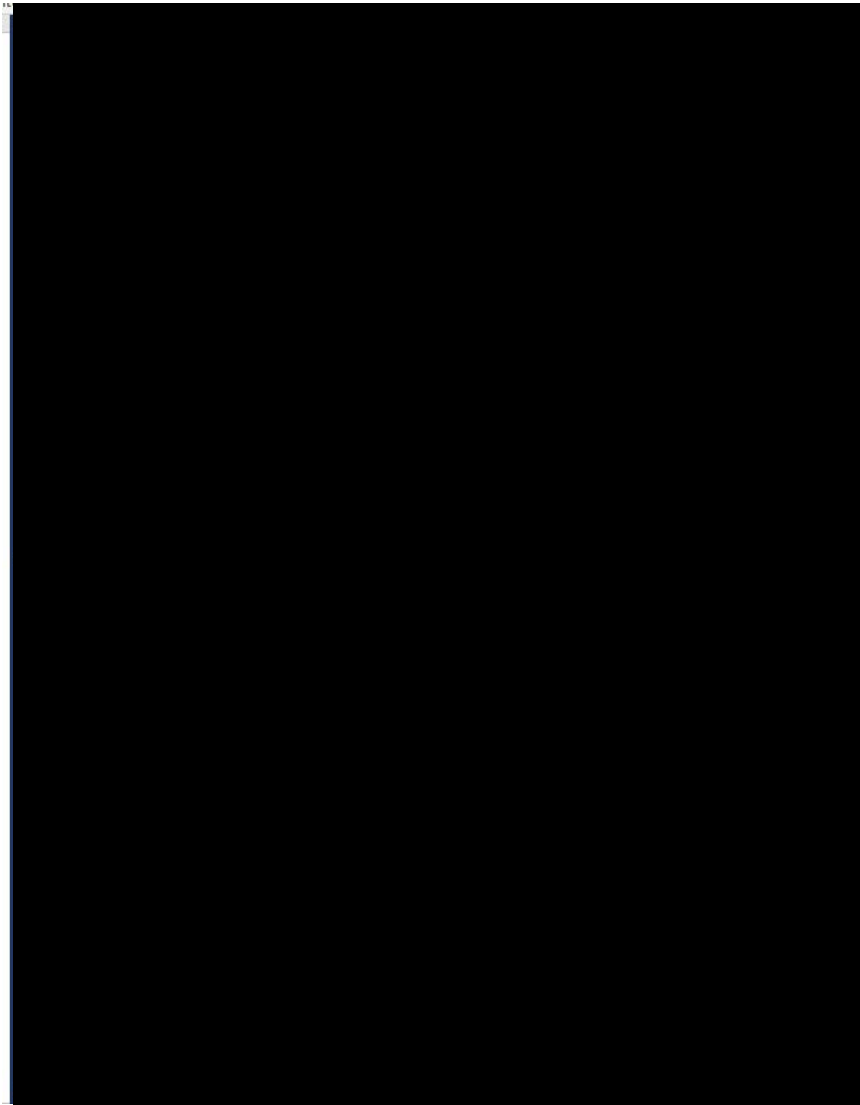
31. Cassandri F, Tozetti IA, Fernandes CE, Almeida FG, Falcão GR, Scapulatempo ID, Prata TT, Padovani CT, Alves DB, Ferreira AT, Abdo MA. S100, CD68, and MHC class II molecule expression in cervical high- and low-grade HPV-induced lesions. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;

## 13. Anexos

### Trabajos presentados en congresos

Encuentro nacional e iberoamericano de investigación en Odontología 2018  
León Guanajuato.





Coloquio de investigación 2018. Facultad de Odontología 2018. Tercer lugar

**14. Acuse de recibido para publicación**

