



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y
DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD



TÍTULO

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN CARCINOMA DE
CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEZA Y CUELLO.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:
“ANATOMÍA PATOLÓGICA”

DRA. ANA ISABEL VALDEZ FLORES

DIRECTORA DE TESIS

DRA. CESILIA GARNICA NÚÑEZ.

ANATOMOPATÓLOGO.

CITOPATÓLOGO.

20176.

Culiacán de Rosales, Sinaloa a 23 de **eneroseptiembre** de

DR. EDGAR DEHESA LÓPEZ.
SUBDIRECTOR DE INVESTIGACIÓN

DR. CARLOS FERNANDO CORONA SAPIEN.
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. EFRÉN RAFAEL RÍOS BURGUEÑO.
MÉDICO ANATOMOPATÓLOGO
JEFE DE SERVICIO DEL CURSO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.

DRA. CESILIA GARNICA NÚÑEZ.
MÉDICO ANATOMOPATÓLOGO Y CITOPATÓLOGO, ADSCRITA AL
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HOSPITAL
CIVIL DE CULIACÁN.
DIRECTORA DE TESIS.

DRA. CYNTHIA MARINA URIAS BARRERAS.
MAESTRA EN DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD
PATÓLOGA BUCAL ADSCRITA AL DEPARTAMENTO DE
PATOLOGÍA DEL HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN.
ASESORA DE TESIS

AGRADEZCO INFINITAMENTE A DIOS POR SU GRAN AMOR Y SUS BENDICIONES.

INDICE

| | |
|---------------------------------|------|
| Portada..... | 2 |
| Índice..... | 6 |
| Resumen..... | 7 |
| Marco Teórico..... | 8 |
| Planteamiento del problema..... | 195 |
| Justificación..... | 195 |
| Hipótesis..... | 195 |
| Objetivos..... | 195 |
| Material | y |
| métodos..... | 2016 |
| Aspectos | |
| éticos..... | 2419 |
| Recursos y financiamiento..... | 240 |
| Resultados..... | 240 |
| Discusión..... | 273 |
| Conclusiones..... | 305 |
| Referencias bibliográficas..... | 316 |
| Figuras..... | 357 |
| Anexos..... | 378 |

RESUMEN

Título: Virus del Papiloma Humano en Carcinoma de Células Escamosas de Cabeza y Cuello.

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

Introducción: El Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECyC) es una enfermedad en gran parte atribuida a la exposición ambiental. El consumo de tabaco y el consumo de alcohol están bien establecidos como factores de riesgo. Sin embargo, una pequeña proporción (15% - 20%) se produce en no fumadores y no bebedores, lo que sugiere la presencia de otros factores de riesgo, como la infección con el virus del papiloma humano (VPH). ~~Datos epidemiológicos y moleculares recientes sugieren que la infección por virus del papiloma humano de la vía aérea superior puede promover la tumorigénesis.~~

Commented [mub1]: No sé si el signo "%" deba ir separado del número también en estos casos dentro de un paréntesis... osea (15 % - 20 %)

Objetivo: ~~D~~determinar la prevalencia de la infección por ~~VPH virus del papiloma humano~~ en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, en el Hospital Civil de Culiacán.

Metodología: ~~Es un~~ estudio transversal. Se ~~estudiaron~~ estudiaron 17 muestras de tejido con ~~carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello~~ CCECyC, a las cuales se les realizó estudio de inmunohistoquímica con el anticuerpo anti-p16. Para la evaluación ~~de los resultados~~ se tomó en cuenta la intensidad de tinción de núcleo-citoplasma, y el ~~porcentaje~~ de células tumorales que expresaron el anticuerpo.

Resultados: Se incluyeron 17 pacientes ~~on el estudio~~, con un promedio de edad de 62.9 años. La prevalencia de ~~VPH~~ obtenida en pacientes con ~~carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello~~ CCECyC, fue del 17.64% (3/17), correspondientes a dos hombres de 53 y 89 años, y una mujer ~~de~~ 75 años. Los sitios de las biopsias

Commented [mub2]: Aquí haces uso de la sigla "VPH" y antes no haz especificado el significado.

positivas ~~fueron~~ ~~son~~ 2 de mucosa oral y 1 de cuerda vocal. Dos casos fueron bien diferenciados y uno moderadamente diferenciado, los tres casos mostraron características de queratinización.

Commented [mub3]: Estabas hablando en pasado

Conclusiones: Los resultados del estudio concuerdan con la prevalencia reportada en la literatura, sin embargo el método de detección utilizado tiene una baja sensibilidad, por lo que se propone la realización de otras pruebas moleculares, para determinar la prevalencia del VPH en la población estudiada.

Palabras clave: ~~virus del papiloma humano~~ ~~papilomavirus~~, carcinoma de células escamosas, cabeza y cuello.

MARCO TEÓRICO

EPIDEMIOLOGÍA DEL CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEZA Y CUELLO Y SU ASOCIACIÓN CON VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

Se conoce como cáncer de cabeza y cuello al carcinoma epidermoide que se origina en el epitelio que recubre las mucosas del área cervicofacial, ocupa el sexto lugar en prevalencia a nivel mundial, con más de 600 000 nuevos casos por año,¹ dos terceras partes de las cuales se encuentran en países en vías de desarrollo.²

Dentro del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECyC), el cáncer oral y orofaríngeo representan un grupo importante, ya que dan cuenta del 50% de las neoplasias malignas de esta región (que también incluye a la laringe con casi el 2%, hipofaringe, fosas nasales, senos paranasales y la parte alta del esófago). Con frecuencia, estas neoplasias son estudiadas en conjunto, ya que

existe la noción de que comparten aspectos etiológicos, fisiopatológicos, abordajes diagnósticos y principios de tratamiento, aunque evidencia reciente sugiere que esto podría no ser del todo cierto. Específicamente, la mayoría de los cánceres bucales se desarrollan en la lengua móvil (dos tercios anteriores de la lengua) y el piso de la boca, mientras que en la bucofaringe son más comunes en la base de lengua (el tercio posterior de la lengua) y la fosa amigdalina.³

En México, el CCECyC ocupa 5 % de todas las neoplasias, la zona que con mayor frecuencia presenta la infección por [virus del papiloma humano \(VPH\)](#)-papilomavirus es la orofaringe, seguida por la cavidad oral y la laringe.⁴ Hasta 60_% de los casos son diagnosticados en etapas avanzadas (etapa clínica III y IV) y el pronóstico de supervivencia oscila entre 10_% y 40_% a 5 años, dependiendo del sitio específico y su resecabilidad.⁵ En tanto que el tratamiento en etapas avanzadas está compuesto de combinaciones de cirugía, radioterapia y quimioterapia, esta combinación de tratamientos con frecuencia produce perdidas funcionales severas y significativo deterioro estético.³

En el 2008, se reportaron 223 000 muertes a causa de esta neoplasia. Aproximadamente entre 15_% y 20_% de los casos se han asociado a la infección VPH.⁶ En México, se estimó en hombres y mujeres una tasa de incidencia de cáncer de cavidad oral de 2.6 y 1.7 por cada 100 000, respectivamente. Sin embargo, no se cuenta con registros actualizados sobre CCECyC.⁷

Stein y cols. realizaron una revisión sistemática donde se identificaron 699 artículos hasta el 31 de enero de 2014, de los cuales 105 cumplieron con los criterios de inclusión, donde se informa sobre la prevalencia del VPH en 9541 especímenes en 23 naciones y encontraron que en Europa se produjo un aumento constante en la prevalencia del VPH en todos los marcos de tiempo, siendo de 20,6_% a nivel mundial ($-P < 0,001$), el 21,6_% en América del Norte ($P = 0,013$), y el 21,5_% en Europa ($-P = 0,033$). Más recientemente, en la prevalencia de Norteamérica donde el VPH parece haber tocado techo en la última década en alrededor de 65_%. Estos

hallazgos pueden tener implicaciones importantes con respecto a las predicciones para el futuro de la incidencia de CCECyC.⁸

Diversos mecanismos han sido implicados en la génesis de los tumores originados en el epitelio de vías aerodigestivas superiores; el tabaco y el alcohol son los dos carcinógenos más conocidos y su uso está directamente asociado con esta neoplasia,^{9, 10} sin embargo, a últimas fechas se ha demostrado que la infección por ~~virus del papiloma humano (VPH)~~ tiene un papel independiente como factor de riesgo y se relaciona con un pronóstico diferente comparado con pacientes sin infección viral.⁹⁻¹¹ La frecuencia de CCECyC en pacientes jóvenes (menores de 45 años) se ha incrementado incluso en mujeres y en no fumadores ni bebedores; este hallazgo ha sido asociado con la presencia de VPH, sobre todo de alto riesgo (VPH16); así mismo, lesiones precursoras de cáncer como leucoplasia se han relacionado con la infección por VPH18, la cual también cada vez ha sido diagnosticada con mayor frecuencia.¹⁰⁻¹³ Existe evidencia clínica nivel 1 que ha demostrado que el número de parejas sexuales y el contacto orogenital son, en forma significativa, factores de riesgo para contraer la infección.¹⁴

Con el primer reporte de detección de VPH de alto riesgo, en especial los tipos 16, 31 y 33 en CCECyC, se inició la búsqueda de la asociación de este biomarcador.³ El rol de VPH en la carcinogénesis de los tumores escamosos de la vía aerodigestiva superior ha sido claramente establecido en los últimos años. La literatura reporta una prevalencia en torno al 25_% de VPH en tumores de cabeza y cuello,¹⁵ pero esta cifra puede variar desde 0_% a 87_%. Esto se explica por las diferentes técnicas usadas para la detección viral y por el número de casos incluidos.¹⁶

Sólo tres series reportadas incluyen más de 50 pacientes. En la primera de ellas, para un total de 103 pacientes, la prevalencia de VPH fue de 6,8_%, pero los autores emplearon PCR selectivo para genotipos VPH 16, 18, 31, 33 y 45; excluyendo de esta forma otros genotipos, por lo cual la prevalencia real de VPH podría estar

subestimada. En un segundo estudio se incluyeron 86 casos con una prevalencia de 19_% para VPH. Finalmente un tercer estudio incluyó 91 casos con una prevalencia de 13_%. De un total de 5.046 casos agrupados en un meta análisis, la prevalencia de VPH fue de 24_% (IC 21,8_ | 26,3).¹⁵

Commented [mub4]: Checa si debe haber espacio antes y después del guion, no estoy segura

Commented [aivf5R4]: Si llevaba espacio

En un estudio realizado por Kreimer y cols. ~~e~~El VPH16 fue el tipo más comúnmente detectado, representó el 86,7_% del total de carcinoma escamoso orofaríngeo VPH positivo, en comparación con el 68,2_% del carcinoma escamoso de cavidad oral VPH positivo y el 69,2_% del carcinoma escamoso laríngeo VPH positivo. VPH18 fue el siguiente tipo oncogénico más comúnmente encontrado y se detectó en 8,0 % y 3,9_% del carcinoma escamoso oral y de laringe, respectivamente, con todo, sólo está presente en el 1,0_% del carcinoma escamoso orofaríngeo.¹⁷

La forma en cómo el VPH infecta el tracto respiratorio superior no es del todo clara, sin embargo, existen datos epidemiológicos que sugieren una transmisión sexual. En tres estudios de casos y controles, los pacientes con cáncer oral tenían mayor número de parejas sexuales que los controles. Asimismo, se ha observado que los pacientes con cáncer anogenital tienen un riesgo 4.3 veces mayor, que la población en general de padecer cáncer amigdalino. Los cambios en los patrones de conducta sexual representan la causa más probable del incremento en la frecuencia de carcinoma de células escamosas orofaríngeo VPH positivo. También, en los últimos 50 años, este tipo de carcinoma ha cambiado de queratinizante a no queratinizante. La incidencia del VPH en el carcinoma epidermoide orofaríngeo se ha duplicado, particularmente en los hombres. Actualmente, se estima que 4_% de todos los tipos de cáncer se atribuyen a la infección por VPH.³

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

El ~~virus del papiloma humano~~ (VPH) forma parte de la familia de los Papillomaviridae. Es un virus mucosotrópico que puede inducir lesiones hiperplásicas, papilomatosas y verrucosas en el epitelio escamoso estratificado de la piel y las mucosas.³ Actualmente se conocen 130 tipos virales, 40 de los cuales infectan la región anogenital y son clasificados en alto (VPH-ar) y bajo riesgo (VPH-br), debido a su asociación a lesiones neoplásicas malignas. Los tipos virales de alto riesgo según la clasificación de Muñoz son: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 52, 58, 59, 68, 73, 82. Los VPH de bajo riesgo son: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108.¹⁸

El VPH es un virus desnudo de DNA de doble cadena, de aproximadamente 8000 pares de bases, conformado por los genes tempranos E1 y E2 involucrados en la replicación y transcripción viral, E4 y E5 que participan en interacciones con receptores de factores de crecimiento y citoqueratinas, y los oncogenes virales E6 y E7 principales responsables de la inmortalización y transformación celular. Los genes tardíos L1 y L2 son los responsables de codificar proteínas que forman la cápside viral.¹⁹ Las proteínas E6 y E7 son las principales responsables de las capacidades oncogénicas, y de transformación en epitelios escamosos. La expresión de E6 de VPH-ar induce proliferación en células epiteliales, pérdida de diferenciación y formación de tumores. La expresión de E6 es suficiente para la inmortalización, éste coopera con E7 para inducir transformación en cultivos de queratinocitos primarios.²⁰ Sin embargo, la proteína E6 de los VPH-br no tiene esta característica. El potencial oncogénico de la proteína E6 de los VPH-ar se debe principalmente a la interacción e inactivación de proteínas celulares, como genes supresores de tumores (figura 1). La primera actividad identificada de la proteína E6 de VPH-ar fue la capacidad de formar complejos con TP53, así como de su inactivación por degradación vía ubiquitina-proteasoma, lo cual es de suma relevancia debido a su función como gen maestro en el control de diversos procesos celulares.²⁰

El producto del gen TP53 no es el único blanco celular que es inactivado por E6 de VPH-ar. Diversas proteínas celulares que participan en la regulación de apoptosis son afectadas por las oncoproteínas E6, tales como BAK, FAS, FADD, inhibiendo la apoptosis. Otras participan en la reparación de daño al DNA, tales como XRCC1 y O6MGT. Por lo cual, E6 inhibe la reparación del ADN. Además de la interacción e inactivación de proteínas, también tiene efectos en la actividad transcripcional de genes como TERT (telomerasa transcriptasa inversa), BIRC5 (survivina) y MYC. Se han caracterizado los residuos que intervienen en las interacción con algunas proteínas, como la proteína con dominios PDZ, como SCRIB y DLG. Estudios genéticos han demostrado que variaciones naturales en la secuencia de aminoácidos de la oncoproteína E6 de VPH 16, generan diferencias en cuanto a la eficiencia de degradación de proteínas celulares como BAX y TP53.²⁰ Los CCECyC negativos a VPH se asocian a mutaciones en TP53.²¹

Commented [mub6]: Arriba no está en cursiva

Commented [aivf7R6]: Las deje todas sin cursiva, en algunos textos ponen los genes con cursiva y en otros no

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

A nivel histológico pueden distinguirse varios subtipos. Sin embargo, y a nivel molecular, tanto por perfiles de expresión como de alteraciones en DNA, ha revelado una alta heterogeneidad tumoral. En este sentido, diversas evidencias sugieren un modelo de progresión molecular a partir de lesiones premalignas a malignas (figura 2), muy semejante al modelo de progresión de cáncer cervicouterino.²²

Commented [mub8]: Estará bien "sin embargo"? Porque dices que tanto histológicamente como molecularmente hay muchos tipos

ALTERACIONES GENÉTICAS Y MOLECULARES EN CARCINOMA DE CABEZA Y CUELLO

Una de las alteraciones mejor caracterizadas es la sobreexpresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El EGFR pertenece a la familia de receptores, la cual se compone de cuatro miembros: EGFR, ERBB2, ERBB3 y ERBB4, la cual a su vez pertenece a la superfamilia de receptores tirosina cinasa.

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Los genes codifican proteínas transmembranales, involucradas en la señalización celular en respuesta a ligando (EGF, TGF- α , anfregulina, epiregulina, betacelulina, HB-EGF). Una vez que el receptor y el ligando interactúan, se induce una homodimerización o heterodimerización y posterior autofosforilación de residuos de tirosinas del dominio intracelular, que disparan la señalización celular que deriva en diversos efectos, tales como inducción de la proliferación, inhibición de la apoptosis, cambios en la expresión génica y rearrreglos del citoesqueleto, entre otros.²³

Tumores de cabeza y cuello positivos a VPH sobreexpresan SYCP2 (proteína del complejo sináptonemal), RFC5 (factor de replicación 5), CDKN2C y DNMT1 (DNA metil-transferasa), respecto a tumores negativos a VPH.^{24, 25} Analizando el conjunto de desbalances cromosómicos que se presentan en cáncer de cabeza y cuello, se determinaron ganancias en las regiones cromosómicas 8q y 20q y pérdida de 13q en los tumores VPH positivos. Mientras que los tumores negativos a VPH se caracterizan por pérdidas en 3p, 5q, 8p, y ganancias de 11q.²⁶

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VPH.

Los métodos usados para el diagnóstico de la infección por VPH están basados principalmente en la detección del DNA viral y han sido agrupados en ensayos de alta sensibilidad (PCR, 37.1%) que es el standard de oro, ensayos de moderada sensibilidad (Southern blot, 25.2%) y de baja sensibilidad (hibridación *in situ* o inmunohistoquímica, 16.9%). Actualmente la técnica más utilizada para la detección de DNA-VPH es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), debido a su alta sensibilidad.²⁷

Inmunohistoquímica.

La técnica de **inmunohistoquímica** es una técnica de inmunotinción que se caracteriza por demostrar antígenos presentes en células y tejidos. Utiliza infinidad

de biomarcadores moleculares capaces de detectar procesos tanto benignos como malignos en las diversas muestras histológicas. Permite visualización de antígenos presentes en los tejidos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo dirigido contra un antígeno específico (anticuerpo primario), y un anticuerpo secundario que hará contacto directo con el primario mediante un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, capaces de lograr una activación enzimática a nivel de este último que finalmente producirá una reacción visible (tono café o rojo) en el lugar donde está presente el antígeno. La inmunohistoquímica es una técnica esencial en el diagnóstico anatomopatológico de las enfermedades, fundamentalmente de las neoplásicas. Para que su utilidad sea plena es necesario realizar la fijación de los tejidos, las indicaciones de uso, las técnicas y la lectura y valoración de los resultados ateniéndose a unos criterios de **Controles de Calidad** tanto internos, como externos. El fijador que se utiliza para inmunohistoquímica es el formaldehído al 4_% tamponado a pH 7,4 (formalina). El periodo ideal de fijación no será menor de 24 horas ni mayor de 48 horas. Fuera de estos estándares la calidad de la técnica baja sensiblemente.²⁸

Commented [mub9]: Irán con "C" mayúscula?

Commented [aivf10R9]: Jeje con minúscula

Inmunomarcador p16^{INK4a} (p16).

Es una proteína reguladora del ciclo celular, con su expresión estrechamente controlada en las células normales, codificada por el gen supresor CDKN2A (MTS1, **INK4a**) situado en el cromosoma 9p2. Esta proteína supresora de tumores inhibe cinasas dependientes de ciclo-cdk4 y cdk6, que fosforilan la proteína del retinoblastoma (Rb) y la subsiguiente inactivación, lo cual libera E2F y permite a la célula entrar en la fase S. Por lo general, la unión de Rb a los bloques de E2F impulsa la inactivación del ciclo celular. En una transformación de la infección por VPH, sin embargo, el oncogén viral E7 interrumpe la unión de la proteína Rb al factor de transcripción E2F, lo que resulta en el aumento drástico de los niveles de p16^{INK4a}.²⁸

Formatted: Superscript

Formatted: Superscript

Formatted: Superscript

Formatted: Superscript

La detección de p16 puede servir como un biomarcador sustituto para la infección persistente por VPH de alto riesgo. Es ampliamente aceptado que p16^{INK4a} es un marcador sensible y específico de células displásicas del cuello uterino y es un biomarcador útil en el diagnóstico de lesiones cervicales, cáncer y cribado cervical. En definitiva, la determinación de p16^{INK4a} nos informa de la interacción del VPH con las proteínas reguladoras del ciclo celular y constituye un buen candidato a marcador de proliferación neoplásica.²⁸

Formatted: Superscript

Formatted: Superscript

La creciente evidencia indica que, para un subconjunto carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, la presencia de VPH en tumores constituye un marcador pronóstico positivo de detección de la enfermedad. La ventaja de inmunohistoquímica para p16 es que, es fácilmente disponible en laboratorios de patología quirúrgica, relativamente fácil de evaluar y de bajo costo. Los casos típicos positivos para p16 suelen mostrar expresión nuclear y citoplasmática fuerte y difusa.²⁹

En un estudio realizado por Schlecht y cols., eEncontraron que la inmunohistoquímica p16 se ha ido desempeñando mejor que la hibridación in situ, cuando se compara con el VPH detectado por PCR en células escamosas de carcinomas no queratinizantes orofaríngeos. También observaron una correlación inversa entre la expresión de p16 y la queratinización limitada, lo cual refleja la morfología basaloide no queratinizante.²⁹

La inmunohistoquímica con p16^{INK4a} por inmunohistoquímica es un método comúnmente utilizado por patólogos, y su uso con hibridación in situ para la detección de ADN del VPH en un entorno de triage puede ayudar al análisis de VPH donde el estudio por PCR no es facteasible.²⁹

Commented [mub11]: Tal vez sería conveniente cambiar la redacción a "La inmunohistoquímica con p16^{INK4a} es un método...
Para no iniciar con minúscula el párrafo.

Commented [aivf12R11]: si

Formatted: Superscript

Commented [mub13]: factible

TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO.

Formatted: Space After: 0 pt, Line spacing: 1.5 lines, Don't adjust space between Latin and Asian text, Don't adjust space between Asian text and numbers

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

~~En el año 2000, se realizaron estudios moleculares y epidemiológicos que sugieren que los cánceres orofaríngeos VPH positivo comprenden una entidad molecular de la enfermedad, clínica y patológicamente distinta, que es probable que esté asociada causalmente con la infección por el VPH y que tiene un pronóstico notablemente mejor, así lo afirma Gillison y cols, en un estudio realizado en 253 pacientes con diagnóstico CCECyC recurrente donde se utilizaron técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación Southern Blot o hibridación in situ, para secuenciar la región codificadora viral E6 y confirmar la presencia de aislados virales específicos en los tumores.²⁰~~

Formatted: Space After: 0 pt, Line spacing: 1.5 lines, Don't adjust space between Latin and Asian text, Don't adjust space between Asian text and numbers

El carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello presenta altas tasas de persistencia local, así como de desarrollo de un segundo tumor primario, el tratamiento de la enfermedad en etapas tempranas involucra cirugía y radioterapia. El conocimiento de las alteraciones biológicas de estos tumores ha dado pauta al desarrollo de terapias dirigidas, en algunos casos con éxito. La translocación nuclear de EGFR es importante para la señalización y el rápido crecimiento celular, dicha translocación es inhibida por tratamiento con el anticuerpo monoclonal quimérico C225 (cetuximab), el cual también inhibe la fosforilación de EGFR. La FDA aprobó en 2006 Erbitux (cetuximab) en combinación con radioterapia para el tratamiento de pacientes con cáncer de cabeza y cuello no reseccable, debido a que ha mostrado una mejoría en la supervivencia, dicha aprobación es debido a un estudio donde se demostró que prolongaba, 20 meses, la supervivencia en pacientes tratados con radioterapia, comparado con pacientes que sólo recibieron radioterapia.⁶

Commented [mub14]: cursivas?

Commented [mub15]: Tal vez puedas bajar este párrafo un poco, porque hablas en específico del carcinoma orofaríngeo, y sería bueno que iniciaras el apartado hablando del CCECyC en general (como lo haces en el segundo párrafo).

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

En el año 2000, se realizaron estudios moleculares y epidemiológicos que sugieren que los cánceres orofaríngeos VPH-positivo comprenden una entidad molecular de la enfermedad, clínica y patológicamente distinta, que es probable que esté asociada causalmente con la infección por el VPH y que tiene un pronóstico notablemente mejor, así lo afirma Gillison y cols, en un estudio realizado en 253 pacientes con diagnóstico CCECyC recurrente donde se utilizaron técnicas de

Formatted: Not Superscript/ Subscript

reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación Southern Blot e hibridación *in situ*, para secuenciar la región codificadora viral E6 y confirmar la presencia de aislados virales específicos en los tumores.³⁰

Un hecho controvertido es que en pacientes con carcinoma de cabeza y cuello, la asociación de infección de VPH implica mejor pronóstico comparados con pacientes sin esta infección¹⁴. En comparación al cáncer de cabeza y cuello de células escamosas, tradicionalmente asociado al hábito tabáquico, el carcinoma de orofaringe asociado a VPH tiene mejor respuesta a tratamiento, con una tasa de supervivencia a cinco años del 80%, en comparación al 40% en pacientes negativos a VPH en etapas clínicas III y IV.³¹

En enfermos con CCECyC generalmente jóvenes con infección por VPH-16 se ha encontrado mejor tasa de respuesta a radioterapia y mejor control local, además de incremento en la supervivencia a cinco años comparados con los pacientes no infectados. Sin embargo, este hallazgo es debatible y otros autores han atribuido ese buen pronóstico a mayor radiosensibilidad de la neoplasia pero en asociación con los demás factores pronósticos conocidos en cáncer de cabeza y cuello, principalmente la presencia o no de metástasis ganglionares cervicales³¹. Un meta análisis reciente reportó el impacto en la supervivencia de los tumores de vías aerodigestivas superiores con infección por VPH, demostrando que los pacientes positivos para VPH tenían un bajo riesgo de muerte (meta RR 0.85 IC 95_% 0.7-1.0), así como un bajo riesgo de recurrencia (MetaRR 0.62 IC95_% 0.5-0.8) en comparación con pacientes con carcinoma oral y bucofaringeo negativos a VPH. Datos sobre un estudio prospectivo en fase 2, confirman que la infección por VPH predice una mejor respuesta a tratamiento con quimioterapia y radioterapia.³

Una de las explicaciones en cuanto al mejor pronóstico de pacientes con CCECyC y VPH, es debido a que el gen *TP53* no se encuentra mutado a diferencia de los VPH negativos, donde se reportan mutaciones de *TP53*. Este gen es un factor

Commented [mub16]: cursivas?

Commented [aivf17R16]: si

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Italic

Commented [mub18]: Tal vez puedas bajar este párrafo un poco, porque hablas en específico del carcinoma orofaríngeo, y sería bueno que iniciaras el apartado hablando del CCECyC en general (como lo haces en el segundo párrafo).

Commented [aivf19R18]: hecho

proapoptósico y de senescencia en respuesta al daño del DNA inducido por fármacos, así como un potente inductor del arresto del ciclo celular.⁶

Es interesante que el carcinoma de células escamosas de orofaringe mediado por VPH, se puede clasificar teniendo un fenotipo de invasión "no agresiva", mientras que los fenotipos de carcinoma de células escamosas VPH-negativo es más agresivo. Isayeva y cols. han probado la hipótesis de que las oncoproteínas virales E6, E7 y p16^{INK4a} pueden afectar la invasión tumoral.³²

Ang, propone una clasificación de pacientes con base en la presencia o ausencia de VPH, consumo de tabaco y estatus de ganglios linfáticos. Los pacientes con VPH se consideran de bajo riesgo, mientras que pacientes con VPH positivo, consumo de tabaco y ganglios positivos se clasifican en riesgo intermedio. Así, pacientes VPH negativos se consideran de alto riesgo a excepción de no fumadores en etapas T2 y T3, los cuales se clasifican como de riesgo intermedio.³¹

Debido al significado pronóstico de la presencia de VPH en cáncer de cabeza y cuello, la *American Joint Committee on Cancer Staging Criteria* recomienda la determinación de la presencia de VPH en cáncer oral y de faringe.⁶

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Cuál es la prevalencia de infección por virus del papiloma humano en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, en el Hospital Civil de Culiacán?

JUSTIFICACIÓN.

El creciente papel epidemiológico de VPH y su valor como marcador pronóstico han levantado gran interés dado su potencial implicación clínica en oncología de cabeza y cuello. Actualmente, se cuenta con métodos validados, que van desde la simple identificación de VPH de alto o bajo riesgo (Hybrid Capture 2TM), hasta la detección y tipificación con método de hibridación reversa (Linear Array®, InnoLipa®). Dicha detección sería importante, ya que los pacientes negativos a VPH son considerados de alto riesgo debido al mal pronóstico, por lo que se consideraría el desarrollo de nuevos esquemas terapéuticos o combinaciones de los que ya existen. El presente estudio pretende identificar el porcentaje de biopsias con diagnóstico de CCECyC que resulten positivos con el inmunomarcador para p16 (el estudio molecular de más bajo costo), a los que posteriormente, en una segunda etapa, se les podría realizar captura híbrida para aumentar la especificidad.

Formatted: Space After: 10 pt, Line spacing: 1.5 lines, Adjust space between Latin and Asian text, Adjust space between Asian text and numbers

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

HIPÓTESIS.

La prevalencia de papilomavirus en cáncer de cavidad oral, orofaringe y laringe será de 20%.

OBJETIVOS.

Objetivo general.

- Determinar la prevalencia de infección por VPH a través de la positividad al inmunomarcador p16 en biopsias de pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de carcinoma de células escamosas de región de cabeza y cuello, en el periodo comprendido de enero del 2012 a diciembre del 2015, en el departamento de anatomía patológica del Hospital Civil de Culiacán.

Objetivos específicos.

- Correlacionar la prevalencia de la infección por papilomavirus en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello con los grupos etarios.
- Determinar la relación entre la positividad al anticuerpo p16^{INK4a} y los hábitos de riesgo como tabaquismo y alcoholismo.
- Establecer la variante y el grado histológico que más frecuentemente mostró positividad.

Formatted: Superscript

Formatted: Superscript

MATERIAL Y MÉTODOS.

a. Diseño del estudio.

Se trata de un estudio transversal, retrospectivo, observacional y descriptivo, con enfoque cuantitativo.

b. Universo del estudio.

Se incluyeron reportes de patología de pacientes con biopsia de cavidad oral, cavidad nasal, nasofaringe, orofaringe y laringe con resultado de carcinoma de células escamosas, que cumplieron con los criterios de inclusión, en el periodo comprendido de enero de 2012 a diciembre de 2015.

c. Lugar de realización.

El presente proyecto de investigación se realizó en las instalaciones del departamento de anatomía patológica del Hospital Civil de Culiacán.

d. Periodo de tiempo de realización.

Se llevó a cabo en el período comprendido de agosto a septiembre de 2016.

e. Criterios de inclusión.

Biopsias de cavidad nasal, senos paranasales, cavidad oral, nasofaringe, orofaringe y laringe, con diagnóstico histopatológico de carcinoma de células escamosas.

f. Criterios de exclusión.

Muestras que no contaron con bloques de parafina (solo tenían laminillas).

g. Criterios de eliminación.

Insuficiencia del material durante el proceso.

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt, Bold, Font color: Black

h. Análisis estadístico propuesto

Se utilizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión. Analizadas en hoja de cálculo de Microsoft Excel 2016.

i. Cálculo del tamaño de muestra

Muestra no probabilística, basada en criterios, representada por 27 biopsias de las cuales no se consideraron 10 atendiendo a los criterios de exclusión.

j. Descripción general del estudio.

En los archivos del departamento de patología del Hospital Civil de Culiacán, se realizó la búsqueda de resultados histopatológicos de carcinoma escamoso de la región de cabeza y cuello (cavidad oral, mucosa nasal, nasofaringe, orofaringe y laringe), que fueron diagnosticados durante el período comprendido de enero de 2012 a diciembre de 2015. Se encontraron 27 pacientes con dicho diagnóstico, se buscaron las laminillas correspondientes, las cuales se encontraron en su totalidad, pero solo se encontraron bloques de parafina de 17 pacientes.

Se incluyeron 17 casos en el presente estudio; el número de caso fue asignado de acuerdo al orden cronológico de las biopsias. El caso 10 que corresponde a la biopsia de laringe de un masculino de 59 años de edad al momento del diagnóstico en el año 2014, presentó seguimiento en la Institución de Salud con reporte de laringectomía a los 61 años en el 2016.

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt, Font color: Black

Formatted: List Paragraph, Line spacing: 1.5 lines, Numbered + Level: 1 + Numbering Style: a, b, c, ... + Start at: 1 + Alignment: Left + Aligned at: 0.63 cm + Indent at: 1.27 cm

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

Se hizo estudio de inmunohistoquímica a los 17 casos incluyendo muestra de seguimiento. Para su realización se hicieron microarreglos con las áreas representativas de las muestras de tejidos embebidos en parafina, se tomaron secciones seriadas que fueron desparafinadas en xileno, posteriormente se introdujeron en etanol al 100 y 70%. Se realizó recuperación del epítipo por calentamiento a 110°C por 10 minutos en 10mM de citrato tamponado (pH 6.0). A los portaobjetos se les añadió el anticuerpo monoclonal de ratón anti-p16^{INK4}, clona D2516P04 (laboratorio bio-SB (también conocida como JC2)), y cromógeno diaminobenzidina (Dako), contrastado con hematoxilina.

Formatted: Superscript

Las características histológicas y la reactividad para el anticuerpo p16^{INK4} fue evaluada por dos patólogos y medida con una escala semicuantitativa, de acuerdo a Antonsson y cols. tomando en cuenta la intensidad de la tinción del núcleo y citoplasma (no tinción=0, débil=1, moderada=2, fuerte=3) y el porcentaje de células tumorales (0%=0, 1-10%=1, 11-50%=2, 51-80%=3, >80%=4).³³ Para el control positivo se utilizó muestra de citología cervical con lesión, y como control negativo se utilizaron células estromales propias de cada muestra.

Formatted: Superscript

k. Tabla de definición operacional de variables.

k.

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt, Bold

| VARIABLES | DEFINICION OPERACIONAL | TIPO DE VARIABLE | ESCALA DE MEDICION |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------|
| Edad | Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta el momento del diagnóstico. | Cuantitativa/Continua | Años |

Formatted: Numbered + Level: 1 + Numbering Style: a, b, c, ... + Start at: 1 + Alignment: Left + Aligned at: 0.63 cm + Indent at: 1.27 cm

| | | | |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sexo | Condición orgánica masculina o femenina de los seres vivos. | Cuantitativa/Nominal | Femenino (1) Masculino (2). |
| Alcoholismo | Enfermedad causada por el abuso de bebidas alcohólicas. | Cuantitativa/Nominal | Positivo (1) Negativo (2) No especificado en el expediente (3) |
| Tabaquismo | Adicción al consumo de tabaco. | Cuantitativa/Nominal | Positivo (1) Negativo (2) No especificado en el expediente (3) |
| Grado de diferenciación del Carcinoma de células escamosas | Cambios celulares específicos que se observan en histología. | Cuantitativo/Nominal | Bien (1) Moderado (2) Poco diferenciado (3) No reportado en el resultado histopatológico (4) |
| Variantes histológicas del carcinoma escamoso | Cambios celulares específicos que se observan en histología | Cuantitativa/Nominal | Queratinizante (1) No queratinizante (2) |
| Inmunomarcador p16 | Captación del anticuerpo por parte del tejido afectado con virus del papiloma humano | Cuantitativa/Nominal | Positivo (1) Negativo (2) |

1. Estandarización de instrumentos de medición

Para la interpretación del estudio de inmunohistoquímica p16 se utilizó una escala semicuantitativa de acuerdo a Antonsson y cols.³³

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt, Font color: Black

Formatted: List Paragraph, Line spacing: 1.5 lines, Numbered + Level: 1 + Numbering Style: a, b, c, ... + Start at: 1 + Alignment: Left + Aligned at: 0.63 cm + Indent at: 1.27 cm

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

| # de biopsia | Intensidad de tinción del núcleo y citoplasma de las células tumorales | | | | Porcentaje de células neoplásicas positivas | | | | |
|--------------|------------------------------------------------------------------------|--------|------------|----------|---------------------------------------------|---------|----------|----------|--------|
| | No tinción=0 | Leve=1 | Moderada=2 | Fuerte=3 | 0%=0 | 1-10%=1 | 11-50%=2 | 51-80%=3 | >80%=4 |
| 1 | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | | | |
| 10* | | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | | | |
| 18* | | | | | | | | | |

*Caso con seguimiento.

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

ASPECTOS ÉTICOS.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación del Centro de Investigación y [Docencia en](#) Ciencias de la Salud (CIDOCS) del Hospital Civil de Culiacán. La investigación corresponde a una investigación sin riesgo para el paciente, según el artículo 17 de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud de nuestro país (CAPITULO I / TITULO SEGUNDO: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos).

RECURSOS Y FINANCIAMIENTO.

Participaron en su desarrollo, médico residente de tercer año de anatomía patológica, médicos adscritos al servicio de anatomía patológica, histotecnólogos y personal administrativo. El estudio fue financiado por el Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud.

RESULTADOS.

Se incluyeron 27 pacientes con diagnóstico de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, se excluyeron 10 pacientes que no contaban con bloque de parafina.

De un total de 17 pacientes que se ingresaron al estudio, el promedio de edad fue de 62.9 años (DE \pm 15.5), con un rango de 37 a 89 años. El género predominante fue el masculino con 12 hombres (70.6%) y 5 mujeres (29.4%).

Uno de los pacientes incluidos en el estudio que fue diagnosticado en una biopsia de laringe en el 2014 presentó seguimiento con laringectomía en el 2016, al cual también se le realizó estudio de inmunohistoquímica, no encontrando positividad en ninguno de los especímenes correspondientes a dicho paciente.

La prevalencia de VPH obtenida en pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, fue del 17.64% (3/17). Las biopsias positivas para el anticuerpo p16^{INK4} corresponden a dos hombres de 53 y 89 años, y una mujer de 75 años, uno de los cuales tiene antecedente de tabaquismo y alcoholismo, y de los otros dos se desconoce el antecedente. Los sitios de las biopsias positivas son 2 de

mucosa oral y 1 de cuerda vocal. En las tablas 1 y 2 se observa el contraste entre las características clínicas, epidemiológicas y hábitos de riesgo de los pacientes.

Las características histológicas (figura 3, tabla 2) fueron tomadas de los resultados de patología, dos casos fueron reportados como bien diferenciado y uno como moderadamente diferenciado, los tres casos positivos mostraron características de queratinización en [el estudio microscópico](#) ~~la descripción microscópica~~.

La interpretación del estudio de inmunohistoquímica (figura 4, [tabla 3](#)) fueron evaluadas por dos patólogos, que concordaron en la escala de intensidad y porcentaje de células tumorales positivas, los resultados se muestran en la [\(tabla 3\)](#).

Formatted: List Paragraph, Line spacing: 1.5 lines

Tabla 1. Características clínicas, epidemiológicas e histopatológicas.

| # DE CASO | EDAD | SEXO | SITIO DEL TUMOR | GRADO DIFERENCIACIÓN DEL TUMOR | TABAQUISMO | ALCOHOLISMO | P16 |
|-----------|------|------|-----------------|--------------------------------|------------|-------------|----------|
| 1 | 63 | M | Paladar | ... | ... | ... | Negativo |
| 2 | 75 | F | Mucosa oral | Bien | ... | ... | Positivo |
| 3 | 63 | M | Cuerdas vocales | Moderadamente | Positivo | Positivo | Negativo |
| 4 | 53 | M | Mucosa oral | Bien | Positivo | Positivo | Positivo |
| 5 | 89 | M | Cuerda vocal | Moderadamente | ... | ... | Positivo |
| 6 | 55 | F | Lengua | Bien | ... | ... | Negativo |
| 7 | 83 | F | Mucosa oral | Moderadamente | ... | ... | Negativo |

| | | | | | | | |
|----|----|---|---------|---------------|----------|----------|----------|
| 8 | 37 | F | Labio | Bien | ... | ... | Negativo |
| 9 | 38 | F | Lengua | Moderadamente | Negativo | Negativo | Negativo |
| 10 | 59 | M | Laringe | Bien | Positivo | Positivo | Negativo |
| 11 | 73 | M | Nasal | Bien | ... | ... | Negativo |
| 12 | 80 | M | Laringe | Moderadamente | Positivo | Positivo | Negativo |
| 13 | 64 | M | Laringe | Bien | Positivo | Positivo | Negativo |
| 14 | 51 | M | Laringe | Moderadamente | Positivo | Positivo | Negativo |
| 15 | 67 | M | Laringe | Bien | Positivo | Positivo | Negativo |
| 16 | 43 | M | Lengua | Bien | ... | ... | Negativo |
| 17 | 77 | M | Laringe | Moderadamente | ... | ... | Negativo |

... Dato no encontrado en el expediente

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

Tabla 2. Características clínicas, epidemiológicas e histopatológicas de los casos positivos.

| # DE CASO | EDAD | SEXO | SITIO DEL TUMOR | GRADO DIFERENCIACIÓN | VARIANTE DE CARCINOMA ESCAMOSO | TABAQUISMO | ALCOHOLISMO | P16 |
|-----------|----------|------|-----------------|----------------------|--------------------------------|------------|-------------|----------|
| 2 | >60 años | F | Mucosa oral | Bien | Queratinizante | ... | ... | Positivo |
| 4 | <60 años | M | Mucosa oral | Bien | Queratinizante | Positivo | Positivo | Positivo |
| 5 | >60 años | M | Cuerda vocal | Moderadamente | Queratinizante | ... | ... | Positivo |

Formatted: Line spacing: single

... Dato no encontrado en el expediente.

Commented [mub20]: Esta aclaración a lo mejor debes hacerla en la tabla anterior también

Commented [aivf21R20]: hecho

Tabla 3. Resultados de inmunohistoquímica de los casos positivos.

| # de biopsia | Intensidad de tinción del núcleo y citoplasma de las células tumorales | | | | Porcentaje de células neoplásicas positivas | | | | |
|--------------|------------------------------------------------------------------------|---------|-------------|-----------|---------------------------------------------|---------|----------|----------|---------|
| | No tinción=0 | Leve =1 | Moderada =2 | Fuerte =3 | 0% =0 | 1-10%=1 | 11-50%=2 | 51-80%=3 | >80% =4 |
| 2 | | | | + | | | | + | |
| 4 | | | | + | | | | | + |
| 5 | | | | + | | | | | + |
| | Negativo | | | Positivo | Negativo | | | Positivo | |

DISCUSIÓN.

El Cáncer de cabeza y cuello comprende un grupo de tumores que son anatómicamente localizados en la cavidad oral, orofaringe, cavidad nasal, senos paranasales, nasofaringe, hipofaringe y laringe. La mayoría de los carcinomas de (90%) son histológicamente de células escamosas por lo que es llamado, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.³⁴

El CCECyC ocupa el sexto lugar en prevalencia a nivel mundial, con más de 600 000 nuevos casos por año,¹ México no se encuentra entre los primeros 20 lugares de mayor frecuencia en el mundo, pero sí entre los primeros 5 de América Latina, con un riesgo relativo de 7.5/100,000 habitantes y del 0.88%, aunque también se ha reportado un incremento constante en la prevalencia, principalmente en mujeres

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

menores de 40 años no consumidoras de tabaco y alcohol, muy probablemente debido a alteraciones genéticas³⁵ o bien a la infección por VPH.

La prevalencia de VPH en cáncer de cabeza y cuello a nivel mundial es de 20,6%.⁸ En nuestro estudio la prevalencia encontrada fue de 17.64%, que concuerda con la literatura. Algunos estudios reportan diferencias amplias que van desde 1-90%, probablemente debido al sitio del tumor y al tipo de método diagnóstico utilizado.^{16,33}

El CCECyC es una enfermedad heterogénea, que es resultado del abuso de tabaco y/o alcohol, o infección por virus del papiloma humano de alto riesgo.³⁴ La asociación del VPH con el carcinoma de células escamosas orofaríngeo fue sugerido a principios de 1980, en el 2009 se demostró que una gran proporción del cáncer amigdalino contenía ADN de VPH, por lo que se ha establecido que el carcinoma orofaríngeo representa un subgrupo de carcinoma de cabeza y cuello, que es etiológicamente, epidemiológicamente y clínicamente distinto, en la mayoría de los estudios el VPH16 es el principal carcinógeno (70%) de carcinomas orofaríngeos.³⁶

La asociación de VPH con otros sitios de cabeza y cuello aún no está bien establecida, en nuestro estudio los sitios anatómicos corresponden a dos casos de cavidad oral y uno de laringe, de las biopsias analizadas ninguna corresponde a carcinoma amigdalino, lo que sugiere que no es frecuente en nuestra población, sin embargo los resultados muestran que existe una asociación del VPH con carcinoma de células escamosas de cavidad oral y laringe, como sugiere Moutasim y cols.³⁸

El estándar de oro para la identificación del virus es actualmente el estudio molecular PCR que identifica el **ARN** del virus.²⁷ En nuestro estudio utilizamos inmunohistoquímica con p16 (estudio de más bajo costo), el cual es típicamente negativo en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello que no está asociado con VPH. La sobreexpresión de p16 tiene una sensibilidad aproximada al 100% para la infección por VPH de alto riesgo, pero su especificidad es baja del 72-

Commented [mub22]: O el ADN?

Commented [aivf23R22]: En los artículos más recientes dice que es el ARN más específico que la búsqueda de ADN.

Commented [mub24R22]: Ok.

82%, debido a los falsos positivos.³⁸ Por lo que se sugiere complementar posteriormente el estudio con hibridación in situ u otra técnica molecular.

La gran mayoría de los CCECyC son descritos como no queratinizantes, específicamente en orofaringe las variantes histológicas incluyen: papilar, basaloides, linfoepitelial-like, adenoescamoso, sarcomatoide y de células pequeñas.^{39,40} Aunque no se ha establecido esta misma asociación en otros sitios de cabeza y cuello. Es de esperarse que las variantes histológicas sean las mismas, sin embargo en nuestro estudio los tres casos positivos fueron variante queratinizante. Lo que se podría explicar por la complejidad de los agentes etiológicos implicados en el desarrollo de éste cáncer, uno de los casos presentó antecedente de tabaquismo y alcoholismo y en los otros dos, el dato no fue proporcionado. Por otra parte algunos autores cuestionan el papel del virus como agente causal o como espectador “pasajero” en las células neoplásicas.³⁹

El carcinoma escamoso de cabeza y cuello se ha encontrado mayormente en hombres jóvenes (<60 años) no fumadores y no bebedores. Lo que sugiere que es posible que la mucosa genital femenina produzca un mayor número de viriones de VPH que la piel y la mucosa genital masculina, así los hombres pueden ser expuestos a alta carga viral durante el cunnilingus.³⁶ ya que hay fuerte asociación entre el sexo oral y el número de compañeros durante la vida.⁴¹ En nuestro estudio un paciente fue menor de 60 años, pero no fue posible en ninguno de los tres casos asociar con inicio de vida sexual y prácticas sexuales de riesgo, ya que no fue preguntado en la historia clínica.

Finalmente el pronóstico de los pacientes VPH(+) es mejor en comparación con el grupo de pacientes VPH(-), probablemente debido a que la intensidad de la intoxicación por alcohol-tabaco suele ser menor. Sin embargo, cuando el paciente es VPH(+) y además tiene un historial de consumo de alcohol-tabaco, el pronóstico es más sombrío.^{6,42} El alcance del presente estudio no era evaluar respuesta al

Commented [mub25]: No entiendo la relación de la información ©

Commented [aiv26R25]: Tal vez lo redacte mal, pero trato de decir que aunque se realice sexo oral masculino o femenino, los hombres tienen mayor riesgo porque el virus se replica más en mucosa genital femenina que en la masculina.

Commented [mub27R25]: ok

Commented [mub28]: Llevará espacio antes del paréntesis?

Commented [aiv29R28]: si

tratamiento, pero sería importante que se realizaran este tipo de estudios en nuestra población.

CONCLUSIONES.

Los resultados confirman que el estatus de VPH es un buen biomarcador pronóstico en tumores de cabeza y cuello. Si esto se utiliza en la práctica clínica, tendría profundas implicaciones en la forma que se evalúa a los pacientes, se analizan los riesgos y beneficios para tomar decisiones terapéuticas, y se interpretan los resultados de los ensayos clínicos.

Por otra parte el uso de vacunas comerciales aprobadas por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de América (FDA) ↓ Gardasil® (Merck & Co., Inc. Estados Unidos), vacuna cuadrivalente que protege contra VPH de bajo riesgo 6 y 11 y VPH de alto riesgo 16 y 18, mientras que Cervarix® (GlaxoSmithKline, Reino Unido) de tipo bivalente ya que únicamente protege de los VPH de alto riesgo 16 y 18, ambas vacunas con altos índices de eficacia (98_% y 97

% respectivamente) en la prevención de lesiones precancerosas anales, vulvares, vaginales y cervicales, podría indicar que el uso profiláctico podría ser útil en la prevención específica en caso de infección por VPH de alto riesgo, y por ende, contribuirían en la disminución de la incidencia de CCECyC; sin embargo, aún no se tienen datos claros y relevantes sobre el impacto de este método de prevención con respecto al cáncer en las áreas mencionadas.

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. Nat Rev Cancer 2011;11:9-22.
2. Duvvuri U, Myers JN. Cancer of the head and neck is the sixth most common cancer worldwide. Curr Probl Surg 2009; 46:114-117.
3. García Cuellar ~~C~~~~M~~~~audia~~ ~~M~~, González Ramírez ~~I~~~~C~~~~m~~~~e~~~~l~~~~d~~~~a~~ ~~d~~~~e~~ ~~C~~~~a~~~~r~~~~m~~~~e~~~~n~~, Granados García ~~M~~~~M~~~~a~~~~r~~~~t~~~~i~~~~n~~. VPH y los Carcinomas de Cavidad Bucal y Bucofaringe. Cancerología 2009;4: 181-191.
4. DGE-RHNM. Compendio del Registro Histopatológico de las neoplasias en Mexico. Mortalidad y Morbilidad. 2002.
5. Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, et al. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. N Engl J Med. 2007, 357:1695-1704.
6. Piña Sánchez ~~P~~~~a~~~~t~~~~r~~~~i~~~~c~~~~i~~~~a~~, Alvarado Cabrero ~~I~~~~s~~~~a~~~~b~~~~e~~~~l~~. Infección del virus del papiloma humano como un factor de riesgo para carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. GAMO, 2012;11:175-180.
7. Miller DL, Puricelli MD, Stack MS. Virology and molecular pathogenesis of HPV (human papillomavirus) associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. Biochem J 2012;15;443(2):339-353.
8. Stein AP, Saha S, Kraininger JL, et al. Prevalence of Human Papillomavirus in Oropharyngeal Cancer: A Systematic Review. Cancer J. 2015; 21:138-146.
9. Schntz SP, Harrison LB, Hong WK. Tumors of the nasal cavity and paranasal sinuses, nasopharynx, oral cavity and oropharynx. In: Devita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer: Principles and Practice of Oncology. Philadelphia: JB Lippincott 1993:574-630.

Commented [mub30]: Revisar si después de las iniciales del nombre debe ir punto.

Commented [aiv31R30]: Algunos artículos si tienen, pero en la mayoría no, en el tipo Vancouver no dice que lleve punto.

Commented [mub32R30]: Ok.

Commented [mub33]: Solo iniciales

Commented [aiv34R33]: hecho

Formatted: Not Highlight

Formatted: Not Highlight

10. Gallegos HJF. Head and neck cancer. Prognostic factors and prevention. *Cir Ciruj* 2006;74:287-293.
11. Jarret WFH. Enviromental carcinogens and papillomaviruses in the pathogenesis of cancer. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1987;231:1-11.
12. Tomik J, Skladzien M, Konior M, et al. Analysis of patients under 45 years of age with cancer of the larynx. *Otolaryngol Pol* 2005;59:665-669.
13. Kreimer AR, Alberg AJ, Viscidi R, et al. Gender differences in sexual biomarkers and behaviors associated with human papillomavirus-16, -18, and -33 seroprevalence. *Sex Transm Dis* 2004;31:247-256.
14. Flores de la Torre CCelia, Hernández Hernández Dulce MaríaDM, Gallegos Hernández José FranciscoJF. El virus del papiloma humano como factor pronóstico en pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello. *Cir Ciruj* 2010;78:221-228.
15. Torrente A J. Mariela, Yeomans A. L. Loreto, Abud P. Maritza, et al. Relative distribution of human papiloma virus in laryngeal squamous cell carcinoma. *Rev Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* 2009; 69:87-92.
16. Bouda Martha, Gorgoulis Vassilis G., Kastrinakis Nikos G., et al, "High Risk" HPV Types Are Frequently Detected in Potentially Malignant and Malignant Oral Lesions, But Not in Normal Oral Mucosa. *Mod Pathol* 2000;13:644-653.
17. Kreimer Aimee R., Clifford Gary M., Boyle Peter, et al. Human Papillomavirus Types in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas Worldwide: A Systematic Review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:467-475.
18. Muñoz N, Bosh FX, De Sanjosé S, et al. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-527.
19. Burd E. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:1-17.
20. Howie HL, Katzenellenbogen RA, Galloway DA. Papillomavirus E6 proteins *Virology* 2009;384:324-334.

Formatted: Not Highlight

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

21. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, et al. Meta-analysis of the impact of human squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010;2:15.
22. Woolgar JA, Triantafyllou A. Pitfalls and procedures in the histopathological diagnosis of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma and a review of the role of pathology in prognosis. *Oral Oncol* 2009;45:361-385.
23. Carpenter G, Lembach KJ, Morrison MM, et al. Characterization of the binding of 125-I-labeled epidermal growth factor to human fibroblasts. *J Biol Chem* 1975;250:4297-4304.
24. Martinez I, Wang J, Hobson KF, et al. Identification of differentially expressed genes in HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer* 2007; 43:415-432.
25. Schlecht NF, Burk RD, Adrien L, et al. Gene expression profiles in HPV infected head and neck cancer. *J Pathol* 2007;213:283-293.
26. Wilting SM, Smeets SJ, Snijders PJ, et al. Genomic profiling identifies common HPV-associated chromosomal alterations in squamous cell carcinomas of cervix and head and neck. *BMC Med Genomics* 2009;2:32.
27. Molijn A, Kleter B, Quint W, Van Doorn YL. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol.* 2005;32:S43-51.
28. Zertuche Zuani J, ~~Gosé Gerardo~~, Salazar Gallegos M, ~~Michelle~~, Peña Jiménez AE, ~~Alvaro Eduardo~~, et al. Marcadores inmunohistoquímicos para virus de papiloma humano. Revisión sistemática. *Rev Sanid Milit Mex* 2013;67:205-213.
29. Schlecht ~~Nicolas-F.~~, Brandwein ~~G Gensler Margaret.~~, Nuovo ~~Gerard J.~~, et al. A comparison of clinically utilized human papillomavirus detection methods in head and neck cancer. *Modern Pathology* 2011;24:1295-1305.
30. Gillison L., Koch Wayne M., Capone ~~Randolph B.~~, Spafford ~~Michael~~, et al. Evidence for a Causal Association Between Human Papillomavirus and a Subset of Head and Neck Cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:709-720.
31. Ang KK, Sturgis EM. Human papillomavirus as a marker of the natural history and response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Semin Radiat Oncol* 2012;22:128-142.

Formatted: Not Highlight

Formatted: Not Highlight

32. Isayeva **Tatyana**, Xu **Jie**, Ragin **Camille**, et al. The protective effect of p16^{INK4a} in oral cavity carcinomas p16^{INK4a} dampens tumor invasion—integrated analysis of expression and kinomics pathways. *Modern Pathology* 2015;28:631-653.
33. Antonsson **Annika**, Neale Rachel E., Boros **Samuel**, et al. Human papillomavirus status and p16INK4A expression in patients with mucosal squamous cell carcinoma of the head and neck in Queensland, Australia. *Cancer Epidemiology* 2015;39:174–181.
34. Dok **Rüveyda**, Nuyts **Sandra**. HPV Positive Head and Neck Cancers: Molecular. Pathogenesis and Evolving Treatment Strategies. *Cancers* 2016, 8, 41.
35. **AM**, Orosco RK, Shen JP, Egloff AM, Carter H, Hofree M, et al. Multi-tiered genomic analysis of head and neck cancer ties TP53 mutation to 3p loss. *Naturegenetics*. 2014;46:936-49.
36. Powell Ned G, Evans **Mererid**. Human papillomavirus-associated head and neck cancer: oncogenic mechanisms, epidemiology and clinical behaviour. *Diagnostic Histopathology. Mini-symposium: human papillomavirus in head and neck cancers*. 2015; 21:2.
37. Helliwell **Tim**. The role of the pathologist in the multidisciplinary management of human papilloma virus-associated head and neck cancer. *Diagnostic Histopathology. Mini-symposium: human papillomavirus in head and neck cancers*. 2015; 21:2.
38. Moutasim Karwan A, Robinson **Max**, Thavaraj **Selvam**. Human papillomavirus testing in diagnostic head and neck. *Histopathology. Mini-symposium: human papillomavirus in head and neck cancers*. 2015; 21:2.
39. El-Mofty Samir K., **DMD, PhD**. Human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma variants. *Seminars in diagnostic pathology* 2015;32:23–3124.
40. Bishop **Justin**—A. Histopathology of human papillomavirus-related oropharyngeal carcinoma: a review of classic and variant forms.

Formatted: Not Highlight

Formatted: Highlight

Commented [mub35]: Los grados no se incluyen

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Histopathology. Mini-symposium: human papillomavirus in head and neck cancers. 2015; 21:2.

41. Anderson ~~Karen~~ S, Gerber ~~Jennifer~~ E., ~~Gypsyamber~~ D'Souza G, et al. Biologic predictors of serologic responses to HPV in oropharyngeal cancer: The Hotspot study. Oral Oncology 51 (2015) 751–758.
42. Gallegos-Hernández J ~~FF~~., ~~Head and neck cancer~~. Gaceta Mexicana de Oncología. 2015;14(1):1–2.

Commented [mub36]: Quizá sobre este punto después de la "j"

14.-FIGURAS.

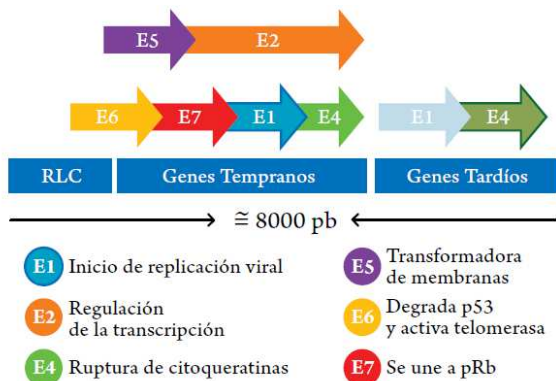


Figura 1. Genoma del VPH

Formatted: Line spacing: 1.5 lines

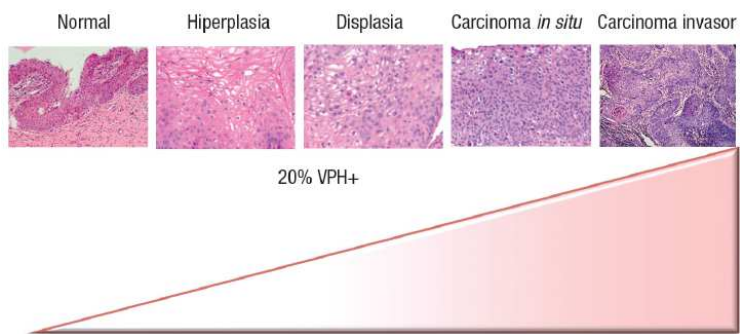


Figura 2. Espectro de lesiones escamosas asociadas a virus del papiloma humano.

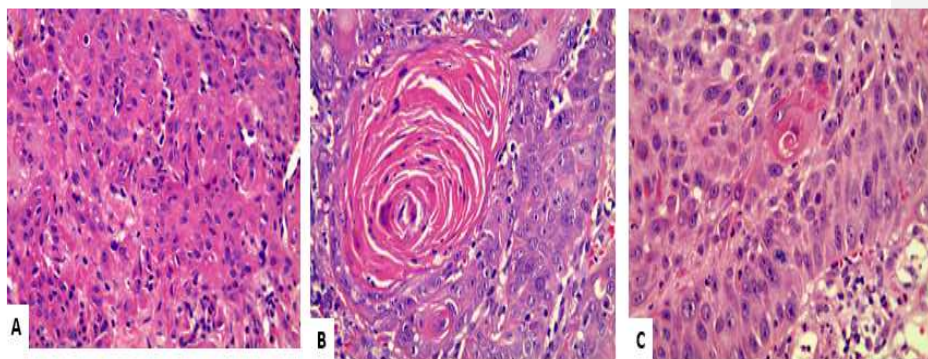


Figura 3. En A, B y C (casos 2, 4 y 5), se muestran las características queratinizantes del carcinoma escamoso.

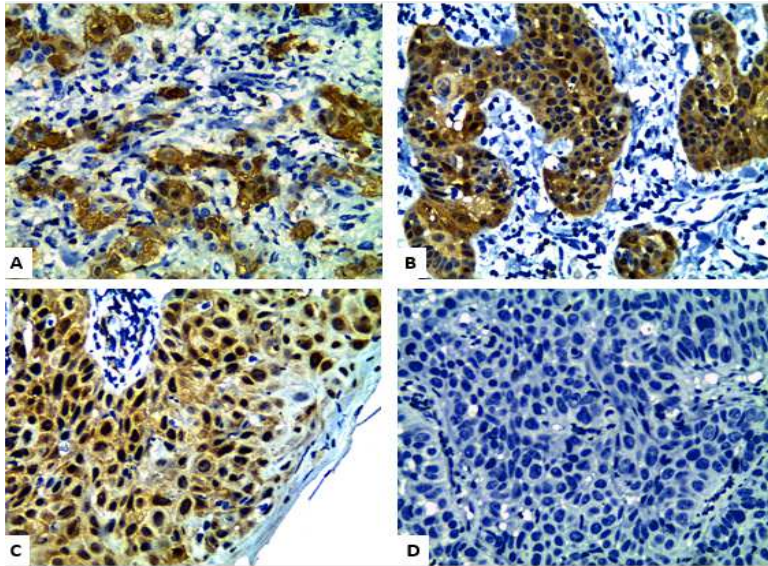


Figura 4. En A, B y C (casos 2, 4 y 5) se ilustran células tumorales con expresión nuclear y citoplásmica intensa y difusa del anticuerpo p16^{INK4a}, en contraste con un caso negativo (D).

Formatted: Superscript

Formatted: List Paragraph, Left, Line spacing: 1.5 lines

15.-ANEXOS.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

| DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN | | | | | | | |
|--------------------------------------------------------------------|------|------|-------|-------|--------|---------|-----|
| P16 EN CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO | | | | | | | |
| # BIOPSIA | EDAD | SEXO | SITIO | GRADO | TABACO | ALCOHOL | IHQ |
| | | | | | | | |

| | | | | | | | |
|----------------------|-----------|----------|---------------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1340-12 (1) | 63 | M | Paladar | ... | ... | ... | Negativo |
| 1614-12 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2700-12 (2) | 75 | F | Labio | ... | ... | ... | Positivo |
| 2815-12 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2884-12 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2993-12 (3) | 63 | M | Cuerdas vocales | Moderadamente | Positivo | Positivo | Negativo |
| 3055-12 (4) | 53 | M | Mucosa oral | ... | Positivo | Positivo | Positivo |
| 1132-13 (5) | 89 | M | Cuerda vocal | Moderadamente | ... | ... | Positivo |
| 1277-13 (6) | 55 | F | Lengua | Bien | ... | ... | Negativo |
| 2106-13 (7) | 83 | F | Mucosa oral | Moderadamente | ... | ... | Negativo |
| 3116-13 (8) | 37 | F | Labio | Bien | ... | ... | Negativo |
| 2243-13 | X | X | X | X | X | X | X |
| 359-14 | X | X | X | X | X | X | X |
| 1180-14 (9) | 38 | F | Lengua | Moderadamente | Negativo | Negativo | Negativo |
| 1823-14 (10)* | 59 | M | Laringe | Bien | Positivo | Positivo | Negativo |
| 2370-14 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2573-14 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2685-14 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2884-14 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2970-14 (11) | 73 | M | Nasal | Bien | ... | ... | Negativo |
| 535-15 (12) | 80 | M | Laringe | Moderadamente | Positivo | Positivo | Negativo |
| 763-15 (13) | 64 | M | Laringe | Bien | Positivo | Positivo | Negativo |

| | | | | | | | |
|---------------------|----|---|---------------|---------------|----------|----------|----------|
| 768-15 | X | X | X | X | X | X | X |
| 1160-15 (14) | 51 | M | Laringe | Moderadamente | Positivo | Positivo | Negativo |
| 1231-15 (15) | 67 | M | Laringe | Bien | Positivo | positivo | Negativo |
| 1453-15 | X | X | X | X | X | X | X |
| 2713-15 (16) | 43 | M | Lengua | Bien | ... | ... | Negativo |
| 2980-15 (17) | 77 | M | Laringe | Moderadamente | ... | ... | Negativo |
| 2081-16 * | 61 | M | laringectomía | Moderadamente | Positivo | positivo | Negativo |

X eliminado de acuerdo a criterios de exclusión o eliminación.

() en paréntesis el número de caso asignado de acuerdo al orden cronológico de las biopsias.

subrayados los casos positivos.

... dato no encontrado en expediente y/o reporte histopatológico.

* caso con seguimiento.

Commented [mub37]: Checa si debes anotar la palabra "Nota" para hacer estas aclaraciones al pie de la tabla.

Commented [aiv38R37]: No encontré que llevara la palabra nota.

Commented [mub39R37]: Ok.