

TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO

RELACIÓN CON EL CARCINOMA DE CAVIDAD ORAL

ALIRIO MIJARES BRIÑEZ, CARMEN SUÁREZ, ROBERTO CASTRO, ESTEBAN AGUDO, CARLOS PÉREZ, CARMEN FUENTES

HOSPITAL ONCOLÓGICO "PADRE MACHADO". CARACAS, VENEZUELA

RESUMEN

OBJETIVOS: El propósito de este trabajo es evaluar el rol del virus papiloma humano en la patogénesis de las neoplasias de cavidad oral, y demostrar que su presencia unida a otros cofactores sean los causantes de la aparición e influyan en el pronóstico de esta patología. **MÉTODOS:** Se realiza un trabajo retrospectivo en el Hospital Oncológico "Padre Machado", servicio de cabeza y cuello y el Instituto Médico La Floresta, Caracas, Venezuela, de las muestras de bloques de parafina de 72 pacientes tomadas entre los años 1996 y 2005 se utilizó estadística descriptiva para resumir datos obtenidos estimar proporciones se usó intervalos de confianza binomial y el test de Kruskal – Willis. **RESULTADOS:** El incremento de las evidencias epidemiológicas y estudios moleculares evidencian la fuerte relación existente entre el virus de papiloma humano y los carcinomas de células escamosas de la cavidad oral, en este estudio se muestra esta relación en más de medio centenar de muestras tomadas desde diciembre 1995 a noviembre 2003, su relación con distintos cofactores, como lo son los hábitos psicobiológicos del enfermo y la agresividad de las lesiones diagnosticadas. **CONCLUSIONES:** Tenemos suficientes datos epidemiológicos, demostrados en nuestro estudio y en los resultados obtenidos para establecer que un porcentaje importante de pacientes que presentan lesiones relacionadas con virus de papiloma humano, predomina la identificación del número 16, sumado a hábitos como tabaco y alcohol influyen desfavorablemente en el pronóstico de estas lesiones neoplásicas, cuando se combinan estos factores.

PALABRAS CLAVE: Virus papiloma humano, cabeza, cuello, carcinoma, células escamosas.

SUMMARY

OBJECTIVES: The purpose of this work is to evaluate the relationship of the human papilloma virus and the pathogenesis of the tumours of the oral cavity, and demonstrated his presence and other cofactors should be the causing this pathology and his influence in the prognostic factors of these type of pathology. **METHODS:** Realized a retrospective work in the Padre Machado Oncology Hospital, Head and Neck Service and in La Floresta Medical Institute. Caracas, Venezuela of the paraffin blocs of 72 patients seen between the years 1996 and 2005 we utilized a descriptive statistics to resume and to obtained dates and to estimate the proportions, and utilized the confidential binomial and the Kruskal-Willis test. **RESULTS:** The increment of the epidemic evidences and molecular studies demonstrated the strong existent relationship between the human papilloma virus and the oral cavity carcinoma, in this study shown this relation in than half hundred of samples taken from lives December 1996 to November 2003, and the relation between different cofactors added how are the tobacco and alcohol consumer, it influences in the presage of this lesions and his aggressive comported. **CONCLUSIONS:** We have enough epidemic data, to settle down that in an important percentage of the patients that present lesions related with the human papilloma virus, prevailing the identification of the number 16, added to habits like the tobacco and alcohol produce a bad influence in the prognostic of these lesions when their factors is combined.

KEY WORDS: HPV, Head, neck, squamous cell, carcinoma

Recibido: 08/01/2007 Revisado: 05/02/2007
Aceptado para publicación: 12/03/2007

Correspondencia: Dr. Alirio Mijares
Hospital Oncológico Padre Machado
Calle Alejandro Calvo Laird. El Cementerio.
Caracas, Venezuela. Teléfonos: 0212 6302110. E-mail: aliriomijaresb@cantv.net

INTRODUCCIÓN

El cáncer de cabeza y cuello es un importante problema de salud pública mundial, representando una cantidad no despreciable de pacientes que mueren anualmente padeciendo esta enfermedad. En Venezuela, representa el cáncer la segunda causa de muerte para el año 2004, según datos estadísticos del Ministerio del Poder Popular para la Salud⁽¹⁾ (Cuadro 1).

Cuadro 1. Causas de mortalidad por cáncer para el año 2004, según el anuario de estadística vital del MPPS ⁽¹⁾

Causas de muerte	%
1. Enfermedades cardíacas	21,94
2. Cáncer	15,82
3. Enfermedades cerebro vasculares	7,49
4. Suicidios y homicidios	7,15
5. Accidentes	7,15
6. Diabetes	6,44
7. Afecciones perinatales	4,48
8. Enfermedades crónicas respiratorias	2,66
9. Influenza y neumonía	2,61
10. Enfermedades del hígado	2,00

Para ese año, están reportadas en todo el país 264 muertes en hombres y 138 mujeres que padecieron cáncer de cavidad oral, labio y orofaringe. En el servicio de cabeza y cuello del Hospital Oncológico "Padre Machado", representa el 7 % de todos los motivos de consulta que se efectuaron durante el año 2005, siendo por esta razón, importante conocer un poco más acerca de esta enfermedad.

Aunque en los carcinomas del área de cabeza y cuello los estadios precoces son potencialmente curables con cirugía o radioterapia, la mayoría de los pacientes consulta con estadios avanzados de este padecimiento, donde la

combinación de modalidades terapéuticas no otorga un beneficio importante.

Sin embargo, se suma a esto que los pacientes que son tratados de cáncer en cabeza y cuello, tienen un riesgo importante de padecer un segundo primario, que puede comprometer en muchos casos su sobrevivencia. Igualmente a pesar de estos esfuerzos para el diagnóstico temprano y tratamiento, la incidencia y mortalidad de los carcinomas de cabeza y cuello no han cambiado sustancialmente con respecto a la pasada década⁽²⁾.

Una de las maneras de quizás reducir la incidencia de mortalidad asociada a estos problemas, ya sean en forma primaria o para evitar la aparición de segundos primarios, es precisamente evaluar factores involucrados en la génesis de los mismos y de alguna manera desarrollar terapias preventivas para evitar la carcinogénesis. Esta última, se origina por la desregulación de la proliferación, diferenciación y muerte celular programada, resultado de la inherencia de ciertos factores biológicos a los que se expone el tracto aéreo digestivo superior y que unido a otros cofactores como el hábito de fumar o consumo de alcohol; resulta en el desarrollo del cáncer en el área de cabeza y cuello.

Nuevos conocimientos adquiridos en los últimos años, han permitido describir la biología molecular y el comportamiento biológico de ciertos tumores producto de desarrollo de nuevas tecnologías que han explicado la carcinogénesis mediante el uso de nuevas tecnologías, permitiendo la utilización de agentes terapéuticos que en algún momento permitirán ser usados en forma de quimio prevención. Hablamos específicamente del virus del papiloma humano (VPH), su relación con la génesis tumoral en distintos órganos o sistemas y su no muy lejana prevención mediante el uso de vacunas.

El VPH es una doble cadena circular de DNA que infecta a las células basales del epitelio escamoso y existe en forma de episoma en el

núcleo de la célula infectada. Los seres humanos son sólo los afectados por el VPH, por consiguiente no se pueden realizar estudios de animales en el laboratorio⁽³⁾.

La transmisión viral es posible mediante el contacto físico directo en gran proporción y en menos a través de superficies contaminadas. El diagnóstico de infección a través de cultivo de tejido no es posible, ya que el virus se replica solamente en células epiteliales diferenciadas. Sin embargo, la infección puede ser diagnosticada mediante la presencia del DNA viral mediante el uso de técnicas de hibridización como el *Southern blot*, *dot-blot*, hibridización *in situ* y reacción de cadena de polimerasa (PCR siglas en inglés). Esta última permite la utilización de primers que son usados como control donde se conoce exactamente que tipo de virus está presente con alta sensibilidad y es el método usado en muchos estudios epidemiológicos. Sin embargo, la sensibilidad de los diferentes métodos de detección en tejidos distintos, es decir, evaluación del tejido en parafina versus tejido fresco, han complicado la interpretación y comparación de los datos existentes⁽⁴⁻⁶⁾.

Más de 70 tipos de virus han sido identificados que afectan tanto el epitelio cutáneo como el mucoso. Los tipos de VPH más frecuentes que afectan las mucosas, son clasificados como de alto riesgo (VPH 16, 18, 31 y 45), de riesgo intermedio (VPH 33, 35, 39) y de bajo riesgo (VPH 6, 11); todos estos datos basados en la asociación epidemiológica entre el cáncer y la proliferación epitelial benigna⁽⁷⁾.

Las lesiones VPH asociadas en la cavidad oral incluyen papilomas, condilomas, leucoplasia verrugosa y carcinoma. La prevalencia de VPH en los cánceres de cavidad oral varía de 31 % a 74 % en diferentes estudios^(8,9). En un estudio venezolano en niños, se observó que los casos de lesiones papilomatosas o congestión de mucosa laríngea evaluadas por nasofibro-laringoscopia indujo a realizar un total de 20

biopsias de las cuales un 40 % correspondió a lesiones por virus de VPH. En otro estudio realizado en el Hospital de Niños "JM de Los Ríos", en Caracas, el 53 % de las muestras procesadas en jóvenes se determinaron serotipos de VPH, 4 del tipo VPH 6 y 4 del tipo VPH 11⁽¹⁰⁾.

Un estudio por Schwartz y col. examinaron muestras de mucosa de cavidad oral y suero para establecer diagnóstico para el VPH # 16, en un estudio de pacientes sin lesiones comparados con pacientes con tumores de cavidad oral y sus resultados sugieren una estrecha relación entre el VPH y el cáncer (26 % en tumores vs. 9 % en los pacientes sin lesiones, seropositividad de un 35 % en controles vs. 75,5 % en casos VPH más tumor). El alcohol y consumo del tabaco aumentan el riesgo de cánceres orales asociado con VPH tipo 16. Recientes estudios examinan la asociación entre el VPH junto con mutaciones del gen p53 o del gen supresor de retinoblastoma (Rb) sugieren la asociación entre el VPH y el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello⁽¹¹⁾.

El VPH ha ganado la atención considerable en los últimos años como un posible agente etiológico en el desarrollo del carcinoma de células escamosas en cabeza y cuello. Hay identificados hasta el momento más de 200 tipos de ADN virus. Los tipos más comúnmente asociados a lesiones son el # 2 y 4 que producen verrugas en los dedos de las manos, el 1, 2 y 4 para verrugas en la región plantar, en las verrugas planas cutáneas están implicados el 3 y 10, en las verrugas genitales el # 6 y 11 y por últimos los implicados tanto en el cáncer de cuello uterino como en otros carcinomas ano genitales están descritos el 16 y 18^(12,13).

En relación con la prevalencia de la infección asintomática en la cavidad oral en adultos, se estima que esté entre un 5 % a 11 %, dependiendo de la muestra y el método diagnóstico efectuado. Los tipos de VPH tanto de bajo como de alto riesgo son detectados en similar frecuencia. La

infección por VPH es asociada en el tracto aéreo digestivo superior en lesiones benignas, incluyendo hiperplasias focales, papilomas invertidos de senos paranasales, papilomatosis juvenil y del adulto sobre todo en el tracto respiratorio. Estas lesiones usualmente son relacionadas con infección por VPH de bajo riesgo, es decir 6 y 11. La transformación maligna de lesiones asociadas a VPH de bajo riesgo es poco frecuente, pero se han descrito casos sobre todo con los papilomas invertidos⁽¹⁴⁾.

En la Figura 1, se describe el riesgo relativo que representa la infección por VPH y su relación con respecto al consumo de cigarrillos y cáncer de pulmón, se evidencia que el riesgo aumenta en forma importante con la afección de virus de hepatitis B y el carcinoma hepático en países donde la incidencia y prevalencia es alta y demostramos que la asociación de VPH y el cáncer cervical aumenta en una proporción de más de 100 veces con respecto a la línea base de referencia⁽¹⁵⁾.

La asociación del VPH y el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello datan desde 1985, cuando el ADN del VPH #16 fue el primero detectado en un carcinoma por el

método de hibridación (*Southern Blot*). Desde ese reporte inicial, la presencia del ADN viral se ha descubierto repetidamente en una proporción considerable en neoplasias de cabeza y cuello.

El VPH 6 y 11 son los subgrupos más comunes encontrados en la cavidad oral y se considera que son de bajo riesgo. Algunos reportes recientes han encontrado asociación entre la presencia de VPH de alto riesgo y el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. La incidencia de papilomas laríngeos se ubica entre 0,6 – 4 /100 000; predominantemente en adultos jóvenes, se cree proveniente de mujeres con infecciones genitales y que se las transmiten en el momento del nacimiento y el subtipo más comúnmente descrito es el VPH # 11^(16,17).

La PCR y la hibridación molecular se emplearon en nuestro país, en la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela para detectar y tipificar el VPH en 40 pacientes con lesiones clínicas y como grupo control en 20 sujetos sanos, con biopsias en mucosa bucal clínicamente normal. La amplificación de ADN de los VPH se realizó utilizando los oligonucleótidos cebadores específicos: MY09 y MY11 y para su tipificación

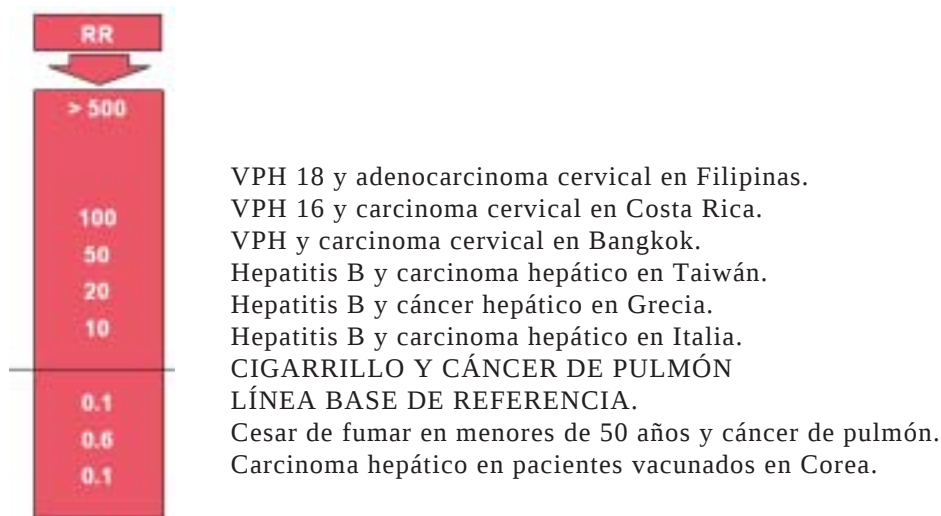


Figura 1. Riesgo infección VPH, tabaquismo, cáncer de pulmón.

se usó la hibridación en placas que incluyeron una mezcla de sondas de alto, intermedio y bajo riesgo oncogénico, como los tipos 2, 4, 6, 11, 13, 16, 18 y 32. Los resultados demostraron la presencia del genoma viral del VPH en un 55 % (22/40) de las lesiones benignas de la boca y un 10 % (2/20) del grupo control. En las lesiones benignas bucales que fueron positivas por PCR, se observó un 90,9 % (20/22) de VPH del tipo bajo riesgo y un 9,1 % (2/22) de VPH de alto y bajo riesgo oncogénico. En el grupo control se detectó un 5 % (1/20) de VPH de bajo riesgo y un 5 % (1/20) de VPH de alto y bajo riesgo oncogénico. Los resultados demostraron presencia del VPH en lesiones benignas de la cavidad bucal en la población venezolana⁽¹⁸⁾.

Es interesante señalar, que se han encontrado pacientes portadores de VPH de alto riesgo que presentan el virus con mayor probabilidad en orofaringe y menos probable en la cavidad oral. El VPH positivo en pacientes con carcinoma de orofaringe, fue encontrado probablemente en menor proporción en aquellos pacientes con hábitos tabáquicos y alcohólicos acentuados. Sin embargo, los resultados del tratamiento fueron superiores en aquellos pacientes VPH negativos⁽¹⁹⁾.

Los estudios citogenéticos han documentado numerosas alteraciones cromosómicas observadas en los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello. Sin embargo, es difícil determinar cuales de estas alteraciones genéticas son requeridas para la progresión a la malignidad. La comparación de las alteraciones genéticas que son comunes entre los diferentes grupos de individuos que desarrollan carcinomas (tanto fumadores como los que no lo son) puede revelar una serie de cambios que se ven en ambos grupos. Esto podría permitir predecir que mutaciones genéticas se presentan para el desarrollo de cáncer escamoso de cabeza y cuello sin estar presentes cofactores que induzcan a este, sobre todo en pacientes no fumadores.

Tales cambios son frecuentes en los carcino-

mas de células escamosas de cabeza y cuello y en lesiones premalignas. La frecuencia de la mutación y sobre expresión del gen p53 es estimada entre un 20 % y 80 %. La demostración de alteraciones en el p53 en lesiones premalignas contiguas en tumores de cabeza y cuello muestran un patrón de crecimiento importante o progresión histológica, sugiriendo entonces que es un marcador molecular útil en la génesis tumoral. La identificación del VPH y de las mutaciones del p53 en márgenes histológicos negativos en lesiones completamente resecadas y los hallazgos de distintos genotipos de p53 en múltiples lesiones primarias del tracto aéreo digestivo superior^(20,21), supone la posibilidad de realizar estadificaciones moleculares en tumores de cabeza y cuello, identificándolos en forma individual y su sobre expresión inicial predice la aparición de recurrencias y/o segundos primarios⁽²²⁾.

La sola presencia del VPH no es suficiente para el desarrollo de neoplasia. Los cofactores genéticos y otros ambientales parecen ser necesarios para la expresión del carcinoma invasor. La expresión de oncógenes E6-E7 del VPH #16 produce aneuploidía cromosómica, favoreciendo la integración de genomas del VPH de alto riesgo en los cromosomas de células normales⁽²³⁾.

El papel del VPH en la patogénesis ha sido objeto de muchas publicaciones en la literatura reciente. El gen de E6 del VPH envuelve al gen supresor tumoral p53 y promueve su degradación. El gen E7 del VPH produce un complejo con la proteína del Rb. La proteína del Rb es una fosfoproteína que, en la forma fosforilada, se piensa es necesaria para limitar la proliferación celular y suprimir las propiedades neoplásicas de varios tipos de VPH. Tanto el p53 como los genes del Rb juegan un papel importante en la supresión de la transformación tumoral, el compromiso e inactivación de estas proteínas celulares por los oncógenes E6 y el E7 del VPH, es uno de los

mecanismos explicados para la transformación celular producida por el VPH. Las mujeres que están infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana, son infectadas con múltiples genotipos de VPH que pueden desarrollar neoplasia intraepitelial cervical⁽²⁴⁾.

Recientes informes clínicos sugieren que la incidencia del carcinoma de amígdala en Estados Unidos se ha incrementado concomitantemente con una disminución en los hábitos de fumar, sugiriendo que existe otro factor de riesgo importante, como lo es el VPH⁽²⁵⁾.

La incidencia de papilomas laríngeos se ubica entre 0,6 – 4 /100 000; predominantemente en adultos jóvenes, se cree proveniente de mujeres con infecciones genitales y que se las transmiten en el momento del nacimiento y el subtipo más comúnmente descrito es el VPH # 11⁽²⁶⁾.

MÉTODOS

Todos los datos fueron obtenidos del archivo de historias médicas del Hospital Oncológico “Padre Machado” e Instituto Médico La Floresta en Caracas; y los bloques de parafina contentivos de las muestras del servicio de anatomía patológica de los mismos centros, de pacientes diagnosticados y tratados en el servicio de cabeza y cuello entre diciembre de 1995 y noviembre 2003. Los criterios de inclusión fueron: pacientes que presentaran diagnóstico de carcinoma de células escamosas en la cavidad oral, mayores de 18 años, fumadores; que no estén o hayan estado en tratamiento con radioterapia y quimioterapia, sin tratamiento quirúrgico previo en la cavidad oral. Dentro de los criterios de exclusión tenemos pacientes con tratamientos previos en cavidad oral con distintas modalidades: cirugía radioterapia o quimioterapia, historia de carcinoma previo en la cavidad oral, presentación simultánea con segundos y/o terceros primarios, bloques de parafina maltratadas, muestras lisadas o escasas, pacientes con enfermedades sistémicas graves

o en estado de immuno-supresión, incluyendo portadores de virus de inmunodeficiencia humana. Igualmente aquellos pacientes con datos inconclusos en la historia clínica o que no continuaron en control en nuestro centro luego del diagnóstico.

Pacientes presentan diagnóstico de carcinoma de células escamosas ya sea en el centro o referidos al hospital, donde las biopsias fueron sometidas a revisión para confirmar diagnóstico. Se usan muestras de tejidos incluidas en parafina en perfecto estado de conservación.

Se utilizan para la determinación del VPH, distintos componentes específicos, entre ellos agua para PCR, buffers, primers para establecer los controles positivos, magnesio, Taq polimerasa y se adiciona la muestra en cuestión.

La replicación de ADN para los primeros o grupos controles se realiza en forma exponencial y en 32 ciclos sucesivos se crean 1,070 millones de copias de ADN blanco, que nos permitirán la identificación adecuada en el tejido enfermo. A los distintos bloques de parafina se les realiza la extracción del ADN, el mismo es cuantificado y amplificado por PCR y luego realizando determinación bioquímica se separan los productos por electroforesis en geles de agarosa, obteniendo los resultados los cuales son expresados como lo muestra la Figura 2.

Los virus determinados en este estudio, fueron el 6, 11, 16, 18, 31, 33, y 35. Estadística descriptiva fue usada para resumir los datos obtenidos. Para estimar proporciones se usó intervalos de confianza binomial y se usó el test de Kruskal – Willis.

RESULTADOS

Se seleccionan 72 pacientes que presentan diagnóstico de carcinoma de células escamosas. Un total de 58 pacientes fueron incluidos para este estudio y el resto se excluyen ya que no reunían los criterios del protocolo, presentaban

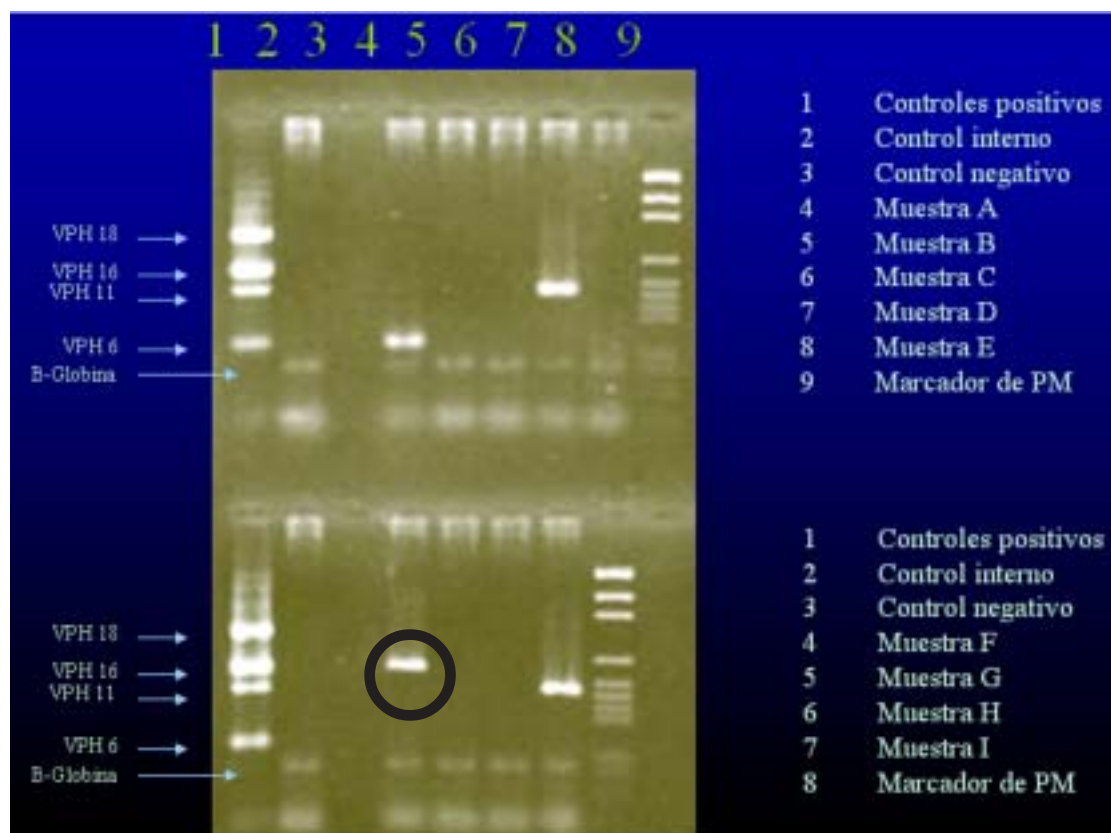


Figura 2. Resultados de VPH por PCR en el gel de agarosa: Se muestra a mano izquierda los grupos controles, es decir, aquellos los cuales son portadores de partículas de cada uno de los tipos de virus. En el círculo, la PCR mostrando positividad (barra blanca más acentuada) para el VPH 16.

diagnóstico de segundo y tercer primario simultáneos, tratamiento previo con radioterapia, datos incompletos en la historia clínica, y no seguidos en nuestro centro, después del diagnóstico.

El motivo de consulta principal fue la presencia de la masa tumoral, en 38 casos (65,51 %), masa cervical 11 (18,96 %), dolor en 5 casos (8,6 %), sangrado en 2 casos (3,44 %). El resto (3,49 %) es la combinación de todas. La localización de la lesión fue en 25 pacientes lengua móvil (43,1 %), 14 reborde alveolar (24,1 %), 8 mucosa yugal y vestíbulo (13,8 %), 7 piso de boca (12,1 %), 4 paladar (6,9 %).

La edad promedio de los pacientes fue de

59,3 años con un rango entre 26 a 83 años. Treinta y siete (63,79 %) de sexo masculino y 21 del sexo femenino (36,21 %). El estatus clínico o Karnofsky fue en promedio 85 %.

El resultado patológico fue reportado como carcinoma de células escamosas, donde en 19 pacientes (32,76 %) el grado histológico se correspondió con lesiones bien diferenciadas, 29 pacientes presentaban lesiones moderadamente diferenciadas (50 %) y en 10 pacientes (17,24 %) fueron poco diferenciadas.

Las 58 muestras fueron adecuadas para realizar el análisis de DNA del VPH y se determinó su positividad de acuerdo a la PCR descrita anteriormente. Se colocaron los

respectivos casos controles, con los primers de DNA de VPH conocidos y se identificó en 14 (24,13 %) muestras el DNA del VPH número 16. Luego de ser analizados los productos de ampliación específicos en geles de azarosa de alta resolución, no se encontró la presencia de secuencias de ADN asociadas al VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33 y 35, en el resto de las muestras examinadas.

En las 14 muestras en las cuales fue identificado el DNA para el VPH #16, en 13 de estas correspondió con el grado patológico en el estudio por hematoxilina eosina, en lesiones poco o moderadamente diferenciadas, mientras que la restante, 1 fue reportada como bien diferenciada.

DISCUSIÓN

En numerosos casos en distintas series de pacientes con cáncer de cabeza y cuello, han identificado DNA del VPH en los tumores diagnosticados. Existe suficiente evidencia que sugiere que el VPH tiene un rol preponderante en la patogénesis de algunos tipos de carcinomas de cabeza y cuello, particularmente en la cavidad oral y orofaringe⁽²⁷⁾.

El potencial de este tipo de estudio contribuye en forma importante a entender la asociación entre este patógeno y los tumores de la cavidad oral y a su vez estimula la realización de estudios de biología molecular para conocer los mecanismos de transmisión y replicación en la cavidad oral y a su vez, su interacción con otros cofactores como lo son tabaco y alcohol. Finalmente es importante conocer de manera preventiva, cual es el riesgo relativo en la población general que presenta infección por VPH, de padecer carcinoma de células escamosas de cavidad oral.

En un estudio reciente, en 93 muestras de enjuagues de cavidad oral en pacientes que presentaban carcinoma de cavidad oral y

orofaringe, la positividad obtenida para el VPH fue comparada con 205 pacientes controles, con edades similares y sexo. El DNA del VPH fue detectado en 15 % de los casos con cáncer vs. 5 % de los casos controles, pero a diferencia de estos últimos, los tipos de VPH de alto riesgo prevalecieron mayormente en los pacientes con neoplasias. En este estudio, se determinó que la posibilidad de individuos de ser infectados por VPH es 3,7 veces mayor, sobre todo si tienen hábitos de cigarrillos y alcohol⁽²⁸⁾.

En un estudio bien interesante, que relacionan las mujeres sexualmente activas con infección genital por VPH, han sido evaluadas para determinar la presencia del virus en la cavidad oral. Aunque las anomalías sugestivas de VPH en la cavidad oral, detectadas por muestras de Papanicolaou o biopsia fueron raras, el DNA del VPH estuvo presente en 16 % de 272 biopsias detectadas por el método de *Southern Blot* y un 29 % por método de PCR. En este primer estudio de su tipo, en las primeras 50 muestras consecutivas de tejidos tumorales de cavidad oral simultáneamente con muestras de citología de cuello uterino, fue determinado la presencia de VPH # 6, 11, 16 ó 18, por el método de hibridización *in situ*. Treinta y cinco tumores (70 %) fueron VPH y de estos 23 (66 %) de los especímenes de citología cervical resultaron el mismo tipo viral. Se ameritan la ejecución de otros estudios, para correlacionar los hábitos sexuales de los pacientes con carcinoma de cavidad oral, sobre todo el hecho de la realización de relaciones orales genitales y su relación con la presencia de los VPH en los genitales tanto masculinos como femeninos^(29,30).

En numerosos estudios epidemiológicos de cáncer de cuello uterino, se ha establecido que la edad precoz de las primeras relaciones sexuales junto con el número de parejas en el transcurso de la vida, aumenta en forma importante el riesgo de exposición al VPH y por consiguiente, desarrollar cáncer cervical^(30,31).

Tres estudios con casos control han sido desarrollados para establecer patrones sexuales y su relación con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y todos han coincidido que el número de parejas sexuales aumento en forma significativa el riesgo de padecer tumores de células escamosas de cabeza y cuello⁽³²⁾.

Una detallada historia de hábitos sexuales, alcohólicos y tabáquicos fue obtenida de 284 pacientes con carcinomas *in situ* o invasivos de cavidad oral y orofaringe. Fueron entrevistados 8 meses después del diagnóstico y comparados con 477 controles con edades similares y sexo. Los especímenes fueron obtenidos en las muestras de tumor en parafina y se realizó determinación del DNA viral por PCR y encontrándolo positivo en un 26 % de las muestras⁽³³⁾.

Relacionando la edad, uso de alcohol o tabaco, se revela que la precocidad sexual y más de 15 parejas sexuales fueron factores que incrementaron la presencia de tumores de células escamosas en la cavidad oral y orofaringe. Por otra parte, el número de parejas con las que tuvieron relaciones sexuales oro genitales, no aumentó el riesgo en forma significativa. Concluyen que hay evidencias epidemiológicas que la infección oral por el VPH es una enfermedad de transmisión sexual que está asociada con el riesgo de desarrollar carcinoma de células escamosas de cavidad oral⁽³⁴⁾.

Encontramos en nuestro trabajo que en un 24 % de los tumores de cavidad oral se halló el DNA del VPH y que el mismo representó en el 100 % de los casos el tipo # 16, es decir, de alto riesgo u oncogénico, ha corroborado lo que se viene describiendo desde las pasadas 2 décadas: Las proteínas virales muestran su capacidad de producir una disrupción en el ciclo celular normal de la célula escamosa, promoviendo su inestabilidad genética, lo que origina un aumento de la virulencia tumoral evidenciado clínicamente por la mediana y poca diferen-

ciación tumoral en los pacientes con positividad para el VPH # 16.

Este virus # 16 puede producir inmortalidad de los queratinocitos, tanto en el epitelio genital como en orofaríngeo, lo que genera una inestabilidad cromosómica suscitando finalmente aneuploidía, lo que es importante para mantener el fenotipo tumoral⁽²³⁾.

Hay 4 estudios epidemiológicos que han investigado la relación que existe entre la infección por VPH en pacientes fumadores y consumidores de alcohol. En un estudio de 187 casos consecutivos de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, la frecuencia de positividad en pacientes no fumadores fue mayor en comparación con pacientes fumadores (50 % vs. 8,5 %, $P = 0,003$), sugiriendo que la infección por VPH puede explicar la incidencia de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello en pacientes no fumadores⁽³⁵⁾.

En nuestro estudio, encontramos relación entre los hábitos tabáquicos, consumo de alcohol y la positividad en el tejido del DNA del VPH # 16, ya que el 75 % de los casos se correspondió con tumores moderados y poco diferenciados.

El VPH 6 y 11 son los subgrupos más comunes encontrados en la cavidad oral en muchos estudios y se considera que son de bajo riesgo⁽³⁶⁻³⁸⁾. Algunos reportes recientes han encontrado asociación entre la presencia de VPH de alto riesgo (#16) y el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, como evidenciamos en este artículo. Por eso es que quizá podemos inferir, de acuerdo a los resultados en aquellos pacientes con carcinomas de cavidad oral que son tratados en forma inicial con radioterapia y quimioterapia en otros países, que su respuesta no es similar a los resultados obtenidos en nuestros centros, donde la respuesta al tratamiento no quirúrgico no es satisfactoria. Se amerita realización de mayores ensayos clínicos para establecer si estos pacientes en nuestro país que no responden a radioterapia y quimioterapia como tratamiento

inicial, pudieran estar infectados con virus # 16, de mayor actividad oncogénica.

En conclusión, tenemos suficientes datos epidemiológicos, para establecer, que en un porcentaje importante de los pacientes que atendemos en nuestra institución, presentan lesiones relacionadas con el VPH y el hecho de encontrar que en todas ellas se identificó el DNA del virus # 16, un espécimen viral catalogado como de alto riesgo para desarrollar carcinoma en el epitelio escamoso, sumado a hábitos psicobiológicos como el tabaco y alcohol, influye en el pronóstico de estas lesiones cuando se combinan estos factores. Hay que

realizar estudios si existe esta relación entre las lesiones encontradas afectadas por el virus, y si hay afección concomitante genital en estos pacientes, al igual de establecer si en estos pacientes se puede establecer de alguna manera que la vía de transmisión fue oral genital y de que manera, con el advenimiento de nuevas tecnologías, como la ingeniería genética que produciendo vacunas, propicien la prevención de infección por VPH en pacientes asintomáticos, tanto en forma preventiva, como en aquellos que presentan positividad para la cápside viral y aún no han desarrollado neoplasias en la cavidad oral.

REFERENCIAS

1. Anuario Estadística Vital del Ministerio del Poder Popular para la Salud. 2004:3-6.
2. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer. J Clin Oncol.* 1999;49:8-31.
3. IARC. Monograph on the Evaluation of carcinogenic risks in humans. En: Human Papillomaviruses. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 1995.
4. Bello AM, Caibe G. Tipificación del virus del papiloma humano en papilomatosis laríngea recurrente juvenil. *Rev Fac Med Caracas.* 2001;24(1):62-65.
5. Ostwald C, Muller P, Barten M, Rutsatz K, Sonnenburg M, Milde-Langosch K, et al. Human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas and normal mucosa. *J Oral Pathol Med.* 1994;23:220-225.
6. Rivero CJ. Importancia de la tipificación del virus papiloma humano (VPH). *Rev Venez Oncol.* 2002;14(3):175-177.
7. Briceño DL, La Cruz LR, Fleury A, Mendible M. Aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección por virus de papiloma humano. *Centro Med.* 2002;47(1):17-23.
8. Zur Hausen H. Papillomavirus infections a major cause of human cancers. *Act Biochim Biophys.* 1996;288:F55-F78.
9. Mata M, Fermín Y, Oliver M, Rondón A. Hiperplasia epitelial focal: reporte de cuatro casos. *Dermatol Venez.* 1996; 34(1):29-32.
10. Kashima H, Kutcher M, Kessis T, Levin LS, De Villiers EM, Shah K. Human papillomavirus in squamous cell carcinoma, leukoplakia, lichen planus, and clinically normal epithelium of the oral cavity. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1990;99:55-61.
11. Arteaga I, Sánchez J, Parra Niño J, Martínez E, Meza J, Aranguren F, et al. Nasofibroscoopia en el diagnóstico de las afecciones de vías aéreas superiores del niño. *Arch Venez Pueric Pediatr.* 1997;60(1):24-27.
12. Schwartz E, Freese U, Gissman L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature.* 1985;314:111-114.
13. Munoz N, Cardis E, Teuchmann S. Comparative epidemiological aspects of ano-genital cancers. En: Monsonego J, editor. *Papillomaviruses in Human Pathology. Recent Progress in Epidermoid Precancers.* Nueva York, NY: Raven Press; 1990.p.1-2.
14. Correnti M, Uribe M, Cavazza M E, Bajares M, Bello J, Cerruti R, et al. Detección de virus papiloma humano (VPH) mediante biología molecular y su asociación con

- neoplasia cervical uterina. *Rev Venez Oncol*. 1997;9(2):76-83.
15. Caruana S, Zwiebel N, Cocker R, McCormick S, Eberle R, Lazarus P. p53 alteration and human papillomavirus infection in paranasal sinus cancer. *Cancer*. 1997;79:1320-1328.
 16. Taira AV. Evaluating human papillomavirus vaccination programs. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1915-1923.
 17. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westia WH, Wu L, 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.
 18. De Amabilis M, Michelli P, Castellanos A, La Cruz B, Suárez L, D'Angelo P. Estudio molecular de la infección por el virus papiloma humano (VPH) en pacientes atendidos en el Hospital JM de Los Ríos: tipificación y correlación clínica. *Bol Hosp Niños J M de Los Ríos*. 2002;38(3):31-38.
 19. Jiménez C, Correnti M, Salma N, Cavazza M, Perrone M. Detección del virus papiloma humano en entidades clínicas benignas de la cavidad bucal mediante la reacción en cadena de la polimerasa e hibridación molecular. *Acta Odontol Venez*. 2001;39(2):10-15.
 20. Shin DM, Lee JS, Lippman SM, Lee JJ, Tu ZN, Choi G, et al. P53 expression: Predicting recurrence and second primary tumours in head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88:519-529.
 21. Kolster Cruz, Khoury A, Castro Y, Callegari C, Kolster J. Esofagitis por virus papiloma humano en niños. *GEN*. 2001;55(2):99-103.
 22. Matos M, Golindano C, Guirola E, Wrigh H, Capozzolo N, Nishimura M. Lesiones esofágicas causadas por el virus del papiloma humano. *GEN*. 1990;44(4):377-384.
 23. Li X, Lee NK, Ye YW, Waber PG, Schweitzer C, Chang DC, et al. Allelic loss at chromosomes 3p, 8p, 13q, and 17p associated with poor prognosis in head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1994;86(20):1524-1529.
 24. Ball E. Virus papiloma humano: biología molecular, genética y mecanismo oncogénico. *Dermatol Venez*. 1999;37(1):5-10.
 25. Anhang R, Wright TC Jr, Smock L, Goldie SJ. Women's desired information about human papillomavirus. *Cancer*. 2004;100:315-320.
 26. Loning T, Ikenberg H, Becker J, Gissman I, Hoepfer I, Haussen H, et al. Analysis of oral papillomas, leukoplakias, and invasive carcinomas for human papillomavirus type related DNA. *J Invest Dermatol*. 1985;84:417-420.
 27. Dell DL, Chen H, Ahmad F, Stewart DE. Knowledge about human papillomavirus among adolescents. *Obstet Gynecol*. 2000;96:653-656.
 28. Gillison M, Koch W, Shah K. Human papillomavirus and head and neck squamous cell carcinoma: Are some head and neck cancers a sexually transmitted disease? *Curr Opin Oncol*. 1999;11:191-199.
 29. Smith E, Hoffman H, Summersgill K, Kirchner H, Turek L, Haugen T. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope*. 1998;108:1098-1103.
 30. Kellokoski J, Syrjanen S, Syrjanen K, Yliskoski M. Oral mucosal changes in women with genital HPV infection. *J Oral Pathol Med*. 1990;19:142-148.
 31. Kellokoski J, Syrjanen S, Chang F, Yliskoski M, Syrjanen K. Southern blot hybridization and PCR detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. *J Oral Pathol Med*. 1992;21:459-464.
 32. Aldana J, Somogyi L, Malpica C. Infección a virus del papiloma humano (VPH) en genitales externos masculinos de pacientes con parejas infectadas. *Gac Med Caracas*. 1990;98(3):176-181.
 33. Mack AS, Pardo JM, Bravo C, Benatui R, Noriega J, Serrano A. Tipificación del virus de papiloma humano en cáncer de pene. *Rev Venez Urol*. 2002;48(1):14-22.
 34. Schwartz S, Daling J, Doody D, Wipf G, Carter J, Madeleine M, et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90:1626-1636.
 35. IARC. Monograph on the Evaluation of carcinogenic risks to humans. En: Human Papillomaviruses, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 1995.
 36. Woodworth C, Cheng S, Simpson S, Hamacher L, Chow L, Broker T, et al. Recombinant retroviruses encoding human papillomavirus type 18 E6 and E7 genes stimulate and delay differentiation of human keratinocytes early after infection. *Oncogene*. 1992;7:619-626.
 37. Smith E, Hoffman H, Summersgill K, Kirchner H, Turek L, Haugen T. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope*. 1998;108:1098-1103.
 38. Maden C, Beckman A, Thomas D, McKnight B, Sherman K, Ashley R, et al. Human papillomaviruses, herpes simplex viruses, and the risk of oral cancer in men. *Am J Epidemiol*. 1992;135:1093-1102.