

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

ODONTOLOGÍA



TRABAJO DE FIN DE GRADO

HPV Y LESIONES DE CAVIDAD ORAL

AUTOR: JORGE MUÑOZ BALTAR

TUTOR: M ABAD HERNÁNDEZ

Salamanca, 2016

ÍNDICE

I. Resumen y palabras clave	2
II. Introducción	3
Lesiones orales relacionadas con HPV	4
Factores de riesgo.....	8
Transmisión y prevención	9
Diagnóstico.....	11
Tratamiento y pronóstico	11
III. Objetivos e hipótesis	12
IV. Material y métodos	13
Población estudiada.....	13
Genotipado de HPV	15
Análisis estadístico.....	19
V. Resultados	19
VI. Discusión	28
VII. Conclusiones	31
VIII. Bibliografía	32

RESUMEN

El cáncer de cabeza y cuello es el sexto cáncer más común a nivel global, estando reconocido el HPV como un factor de riesgo en el desarrollo del carcinoma de células escamosas con una tasa de mortalidad mayor al 50% a los 5 años. Se ha estudiado el genotipado de HPV en 73 pacientes, observando carcinomas epidermoides bien diferenciados mayoritariamente, y detectando en cavidad oral un 14,28% de positivos, de los cuales han resultado los genotipos HPV-82, 66, 61 y 16. Encontramos un único tipo de alto riesgo (16), dos tipos probablemente de alto riesgo (82 y 66) y un tipo de bajo riesgo (61). Atendiendo a la localización de las lesiones, la exploración del suelo de la boca, mucosa yugal, trígono retromolar, paladar y las amígdalas, por parte del odontólogo, es fundamental a fin de descartar lesiones malignas asociadas a HPV de forma precoz.

Palabras clave: HPV, human papillomavirus, cáncer de cabeza y cuello, cáncer oral, genotipado.

ABSTRACT

Head and neck cancer is the sixth most common cancer globally, being acknowledged the HPV as a risk factor in the development of squamous cell carcinoma, with a mortality rate higher than 50% at 5 years. HPV genotyping has been studied in 73 patients, noticing observing squamous cell carcinomas predominantly distinct, and detecting in oral cavity 14,28% positives, which have resulted HPV-82, 66, 61 and 16 genotypes. We only found a high risk type (16), two probably high-risk types (82 and 66) and a low risk type (61). Heeding the location of lesions, scanning of the floor of the mouth, buccal mucosa, retromolar trigone, palate and tonsils, by the dentist, is essential to early rule out malignant lesions associated to HPV.

Keywords: HPV, human papillomavirus, head and neck cancer, oral cancer, genotyping.

INTRODUCCIÓN

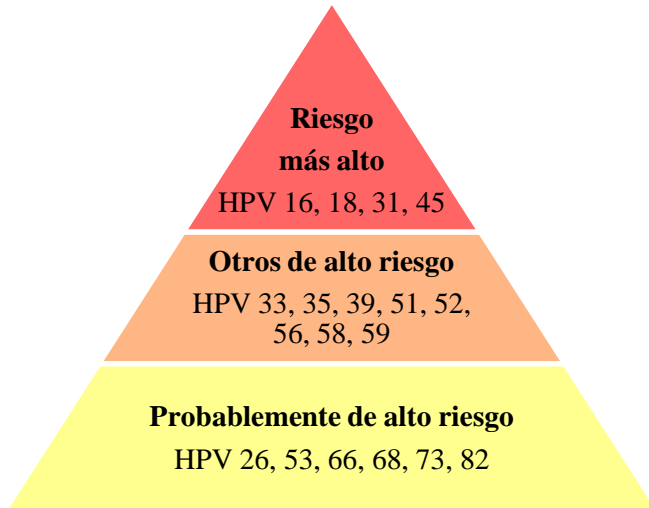
Los cánceres de cabeza y cuello conforman un amplio grupo en el que se incluyen los cánceres de cavidad oral, orofaringe, hipofaringe, laringe, tracto sinusal y nasofaringe. En su conjunto, son el sexto tipo de cáncer más común en el mundo¹, siendo aproximadamente el 90% de dichos cánceres carcinomas de células escamosas^{1,2} asociados a un pobre diagnóstico y con un rango de supervivencia a los 5 años menor del 50%³. Respecto al estilo de vida, el consumo de tabaco y alcohol son los principales factores responsables de la mayoría de los cánceres de cavidad oral, aproximadamente el 75-80% según algunos autores⁴.

El virus del papiloma humano, de sus siglas en inglés *Human Papillomavirus* (HPV), pertenece a la familia de virus *papillomaviridae*, caracterizados por su capacidad de infectar mucosa y epitelio cutáneo, e inducir proliferación celular⁵. El potencial oncogénico del HPV se debe a su capacidad para incorporar E6 y E7 en el genoma hospedador, conduciendo a la inactivación de los genes supresores de tumores p53 y p16⁶, es así, que el HPV ha sido reconocido como un factor de riesgo en el desarrollo del carcinoma de células escamosas orofaríngeo⁷.

De cualquier modo, casi todas las infecciones por HPV son transitorias, controladas por la propia respuesta inmune; solo entre el 10% y 20% se vuelven crónicas y persistentes, siendo estas las de mayor potencial oncogénico⁸.

Una revisión sistemática de HPV asociado a carcinoma de células escamosas encontró una prevalencia del 25,9%. La prevalencia fue mayor en carcinoma de células escamosas orofaríngeo (35,6%), comparada con el oral (23,5%) y el laríngeo (24%)⁹. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) dirigió en 2003 un estudio multicéntrico de casos-controles sobre cáncer oral y orofaríngeo en nueve países diferentes. Hallaron DNA de HPV en tejido biopsiado de 3,9% de cánceres de cavidad oral frente al de 18,3% en cánceres orofaríngeos. El HPV-16 fue el tipo más frecuente (89,3%)¹⁰.

Los cánceres HPV positivos se dan en un grupo de edad más joven que los cánceres HPV negativos, siendo el ratio hombre:mujer de 5:1¹¹.



En la actualidad, aproximadamente 20 tipos diferentes de HPV son considerados de alto riesgo (figura 1), y se asocian etiológicamente con cánceres de cérvix uterino, ano, vagina, vulva, pene y cabeza y cuello¹².

Figura 1: Tipos de HPV de alto riesgo

El tipo HPV-16 es el más comúnmente detectado en cavidad oral^{14,15}, siendo el tipo más prevalente a nivel global, y detectado en casi 60-80% de los cánceres de cabeza y cuello¹⁶, se encuentra además en casi el 90% de los cánceres orofaríngeos HPV positivos^{17,18}.

El HPV-18 es el segundo más frecuente en asociación, se encontró en el 34% de los carcinomas de células escamosas de cavidad oral y en el 17% de los carcinomas de células escamosas de laringe.¹⁶

Otros tipos de HPV de alto riesgo, pero de menor relevancia son el HPV-33, HPV-35, HPV-45 y HPV-58, detectados en frecuencias de 10-15% en pacientes con cáncer orofaríngeo HPV positivos^{19,20}.

Lesiones orales relacionadas con HPV

1. HPV y papiloma oral de células escamosas: El papiloma oral de células escamosas es la neoplasia epitelial benigna común de la cavidad oral; es una lesión indolora que se da en cualquier localización intraoral, pero más comúnmente en la lengua, labios, mucosa yugal y paladar duro y blando. La mayoría de los papilomas son unitarios. La lesión tipo verrucosa muestra múltiples proyecciones y tiende a ser pediculada. Si hay exceso de queratinización aparece blanca y si la queratinización es escasa suelen ser tipo frambuesa y rosadas. Los papilomas escamosos son siempre unitarios y de menos de 1cm. Clínicamente suele distinguirse de la verruga común,

que es una lesión típica de la piel y ocasionalmente de regiones queratinizadas de la mucosa oral²¹. El papiloma de células escamosas oral es causado por los HPV, siendo los tipos más prevalentemente asociados los HPV-6 y HPV-11. No se conoce que estas lesiones malignicen si se dejan sin tratar; la resección quirúrgica es el tratamiento de elección y una vez eliminadas no suelen recidivar²¹.

2. HPV y condiloma acuminado: Lesión que resulta del sexo oral o autoinoculación del virus en adultos²². La presencia de condiloma acuminado en boca de niños jóvenes puede ser debida a abusos sexuales²³. Localizaciones orales incluyen la lengua, la encía, el paladar blando y los labios, las lesiones son múltiples y confluentes, y generalmente mayores que los papilomas escamosos, se presentan sésiles, rosas o blancos con forma de coliflor. Los tipos de HPV 6, 11 y 16 se encuentran en condilomas orales²¹. La crioterapia, excisión quirúrgica, tratamiento con láser y fluoracil tópico son las modalidades de tratamiento²⁴.

3. HPV e hiperplasia focal (enfermedad de Heck): Es relativamente rara en la mucosa oral, suele darse en niños pero también en adultos jóvenes; no hay edad determinada pero el factor genético parece ser importante²⁵. Se caracteriza por lesiones múltiples del color de la mucosa normal, bien delimitadas y sésiles, con formas redondas u ovals. Se pueden dar en cualquier parte de la mucosa oral²⁶. Los tipos de HPV involucrados son el 13 y el 32²⁷.

4. HPV y verruga vulgar (*verruca vulgaris*): La aparición oral es infrecuente, mayormente en mucosa del labio inferior y el bermellón, y suele resultar de la autoinoculación del virus desde lesiones en los dedos. Las lesiones son indoloras y aparecen sésiles, papilomatosas e hiperqueratósicas exofíticas²⁸. Es causada por los HPV 2 y 4²⁴.

5. HPV y desórdenes orales potencialmente malignos: Un número significativo de cánceres orales son precedidos por cambios clínicamente visibles en la mucosa oral, en forma parcheada, roja o blanca, y crónicos²⁹.

Algunas de esas lesiones y condiciones son potencialmente malignas, la OMS publicó en 2005 unas recomendaciones para abandonar el término de lesiones premalignas y empezar a emplear el término de desórdenes orales potencialmente malignos. Basados en estas recomendaciones, la leucoplasia oral, eritroplasia, leucoplasia verrucosa proliferativa, fibrosis submucosa, liquen plano y la queilitis actínica se han encuadrado dentro de estos desórdenes orales potencialmente malignos³⁰. La prevalencia global de este tipo de desórdenes varía del 1 al 5%³¹, se ha reportado una detección significativa de HPV en algunos de los desórdenes orales potencialmente malignos; los estudios muestran rangos de prevalencia en la asociación variable³².

5.1. HPV y leucoplasia oral: Una lesión mucosa parcheada, blanca, que histológicamente muestra un grado variable de displasia epitelial puede ser considerada como una lesión potencialmente maligna. Entre el 3 y el 6% de estas displasias muestran transformación maligna³³.

Presentan una apariencia clínica variable; pueden verse como parches queratósicos, grises o blancos, y bien delimitados, con apariencia delgada, lisa, fisurada, granular o nodular. A veces puede observarse una placa mixta roja y blanca llamada eritroleucoplasia o leucoplasia moteada. Los factores de riesgo conocidos son el consumo a largo plazo de tabaco y/o alcohol, roces crónicos, reacciones electrogalvánicas (por dos materiales de restauración metálicos diferentes) y radiación ultravioleta por exposición solar. Debemos remarcar que la leucoplasia vellosa oral, inducida por EBV, que se encuentra en los bordes laterales de la lengua de pacientes infectados por HIV no es una lesión potencialmente maligna, y no debe confundirse con leucoplasias con potencial maligno que están etiológicamente asociadas con los factores de riesgo anteriormente mencionados. El HPV ha recibido una considerable atención como factor de riesgo para la leucoplasia oral. Los tipos HPV 16 y 18 se han identificado en lesiones leucoplásicas por varios investigadores con una asociación variable entre el 22 y el 25%³⁴.

5.2. HPV y leucoplasia verrucosa proliferativa: Es un tipo distinto de leucoplasia, la encía y cresta alveolar son los lugares predilectos de este tipo de lesiones que se manifiestan como hiperqueratósicas, de crecimiento lento, que tienden a propagarse y hacerse multifocales, y a desarrollarse como una lesión tipo verrucosa con el tiempo. La leucoplasia verrucosa proliferativa tiene una tasa mayor de malignización, es de etiología desconocida y se ha sugerido su asociación con HPV por algunos investigadores, que revelan un rango de asociación de hasta el 89%³⁵.

5.3. HPV y liquen plano oral: Es un desorden crónico mucocutáneo inmunológicamente mediado. A menudo involucra solo la mucosa con patrones de hiperqueratosis blanca o lesiones erosivas eritematosas. El liquen oral plano, concretamente las variantes erosivas se ha considerado como un desorden potencialmente maligno con menos del 2% de los líquenes mostrando transformaciones malignas tras un periodo de 10 años³⁶. Ostwald et al. reportaron DNA de HPV en 15,4% de las lesiones de liquen plano oral³⁷.

6. HPV y carcinoma oral de células escamosas: El carcinoma de células escamosas orofaríngeo o carcinoma epidermoide orofaríngeo, comienza en la parte media de la garganta, que incluye paladar blando, base de la lengua, amígdalas y lateral y parte posterior de la garganta. La incidencia de HPV positivos en estos cánceres varía del 25-80%, y se estima un incremento en un futuro cercano. Este aumento de incidencia se da mayormente en individuos entre los 40 y 55 años de edad, sin factores de riesgo ambientales, y está asociado con la infección persistente de HPVs de alto riesgo³⁸.

7. HPV y carcinoma oral verrucoso: Es una variante del carcinoma oral de células escamosas; se presenta como un tumor localmente agresivo de crecimiento lento, exofítico, suave e indoloro. Se han encontrado los tipos HPV 6,11,16 y 18 en asociación³⁹.

Tabla 1: Tipos de HPV asociados con patologías concretas⁴⁰

Patología		Tipos HPV más frecuentemente asociados
Verruga común		HPV 2, 4, 7; otros tipos ocasionales en inmunosuprimidos (HPV75–77)
Verruga lisa plana		HPV 3, 10, ocasionalmente HPV 26–29 y 41
Verrugas plantares		HPV 1, 2, 4
Epidermodisplasia verruciforme	Verrugas planas	HPV 3, 10
	Placas similares a pitiriasis	HPV 5, 8; menos comunes 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21–25, 36–39, 47, 49
	Carcinoma de células escamosas de piel solarmente expuesta	HPV 5, 8; menos comunes 14, 17, 20 y 47
Verrugas anogenitales	Verrugas externas	HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, 89
	Tumor de Buschke-Löwenstein	HPV 6
	Papulosis Bowenoide	HPV 16, 55
Cánceres y precánceres anogenitales	Grupo 1: Carcinogénicos para humanos	HPV 16, 18, 31, 33, 45, 51, 52
	Grupo 2A: Probablemente carcinogénicos para humanos	HPV 68
	Grupo 2B: Posiblemente carcinogénicos para humanos	HPV 26, 53, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 73, 82
Lesiones orales	Papilomas orales	HPV 2, 6, 7, 11, 16, 18, 32, 57
	Papilomas laríngeos	HPV 6, 11
	Hiperplasia focal (Enfermedad de Heck)	HPV 13, 32
	Carcinoma orofaríngeo	HPV16 predominantemente, 18

Factores de Riesgo

La teoría vigente mantiene que la carcinogénesis oral, involucra la interacción de diversos factores de riesgo como son la edad, el género, la raza, el estilo de vida, la base genética y la exposición a agentes carcinogénicos⁴¹.

Cerca del 75% de los cánceres orales se han atribuido al consumo de alcohol y tabaco³³, sin embargo, del 15 al 20% de los cánceres de cabeza y cuello no tienen

exposición conocida a estos dos agentes clásicos⁴². No obstante, aunque las evidencias más recientes muestran unos rangos reducidos de alcohol y tabaco asociados a HPV, la incidencia general de cánceres orofaríngeos, particularmente en la base de la lengua y amígdalas, está aumentando⁴³. Ante estos descubrimientos, el HPV ha recibido especial atención en los últimos años⁴⁴, respaldándose su rol en cáncer oral por los hallazgos del HPV en el tejido tumoral⁴⁵.

La infección oral por tipos de HPV de alto riesgo, se ha encontrado asociada con un incremento significativo en el riesgo de desarrollar cáncer orofaríngeo, cuando se ajusta el consumo de tabaco y alcohol⁴⁶.

Los investigadores coinciden en que el HPV-16 es el tipo más común en cánceres de cavidad oral y orofaringe¹⁰. Así pues, los pacientes seropositivos a la proteína de cápsida viral del HPV-16, tienen de dos a tres veces más riesgo de padecer carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello según ciertas investigaciones¹⁰. Tiene especial relevancia esta asociación entre cáncer oral y el HPV-16 en cánceres de base de la lengua, región amigdalara y, posiblemente, en pacientes más jóvenes que no tienen historial de exposición a tabaco y alcohol⁴⁷.

Transmisión y prevención

Las infecciones por HPV son principalmente transmitidas sexualmente y representan la infección de transmisión sexual más común a nivel mundial⁴⁸. La infección concretamente oral por HPV, está fuertemente asociada con el debut sexual temprano, múltiples compañeros sexuales y sexo oral⁴⁹. Sin embargo, en la actualidad no hay evidencias para sugerir que el virus se transmita mediante la saliva según algunos autores⁵⁰.

Otros factores asociados con riesgo elevado de infección oral por HPV incluyen: género masculino, historia de otras enfermedades de transmisión sexual, infección por VIH e inmunosupresión severa⁵¹. Aunque ocasionalmente el HPV también puede transmitirse verticalmente, mediante fómites y contacto con la piel, no son la forma natural de transmisión⁵².

Pese a que las razones no están claras, varios estudios demuestran que los hombres tienen de 2 a 3 veces más riesgo de infectarse con HPV oral que las mujeres; actualmente estas diferencias de género no pueden explicarse por diferencias en el comportamiento sexual⁴⁹. En el varón la infección se produce, como en las mujeres, con el inicio de las relaciones sexuales, cada vez a edades más tempranas de la vida. Al ser la mayoría de los hombres asintomáticos, se cree que el varón tiene un papel importante en la transmisión del HPV⁵³.

Se sabe que el HPV puede contaminar la cavidad oral de individuos sanos; la mucosa oral en condiciones normales, podría actuar como reservorio para nuevas infecciones de HPV y/o como origen de recidivas de lesiones asociadas a HPV. La prevalencia del HPV en mucosa oral normal está en el intervalo del 0,6 al 81%^{50,54}. El rango de detección en mucosa oral normal depende de la recogida de la muestra (raspados, biopsias o saliva) y del tipo de métodos empleados en la detección⁵⁵.

Mientras que la prevalencia de infecciones orales por HPV es de 5 a 10 veces menor que la infección genital, la transmisión de ambas está altamente relacionada con la actividad sexual⁵⁶. Los historiales de sexo oral se asocian más fuertemente con el riesgo de tumores HPV positivos comparado con el sexo vaginal¹⁰. Como hemos mencionado anteriormente, los tipos HPV-16 y HPV-18 prevalecen como los agentes causantes en la mayoría de cánceres asociados a HPV¹².

La vacunación es uno de los métodos para la prevención del HPV, existiendo actualmente dos vacunas disponibles: la vacuna HPV 16/18 Cervarix (GlaxoSmithKline) y la vacuna HPV 6/11/16/18 Gardasil (Merck and Co. Inc.). El comité consultivo sobre técnicas de inmunización (ACIP) ha recomendado la vacunación para HPV en mujeres y hombres entre 11 y 12 años, como pronto a los 9 y dosis de refuerzo hasta los 26 años para las mujeres y hasta los 21 años para los hombres. La protección debe durar al menos dos décadas y los estudios en curso no han mostrado detrimento de anticuerpos sistémicos a los 8 años tras la vacunación⁵⁷.

Según un estudio realizado en ratones en 2013, Paolini y cols. no encontraron datos sobre la eficacia de estas dos vacunas en la prevención de lesiones asociadas a HPV en carcinomas de cabeza y cuello⁵⁸.

Diagnóstico

El diagnóstico de HPV asociado a carcinomas de células escamosas se debe considerar en cánceres de cavidad oral y de orofaringe, especialmente los localizados en zonas palatina y lingual. Además los pacientes jóvenes, no fumadores (ni fumadores de tabaco), no bebedores y huéspedes inmunocomprometidos se consideran un grupo altamente sospechoso de padecer cánceres HPV positivos orofaríngeos y de cavidad oral^{59,60}.

Existen diferentes métodos y pruebas disponibles para la detección de HPV: pueden basarse en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación con sondas específicamente marcadas, hibridación in situ (ISH) o cualquier combinación de las anteriores⁶¹⁻⁶³. Otra prueba estándar para la detección del DNA del HPV ha sido la hibridación Southern Blot (SBH)⁶⁴.

Tratamiento y pronóstico

El cáncer de cabeza y cuello asociado a HPV, especialmente el orofaríngeo, manifiesta diferencias clínicas y biológicas en comparación con los HPV negativos. En la mayoría de estudios, los pacientes con tumores orofaríngeos HPV positivos han mostrado un mejor pronóstico comparados con los pacientes con tumores negativos a HPV^{59,65}, hasta una reducción de la mortalidad del 60-80%, resultado reforzado en múltiples ensayos⁶⁶, si bien no hay evidencias para indicar un tratamiento diferente respecto de otros cánceres ubicados en esta área. Los cánceres HPV positivos de cavidad oral y orofaringe requieren enfoques específicos y la aplicación de algoritmos y esquemas de tratamiento adecuados.⁶⁷

Para pacientes HPV positivos en un estadio temprano, una única modalidad de tratamiento mediante cirugía o radiación es suficiente. La radioterapia es el tratamiento más comúnmente usado, pero la cirugía es preferible en determinados casos; las técnicas mínimamente invasivas como la microcirugía láser transoral y la cirugía robótica transoral se han usado en cánceres orofaríngeos tempranos cuidadosamente seleccionados, con excelentes resultados oncológicos y funcionales⁶⁸. Para cánceres localizados avanzados, la cirugía podría combinarse con

radioterapia coadyuvante, especialmente ante la existencia de factores de riesgo concomitantes⁶⁹.

Una constante en los estudios que utilizaron radioterapia, es que el principal beneficio de los tumores HPV positivos es la mejora en el control local y regional. Además también se han observado pequeñas mejoras en las tasas de metástasis⁶⁶.

En la literatura vigente, los cánceres HPV positivos de orofaringe y cavidad oral, parecen ser más sensibles a la quimioterapia que los tumores negativos para HPV⁷⁰. El tratamiento para la supervivencia de pacientes con metástasis lejanas siempre ha sido un reto y la quimioterapia sistémica ha mostrado un descenso en el riesgo de metástasis distantes asociadas a carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello⁷¹.

Las mejoras observadas en el pronóstico de los pacientes HPV positivos son, actualmente, aparentemente independientes del tratamiento empleado. Hasta que se recojan suficientes datos estos pacientes deberán ser tratados usando los procedimientos estándar, si bien estas mejoras abren la posibilidad de poder reducir la intensidad del tratamiento en un futuro mientras se mantenga un adecuado control tumoral¹³.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Dada la importancia del carcinoma epidermoide, que conforma el 90% de los carcinomas de cabeza y cuello, y siendo este tipo de carcinomas el sexto más común a nivel global, con una mortalidad elevada (50% a los 5 años), no se conoce su impacto real en nuestro medio. La infección por papilomavirus en el desarrollo de los tumores y su potencial oncogénico guardan estrecha relación con este tipo de carcinoma en concreto.

Los objetivos de este trabajo han sido estudiar, en la población salmantina, la incidencia de carcinoma epidermoide de cavidad oral, sus características histopatológicas y su posible asociación con el virus del papilloma humano (HPV) mediante a la vez que se realiza una revisión bibliográfica de la literatura al respecto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población estudiada

Todos los datos clínico-patológicos han sido recogidos de manera retrospectiva del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, desde enero del 2003 hasta diciembre de 2014, ambos inclusive.

Se tomaron y seleccionaron las muestras almacenadas, incluidas en parafina, de pacientes con carcinomas epidermoides de cavidad oral y tumores agresivos que, originados en orofaringe, infiltraron posteriormente la cavidad oral.

Cavidad oral	Orofaringe
a. Yugal (mucosa)	a. Paladar blando (velo del paladar)
b. Reborde alveolar	b. Base de la lengua
c. Trígono	c. Amígdala
d. Suelo de la boca	
e. Paladar duro	
f. Lengua	

Tabla 2: Localizaciones pertenecientes a cavidad oral y orofaringe

En el análisis de datos se incluyeron los siguientes criterios anatomopatológicos: localización, tamaño, grado histológico, infiltración tumoral (pT), número de ganglios analizados y metastásicos (pN).

El grado histológico se realizó en función de la clasificación histológica de la OMS:

- Grado 1: bien diferenciado
- Grado 2: Moderadamente diferenciado
- Grado 3: Pobremente diferenciado
- Grado X: no se puede evaluar

El grado pTNM también fue clasificado según la clasificación de la OMS del 2010, 7ª edición de la siguiente forma para cavidad oral:

- Tumor primario:
 - TX: No puede evaluarse
 - T0: No hay evidencia de tumor primario
 - Tis: Carcinoma in situ
 - T1: Tumor de 2 cm o menos en su mayor dimensión
 - T2: Tumor de más de 2 cm pero no más de 4 cm en su mayor dimensión
 - T3: Tumor de más de 4 cm en su mayor dimensión
 - T4a: enfermedad local moderadamente avanzada
 - El tumor invade las estructuras adyacentes (por ejemplo, a través del hueso cortical [mandíbula, maxilar], en el músculo profundo [extrínseco] de la lengua [geniogloso, hiogloso, palatogloso y estilogloso], seno maxilar, la piel de la cara)
 - T4b: enfermedad local muy avanzada
 - El tumor invade el espacio masticatorio, las placas pterigoideas, o la base del cráneo, y / o envuelve la arteria carótida interna
- Ganglios linfáticos regionales:
 - NX: No pueden evaluarse
 - N0: No hay metástasis a los ganglios linfáticos regionales
 - N1: Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, 3 cm o menos en su mayor dimensión
 - N2a: Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, más de 3 cm pero no más de 6 cm en su mayor dimensión

- N2b: metástasis en ganglios linfáticos ipsilaterales múltiples, ninguno más de 6 cm en su mayor dimensión
- N2c: Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno más de 6 cm en su mayor dimensión
- N3: Metástasis en un ganglio linfático más de 6 cm en su mayor dimensión
- Superior ganglios linfáticos del mediastino se consideran ganglios linfáticos regionales (nivel VII)
- los nodos de la línea media se consideran ganglios ipsilaterales
- Metástasis a distancia:
 - M0: No hay metástasis a distancia
 - M1: Metástasis a distancia

Genotipado de HPV

Se ha estudiado el genotipado de HPV de 69 pacientes, a partir de material histológico embebido en parafina de pacientes que, de forma consecutiva, fueron diagnosticados de carcinoma epidermoide de cavidad oral, habiendo sido excluidas las lesiones pertenecientes a laringe y orofaringe, tomándose lesiones de orofaringe en casos de tumores muy agresivos que hayan afectado posteriormente cavidad oral. Se tomaron 4 casos control para la técnica de lesiones no tumorales infectadas por HPV.

1. Selección del material

El estudio de HPV ha sido realizado en material embebido en parafina almacenado en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario de Salamanca. La inclusión de la muestra en parafina se realizó mediante procesador automático.

Todas las muestras tumorales de carcinomas epidermoides han sido evaluadas mediante tinción hematoxilina/eosina para determinar el porcentaje de células

tumorales de la muestra y la presencia de tejido necrosado. Según este porcentaje se tomaron secciones de diferente grosor, de la siguiente manera:

- Porcentajes menores de 50% de células tumorales y área pequeña, se tomaron 6 secciones de 10 μ m.
- Porcentajes mayores de 50% y área grande, se tomaron de 2 a 4 secciones de 10 μ m.
- En los casos que tenían gran cantidad de tejido, indistintamente del porcentaje tumoral, se cortó 1 sección de 10 μ m.
- En los casos de biopsia endoscópica se cortaron 10 secciones de 10 μ m.

2. Extracción del DNA

2.1 Todos los cortes de cada muestra fueron incluidos en tubos de 1,5ml y procesados para extracción de ADN utilizando el kit DNeasy^R (Qiagen) en la plataforma QIAcube^R (figura 2A).

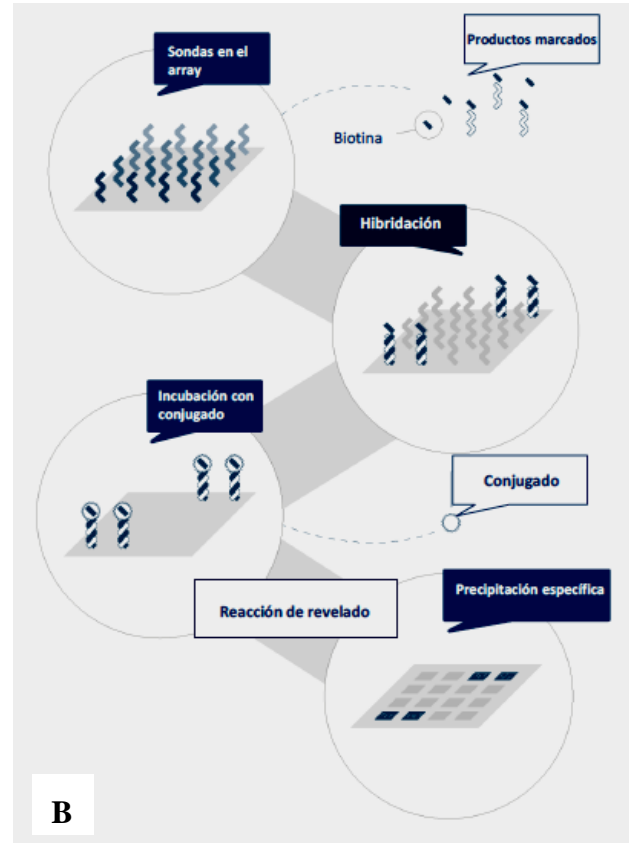
2.2 Posteriormente se realiza la amplificación del ADN mediante PCR con los reactivos suministrados con el kit ClartCMA^R.

2.3 A continuación procedemos a la hibridación de los productos amplificados (marcados con biotina), con sus respectivas sondas específicas que están inmovilizadas en zonas concretas y conocidas del microarray, tras lo que se incuba con un conjugado de estreptavidina-peroxidasa. El conjugado se une a través de la estreptavidina con la biotina presente en los productos amplificados y la actividad peroxidasa provoca la aparición de un producto insoluble en presencia del sustrato TMB (3, 3', 5, 5'-tetrametilbinzidina), que precipita sobre las zonas del microarray en las que ocurre la hibridación (Figura 2B).



A

Figura 2A: plataforma QUIAcube[®].
Figura 2B: hibridación en microarray de baja densidad[®].



B

2.4 Visualización y lectura de las tiras en el dispositivo CAR[®] (Figura 3: CAR) y procesamiento de la imagen con el software SAICLART[®] para la identificación de 35 virus PVH humanos con mayor importancia clínica (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 85 y 89). Kit y plataforma CLART[®] Papillomavirus humano 2 CLINICAL ARRAYS[®] Papillomavirus Humano (Genómica).



Figura 3: Clinical Array Reader[®]

Resultados		Código: 50208
CLART® HPV2		Rev. Bsc.10
Referencia del test:	647	
Array ID:	000000050208 (E1)	
Fecha y hora:	Wed Apr 13 13:01:32 2016	

Virus (Alto riesgo)	Resultado	Controles	Señal	Señal norm.
Tipo 16	POSITIVO	Conforme	0.6845	0.8462
Tipo 18	Negativo	Conforme	-0.0007	-0.0009
Tipo 31	Negativo	Conforme	-0.0004	-0.0005
Tipo 33	Negativo	Conforme	0.0011	0.0013
Tipo 35	Negativo	Conforme	-0.0001	-0.0002
Tipo 39	Negativo	Conforme	-0.0003	-0.0004
Tipo 45	Negativo	Conforme	-0.0018	-0.0022
Tipo 51	Negativo	Conforme	-0.0016	-0.0020
Tipo 52	Negativo	Conforme	-0.0011	-0.0013
Tipo 56	Negativo	Conforme	-0.0009	-0.0011
Tipo 58	Negativo	Conforme	-0.0006	-0.0007
Tipo 59	Negativo	Conforme	-0.0009	-0.0012
Tipo 66	Negativo	Conforme	-0.0007	-0.0008
Tipo 68	Negativo	Conforme	-0.0018	-0.0022

Virus (Prob. alto riesgo)	Resultado	Controles	Señal	Señal norm.
Tipo 26	Negativo	Conforme	-0.0035	-0.0043
Tipo 53	Negativo	Conforme	-0.0010	-0.0012
Tipo 73	Negativo	Conforme	-0.0004	-0.0005
Tipo 82	Negativo	Conforme	-0.0004	-0.0004

Virus (Bajo riesgo)	Resultado	Controles	Señal	Señal norm.
Tipo 6	Negativo	Conforme	-0.0006	-0.0008
Tipo 11	Negativo	Conforme	0.0008	0.0010
Tipo 40	Negativo	Conforme	0.0669	0.0827
Tipo 42	Negativo	Conforme	-0.0014	-0.0017
Tipo 43	Negativo	Conforme	-0.0013	-0.0016
Tipo 44	Negativo	Conforme	-0.0003	-0.0004
Tipo 54	Negativo	Conforme	-0.0009	-0.0012
Tipo 61	Negativo	Conforme	0.0005	0.0006
Tipo 62	Negativo	Conforme	-0.0005	-0.0006
Tipo 70	Negativo	Conforme	-0.0003	-0.0003
Tipo 71	Negativo	Conforme	-0.0000	-0.0000
Tipo 72	Negativo	Conforme	-0.0000	-0.0000
Tipo 81	Negativo	Conforme	0.0001	0.0001
Tipo 83	Negativo	Conforme	-0.0001	-0.0001
Tipo 84	Negativo	Conforme	0.0005	0.0006
Tipo 85	Negativo	Conforme	-0.0008	-0.0009
Tipo 89	Negativo	Conforme	-0.0000	-0.0000

Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F et al. A review of human carcinogens -- Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10(4):321-322



Figura 4: Visualización de los resultados

Se realiza el control de la técnica con 4 lesiones que presentan infección por HPV, incluso infecciones múltiples (papilomas escamosos y papilomatosis).

Análisis estadístico

Todos los datos de interés fueron recogidos y almacenados en soporte informático SPSS versión 18.0. Chicago, IL, USA para su posterior análisis estadístico. Este análisis incluyó en primer lugar un análisis descriptivo de los datos recogidos con frecuencias absolutas y medias.

RESULTADOS

El estudio (tabla 3) se ha realizado en 73 pacientes, de los cuales 61 carcinomas orales, 8 carcinomas inicialmente orofaríngeos y 4 controles. De la muestra que ha podido ser analizada, es decir, con DNA, 32 mostraban carcinomas epidermoides de cavidad oral, 3 carcinomas epidermoides originalmente orofaríngeos y 4 casos control para la técnica de lesiones benignas relativas a HPV. El **rango de edades para carcinomas** oscila entre los 39 y los 98 años, siendo la media para los carcinomas de 53 años; 46 de ellos fueron hombres (66,66%) y 23 mujeres (33,33%), en proporción 2:1.

Respecto a la **toma de las muestras**, 64 fueron de tipo endoscópico, mientras que las 9 restantes han sido recogidas en piezas con diferentes técnicas: resecciones en bloque, pelviglosectomías, perfangostomías, mandibulectomías segmentarias y resecciones en cuña entre otras, y en estos casos fue posible conocer pT en 5 casos y en 5 se realizó vaciamiento pudiendo conocer el pN, con lo siguientes resultados:

1. pT4a, pN0
2. pT1, pN0
3. pT2, NxMX
4. pT4a, pN1
5. pT3, N0 MX

5 Pacientes tenían antecedentes de carcinoma epidermoide previo, siendo tratado uno de los pacientes con cirugía y radioterapia, otro con radioterapia y el resto no especificados. Ninguno de ellos ha sido positivo para HPV.

La localización de las lesiones varía ampliamente (figura 5), encontrándose 24 con localización no especificada (indicando solo cavidad oral), 12 en suelo de la boca, 7 en mucosa, 6 en zona yugal, 6 en trígono retromolar, 4 en paladar, 3 en base de la lengua, 2 en velo del paladar, 2 en amígdala, 1 en la lengua, 1 en surco amigdalogloso y 1 en cresta alveolar.

Localización de las lesiones

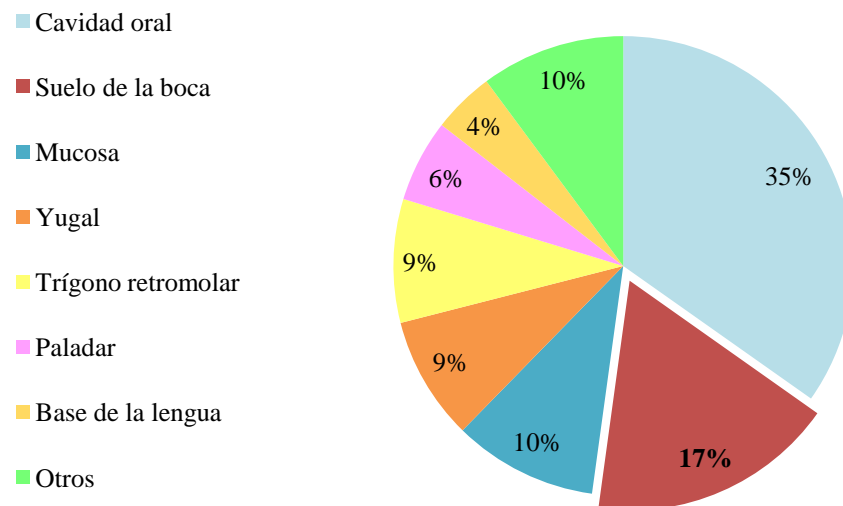


Figura 5: Localización de los carcinomas epidermoides

Histológicamente, del total de las 73 lesiones analizadas, prescindiendo de los controles, 69 corresponden a carcinomas epidermoides, de los cuales dos surgen sobre papilomas escamosos y tres son variantes verrucosas, no siendo ninguna de las anteriores positiva para HPV.

Respecto al **grado de diferenciación** de los carcinomas encontramos tumores bien diferenciados en 21 casos, moderadamente diferenciados en 9 y pobremente diferenciado en 7, no siendo posible evaluar el grado de diferenciación en 32 pacientes debido a la escasez del material o toma poco representativa.

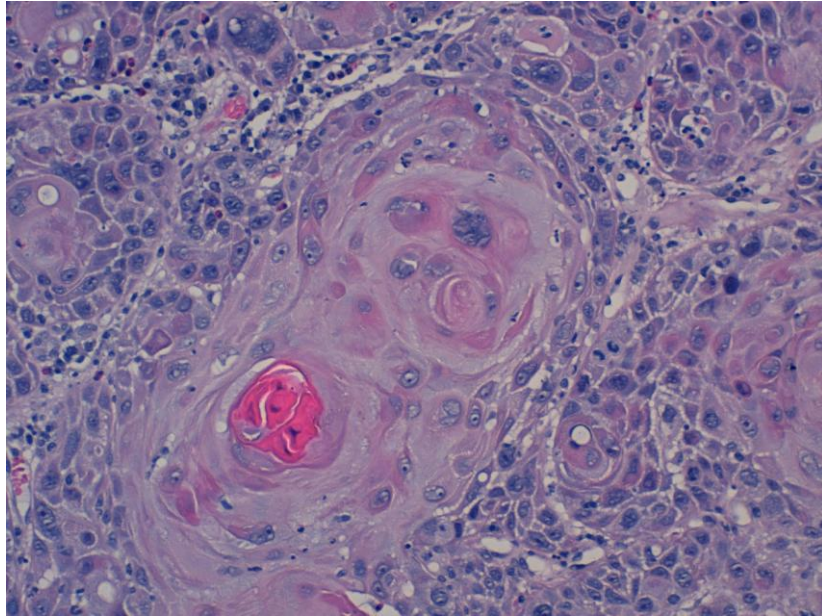


Figura 6: Carcinoma epidermoide bien diferenciado; se observan células tumorales dispuestas en nidos y cordones. Las células presentan amplio citoplasma eosinófilo, con evidentes puentes intercelulares y un globo córneo. (HE 400x).

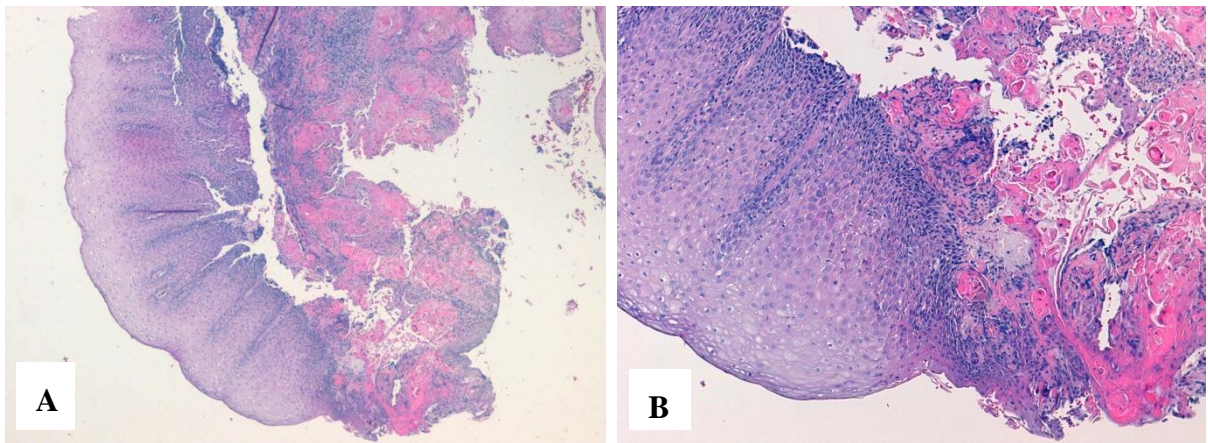


Figura 7: Zona de transición entre Carcinoma epidermoide y el epitelio poliestratificado normal; apréciase cómo el tumor adyacente (a la derecha) destruye el epitelio y lo sustituye, infiltrando la zona subepitelial. (A: HE 40x) (B: HE 200x).

Genotipado de HPV

Se tomaron 4 casos control para la técnica: una papilomatosis, un papiloma escamoso y dos hiperplasias mucosas papilares con queratosis paraqueratósica (displasia coilocítica).

Prescindiendo de los controles (69 casos), en 34 casos el lector automático no identificó DNA (sin DNA) por material defectuoso para la técnica empleada por DNA fragmentado (49,3%), 30 casos negativos para HPV (43,5%) y 5 casos positivos para carcinomas epidermoides (7,2%).

Del total de la muestra que ha podido ser analizada, prescindiendo de los controles (4) y los casos sin DNA (34 casos), dividimos la muestra en función de la localización en carcinomas de cavidad oral (32 casos) y carcinomas originalmente orofaríngeos que posteriormente infiltraron cavidad oral (3 casos):

Carcinomas de cavidad oral

- **Sexo:** 18 hombres y 14 mujeres, de los cuales fueron positivos para HPV dos hombres y dos mujeres (50%).
- **Localización de las lesiones:** 16 en cavidad oral (no especificada), 5 en trígono retromolar, 3 en mucosa yugal, 3 en paladar, 2 en mucosa y 3 en suelo de la boca. De los positivos para HPV 3 se dieron en cavidad oral (75% no especificadas) y una en el suelo de la boca (25%).
- **Grado de diferenciación:** 16 no especificados, 9 bien diferenciados, 4 moderadamente diferenciados y 3 pobremente diferenciados. De los positivos para HPV, un carcinoma epidermoide bien diferenciado, uno moderadamente diferenciado y dos pobremente diferenciados (50%).
- **Genotipo HPV:** Del total de 32 casos (figura 8), 28 han sido negativos para HPV (85,72%) y 4 han sido positivos (14,28%). De los positivos han resultado los genotipos HPV-82, 66, 61 y 16. Encontramos un único tipo de alto riesgo (16), dos tipos probablemente de alto riesgo (82 y 66) y un tipo de bajo riesgo (61).

Resumiendo, los carcinomas de cavidad oral HPV positivos representan el 14,28% de los casos, siendo los genotipos HPV detectados:

- 16: en el 25% de los casos, de alto riesgo, en cavidad oral (no especificada) de un hombre de 67 años y con un grado de diferenciación pobre.
- 82: en el 25% de los casos, probablemente de alto riesgo, en suelo de la boca de un hombre de 61 años y bien diferenciado.
- 66: en el 25% de los casos, probablemente de alto riesgo, en cavidad oral (no especificada) de una mujer de 92 años y con un moderado grado de diferenciación.
- 61: en el 25% de los casos, de bajo riesgo, en cavidad oral (no especificada) de una mujer de 44 años y con un grado histológico pobremente diferenciado.

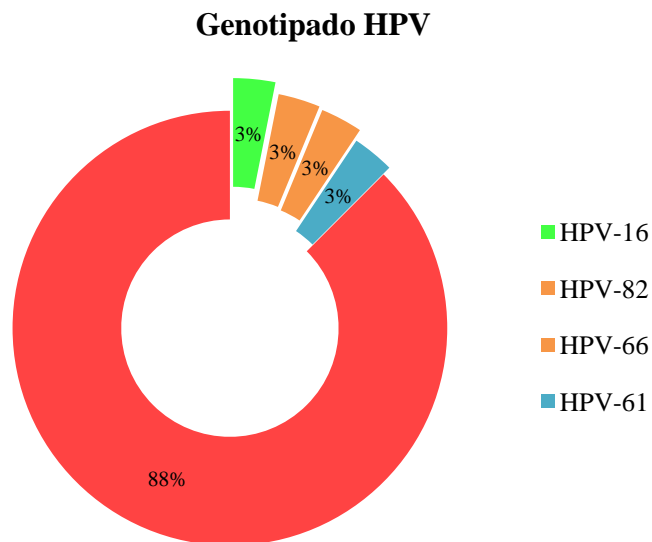


Figura 8: Genotipado HPV en cavidad oral

Carcinomas orofaríngeos

- **Sexo:** 1 hombre y 2 mujeres, de los cuales fue positivo para HPV el hombre, ratio hombre:mujer 1:0.
- **Localización de las lesiones:** 2 en base de la lengua y 1 en amígdala, siendo positiva para HPV la amígdala.
- **Grado de diferenciación:** 1 no especificados, 1 pobremente diferenciado y 1 bien diferenciado, siendo positivo para HPV el carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.
- **Genotipo HPV:** Del total de 3, 2 han sido negativos para HPV (66,6%) y 1 ha sido positivo (33,33%). El genotipo del positivo ha sido el HPV-16, de alto riesgo.

Resumiendo, los carcinomas orofaríngeos HPV positivos representan el 33,33% de los casos, siendo el genotipo HPV detectado el 16, de alto riesgo, en amígdala de un hombre de 61 años y con un pobre grado de diferenciación.

En los positivos del total de carcinomas se han encontrado los tipos HPV 16, 61, 66 y 82, siendo el más común el 16 en dos casos.

Se ha obtenido una tabla con los resultados del estudio (tabla 3) en la que encontramos: un ordenamiento del número de casos estudiados (N=73), edad del paciente, localización de las lesiones, diagnóstico anatomopatológico de las susodichas, el grado de diferenciación y el genotipado de HPV.

Tabla 3: Resultados

N	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO	GRADO DE DIFERENCIACIÓN	GENOTIPADO HPV
1.	M	83	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
2.	M	54	Yugal	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
3.	H	54	Mucosa oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
4.	M	84	Trígono retromolar izquierdo	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
5.	H	74	Mucosa oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
6.	M	51	Yugal	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
7.	H	39	Paladar	Carcinoma epidermoide	Pobrementemente diferenciado	NO DNA
8.	M	78	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
9.	H	58	Reborde alveolar	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NO DNA
10.	H	59	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
11.	M	43	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NO DNA
12.	H	67	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
13.	H	93	Cresta alveolar mandibular izquierda	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
14.	H	71	Paladar	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
15.	M	83	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
16.	H	77	Suelo de boca izquierda y encía	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
17.	H	67	Suelo de boca con parte de glándula submaxilar	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NO DNA
18.	H	82	Cavidad oral	Carcinoma verrucoso	No especificado	NO DNA
19.	M	90	Trígono retromolar	Carcinoma epidermoide microinfiltrante	No especificado	NEGATIVO
20.	H	61	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	HPV 82

21.	M	87	Yugal derecha	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
22.	M	90	Mucosa vestibular superior derecha	Carcinoma epidermoide microinfiltrante	No especificado	NO DNA
23.	M	92	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	HPV 66
24.	H	83	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
25.	H	47	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
26.	M	83	Yugal derecha	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
27.	H	78	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
28.	H	80	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
29.	H	62	Paladar	Carcinoma microinfiltrante con ganglio linfático con metástasis del carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
30.	H	63	Yugal anterior	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
31.	H	67	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Pobremente diferenciado	HPV 16
32.	H	82	Suelo de boca línea media	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
33.	H	67	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Pobremente diferenciado	NO DNA
34.	H	98	Cavidad oral que infiltra región mandibular	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
35.	M	83	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
36.	M	31	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
37.	H	69	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
38.	H	78	Trígono retromolar izquierdo	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NEGATIVO
39.	M	64	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
40.	H	91	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Pobremente diferenciado	NEGATIVO
41.	H	59	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
42.	M	42	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
43.	H	78	Trígono retromolar izquierdo	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
44.	M	79	Yugal y gingiva	Carcinoma verrucoso	No especificado	NO DNA
45.	H	66	Trígono retromolar derecho	Carcinoma epidermoide	Moderadamente	NEGATIVO

					diferenciado	
46.	H	56	Mucosa oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
47.	H	55	Paladar	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
48.	H	63	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
49.	H	88	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
50.	H	60	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
51.	H	75	Suelo de boca derecho posterior	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NO DNA
52.	H	72	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
53.	H	53	Lengua	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
54.	M	81	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NEGATIVO
55.	H	65	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
56.	H	76	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	Moderadamente diferenciado	NO DNA
57.	H	64	Mucosa oral mandibular	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
58.	H	67	Trígono retromolar derecho	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
59.	H	71	Suelo de boca	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
60.	M	44	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	Pobrementemente diferenciado	HPV 61
61.	M	55	Cavidad oral	Carcinoma epidermoide	No especificado	NEGATIVO
62.	H	61	Amígdala izquierda	Carcinoma epidermoide	Pobrementemente diferenciado	HPV 16
63.	M	83	Base de lengua izquierda	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NEGATIVO
64.	M	66	Velo del paladar	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
65.	H	53	Amígdala	Carcinoma epidermoide	Bien diferenciado	NO DNA
66.	H	59	Surco amigdalogloso derecho	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
67.	H	54	Velo del paladar	Carcinoma epidermoide	Pobrementemente diferenciado	NO DNA
68.	H	64	Base lengua izquierda, pilar izquierdo	Carcinoma epidermoide	No especificado	NO DNA
69.	M	71	Base de la lengua	Carcinoma verrucoso	No especificado	NEGATIVO

70.	H	40	Cavidad oral	Papilomatosis	CONTROLES DE LA TÉCNICA	HPV 6
71.	M	33	Lengua	Papiloma escamoso	CONTROLES DE LA TÉCNICA	HPV 6 HPV 51
72.	M	19	Lengua	Hiperplasia mucosa papilar con queratosis paraqueratósica. Displasia coilocítica	CONTROLES DE LA TÉCNICA	HPV 51
73.	M	33	Lengua	Hiperplasia mucosa papilar con queratosis paraqueratósica. Displasia coilocítica	CONTROLES DE LA TÉCNICA	HPV 33 HPV 84

DISCUSIÓN

El cáncer de cabeza y cuello es uno de los cánceres con más mortalidad a medio plazo, un 50% a los 5 años³. Las zonas de instauración en cavidad oral, además de difícilmente visibles hasta que el tumor ha alcanzado cierto tamaño, son de acceso muy complicado cuando se plantean resecciones quirúrgicas amplias por la proximidad de estructuras anatómicas importantes. El diagnóstico precoz por parte del odontólogo en colaboración con el maxilofacial y el anatomopatólogo, es capital en este tipo de carcinomas.

Mientras que en las lesiones potencialmente malignas es frecuente la relación con HPV, cuando el carcinoma de cavidad oral ya está instaurado no se encuentra o no es tan frecuente encontrar HPV en el tejido.

En los resultados obtenidos el total de la muestra corresponde a carcinomas epidermoides, en condiciones similares a la literatura^{1,2}.

Tiene sentido, desde el punto de vista de la prevención y la mejora del pronóstico, el test de HPV en pacientes jóvenes y no fumadores ni bebedores, con la técnica de rutina hospitalaria basada en arrays de baja densidad. Es muy importante el diagnóstico inicial de cualquier lesión de cavidad y el estudio de HPV para el diagnóstico precoz, como también es importante hacerlo en el primer momento, ya que con el tiempo el material se degrada y se fragmenta, dificultándose su detección

posterior. Ha quedado patente que en estudios retrospectivos, el material incluido en parafina, puede dar problemas debido a mala autoconservación de las muestras, manipulación defectuosa durante la extracción del material y/o fallos durante la técnica.

Los carcinomas HPV positivos para cavidad oral en Salamanca constituyen el 14,28%, en disonancia con el 23,5% encontrado por Stephen et al. (2013)⁹ y el 3,9% de Herrero et al. (2003)¹⁰. Los resultados positivos para carcinomas orofaríngeos en nuestro medio, 33,33%, sí se aproximan más a los datos de la bibliografía actual, concretamente al 35,6% del estudio de Stephen et al. (2013)⁹ y no tanto al 18,3% hallado por Herrero et al. (2003)¹⁰. De cualquier forma, debemos considerar que los resultados dependen por un lado de la técnica empleada para la detección de HPV⁵⁵ y por otro del tamaño muestral.

Respecto a la localización especificada, uno de los HPV de cavidad oral se encontró en suelo de la boca y el de orofaringe se dio en amígdala, de acuerdo con el estudio de Attner (2010), que reflejaba un aumento en la incidencia general de cánceres orofaríngeos, particularmente en la base de la lengua y en las tonsilas⁴³.

Llama la atención cómo habiendo estudiado solamente 3 casos orofaríngeos uno resulta positivo. Queda patente la mayor prevalencia de este tipo de carcinomas en asociación con HPV en orofaringe, al igual que se recoge en la literatura vigente¹⁰.

Ante estos hallazgos, es importante recalcar que el suelo de la boca, mucosa yugal, trígono retromolar, paladar y las amígdalas son zonas que deben ser cuidadosamente examinadas por el odontólogo de cara a descartar lesiones malignas asociadas a HPV.

De cualquier modo hay que tener en consideración que únicamente entre el 10% y 20% de las infecciones por HPV se vuelven crónicas y persistentes, siendo las de mayor potencial oncogénico, y que el resto son transitorias, controladas por la propia respuesta inmune⁸ y que es común la detección de HPV en mucosa normal^{50,54}, siendo únicamente de riesgo la presencia de este en lesiones instauradas, y con mayor importancia los genotipos de alto riesgo. De ahí la importancia del diagnóstico precoz de la lesión, normalmente por parte del odontólogo, y la derivación para el

análisis de la biopsia y realización de test HPV temprano para descartar genotipos de alto riesgo.

Respecto al sexo para cavidad oral y orofaringe, de los 5 positivos, 3 son hombres (60%) y 2 son mujeres (20%), de modo que no se cumple el ratio mujer:hombre de 5:1 que reportaba Benson (2014) en su estudio¹¹.

En cavidad oral, de los HPV de alto riesgo oncogénico se ha encontrado el 16, probablemente de alto riesgo el 82 y el 66 y de bajo riesgo el 61. De cualquier modo la incidencia de HPV en cavidad oral no ha sido estudiada en profundidad en nuestro medio por ningún otro autor. En la población salmantina no es frecuente encontrar a nivel vaginal el HPV-18⁷², como tampoco se ha encontrado en cavidad oral. En las lesiones papilomatosas y displásicas de control para la técnica, encontramos el HPV 6, 51, 33 y 84. En un estudio previamente publicado en relación a las infecciones vaginales y HPV en Salamanca, observamos cómo los tipos 16, 51, 53, y 66 son los tipos de alto riesgo más frecuentes para esta población⁷².

El HPV-16 se presentó en un 40% de los casos, frente al 60-80% encontrado en el estudio de Kreimer et al. (2005)⁴⁴ sobre carcinomas de cabeza y cuello, y frente al 89,3% del estudio de Herrero (2003)¹⁰. Sigue siendo aún así el tipo de HPV que más comúnmente se ha hallado.

Respecto a los rangos de edad predominantes para los casos de cavidad oral en los que se ha podido realizar la técnica encontramos:

- 31-40 años: 1 caso negativo
- 41-50 años: 1 caso positivo (HPV-61 de bajo riesgo)
- 51-60 años: 6 casos negativos
- 61-70 años: 8 casos, 2 positivos (HPV-16 de alto riesgo y HPV-82 probablemente de alto riesgo) y 6 negativos
- 71-80 años: 7 casos negativos
- 81-90 años: 7 casos negativos
- 91-100 años: 2 casos, 1 positivo (HPV-66 probablemente de alto riesgo) y 1 negativo.

El mayor número de casos se concentra de 50 a 90 años.

En menores de 50 años encontramos un caso positivo para HPV-61, un tipo de bajo riesgo. En el rango de los 61 a los 67 años se hallan dos casos positivos, el HPV-16 de alto riesgo y el HPV-82 probablemente de alto riesgo.

La prevalencia general de carcinomas en cavidad oral responde a una población mucho mayor que la que describe la literatura (Chaturvedi, 2011) que fijó el rango de edad entre los 40 y 55 años³⁸, coincidiendo con el rango de edad para el desarrollo general de lesiones malignas. En el paciente más joven el tipo de HPV fue de bajo riesgo (61) y en el paciente más mayor un tipo de probable alto riesgo (66). De cualquier modo no tenemos los datos sobre el consumo de alcohol y tabaco de los pacientes.

En cuanto a los casos control para la técnica, con lesiones premalignas, sí se ha encontrado un rango de edad más bajo en relación con HPV, entre los 19 y 40 años, incluso la mayor parte corresponden a genotipos de bajo grado y del tipo más frecuente de alto riesgo vaginal en nuestro medio, el HPV-51, junto con el 16⁷².

Se necesitan más estudios al respecto, pero la vacunación preventiva y la reducción en la agresividad del tratamiento de pacientes con tumores orofaríngeos HPV positivos, son las dos vías de investigación en el futuro de este tipo de carcinomas.

CONCLUSIONES

1. En cavidad oral, el tumor más frecuente es el carcinoma epidermoide, con un buen grado de diferenciación, y predomina en varones de edad avanzada.
2. Atendiendo a la localización de las lesiones, la exploración del suelo de la boca, mucosa yugal, trígono retromolar, paladar y las amígdalas, por parte del odontólogo, es fundamental a fin de descartar lesiones malignas asociadas a HPV de forma precoz.

3. El test de HPV debe instaurarse como rutinario en el ámbito hospitalario para lesiones de cavidad oral, a fin de genotipar el HPV, determinar su riesgo carcinogénico y evaluar la agresividad del tratamiento oncológico. El genotipado se puede realizar de forma óptima a partir de una muestra endoscópica y debe hacerse en el momento del diagnóstico, no de forma retrospectiva, ya que el material genético se fragmenta: casi el 50% de las muestras no han podido ser analizadas.
4. Nuestra técnica nos permite estudiar hasta 35 tipos diferentes de HPV para cavidad oral, ya que hemos usado el mismo kit que se usa en HPV vaginal. Gracias a esto encontramos tipos no recogidos en la literatura.
5. Los tipos de HPV hallados en cavidad oral son: 16, 82, 66 y 61. Cabe destacar que en el paciente con carcinoma epidermoide más joven, el tipo de HPV fue de bajo riesgo oncogénico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010; 127 (12): 2893-917.
2. Kulkarni PR, Rani H, Vimalambike MG, et al. Opportunistic screening for cervical cancer in a Tertiary Hospital in Karnataka, India. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013; 14 (9): 5101-5.
3. Osei-Sarfo K, Tang XH, Urvalek AM, et al. The molecular features of tongue epithelium treated with the carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide and alcohol as a model for HNSCC. *Carcinogenesis*. 2013; 34 (11): 2673-81.
4. Kreimer AR, Randi G, Herrero R, et al. Diet and body mass and oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas: Analysis from the IARC multinational case-control study. *Int J Cancer*. 2006; 118 (9): 2293-7.
5. Hiller T, Iftner T. The human papillomavirus. In: *Human papillomavirus and cervical cancer. The Health Professional's HPV Handbook*. Taylor & Francis. Prendiville W, Davies P, eds. London and New York. 2004: 11-26.
6. Termine N, Panzarella V, Falaschini S et al. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988–2007). *Ann Oncol*. 2008; 19 (10): 1681-90.

7. Biological Agents. A review of human carcinogens; volume 100B. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Lyon, France. 2012.
8. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, et al. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine*. 2006; 24:42-51.
9. Stephen JK, Divine G, Chen KM, et al. Significance of p16 in site-specific HPV positive and HPV negative head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Clin Oncol*. 2013; 2: 51-61.
10. Herrero R, Castellsague X, Pawlita M, et al. Human papillomavirus and oral cancer. The International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst*. 2003; 95: 1772-83.
11. Benson E, Li R, Eisele D, et al. The clinical impact of HPV tumor status upon head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncol*. 2014; 50 (6): 565-74.
12. Humans IWGotEoCRt. Human papillomaviruses. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2007; 90: 1-636.
13. Blitzer GC, Smith MA, Harris SL, et al. Review of the clinical and biologic aspects of human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2014; 88 (4): 761-70.
14. Mooij SH, Boot HJ, Speksnijder AG, et al. Oral human papillomavirus infection in HIV-negative and HIV-infected MSM. *AIDS*. 2013; 27 (13): 2117-28.
15. Kero K, Rautava J, Syrjänen K, et al. Oral mucosa as a reservoir of human papillomavirus: point prevalence, genotype distribution, and incident infections among males in a 7-year prospective study. *Eur Urol*. 2012; 62: 1063-70.
16. Zandberg DP, Bhargava R, Badin S, et al. The role of human papillomavirus in nongenital cancers. *CA Cancer J Clin*. 2013; 63 (1): 57-81.
17. Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009; 10 (4): 321-2.
18. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science*. 2011; 333: 1157-60.
19. Deng Z, Hasegawa M, Yamashita Y, et al. Prognostic value of human papillomavirus and squamous cell carcinoma antigen in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Sci*. 2012; 103 (12): 2127-34.
20. Soria-Céspedes D, Canchola Aguilar G, Lara-Torres CO, et al. Metastatic oropharyngeal squamous cell carcinoma in cervical lymph nodes associated to HPV infection type 16 and 45; clinical, morphological and molecular study of two cases. *Gac Med Mex*. 2013; 149 (6): 673-9.

21. Eversole LR, Laipis PJ. Oral squamous papillomas: detection of HPV DNA by in situ hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1998; 65 (5): 545-50.
22. Choukas NC, Toto PD. Condyloma accuminatum of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985; 54 (4): 480-5.
23. Kui LL, Xiu HZ, Ning LY. Condyloma accuminatum and human papillomavirus infection in the oral mucosa of children. *Pediatr Dent.* 2003; 25 (2): 149-53.
24. Eversole LR. Papillary lesions of the oral cavity: relationship to human papillomaviruses. *J Calif Dent Assoc.* 2000; 28 (12): 922-7.
25. Garcia-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, et al. Association of HLA-DR4 (DRBI*0404) with human papillomavirus infection in patients with focal epithelial hyperplasia. *Arch Dermatol.* 2004; 140 (10): 1227-31.
26. Jeramillo F, Rodriguez G. Multiple oral papules in a native South American girl. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease). *Arch Dermatol.* 1991; 127 (6): 888-9, 891-2.
27. Beaudenon S, Praetorius F, Kremsdorf D, et al. A new type of human papillomavirus associated with oral focal epithelial hyperplasia. *J Invest Dermatol.* 1987; 88 (2): 130-5.
28. Scully C, Prime S, Maitland N. Papillomaviruses: their role in oral disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985; 60 (2): 166-74.
29. Hosni ES, Salum FG, Cherubini K, et al. Oral erythroplakia and speckled leukoplakia: retrospective analysis of 13 cases. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2009; 75 (2): 295-9.
30. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa: terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol.* 2009; 45 (4-5): 317-23.
31. Napier SS, Cowan CG, Gregg TA, et al. Potentially malignant oral lesions in Northern Ireland: size (extent) matters. *Oral Dis.* 2003; 9 (3): 129-37.
32. Szarka K, Tar I, Fehér E, et al. Progressive increase of human papillomavirus carriage rates in potentially malignant and malignant oral disorders with increasing malignant potential. *Oral Microbiol Immunol.* 2009; 24 (4): 314-8.
33. Johnson NW. Global Epidemiology. In: *Oral Cancer.* Martin Dunitz. Shah JP, Johnson NW, Batsakis JG, eds. London. 2003: 3-30.
34. Acay R, Rezende N, Fontes A, et al. Human papillomavirus as a risk factor in oral carcinogenesis: a study using in situ hybridization with signal amplification. *Oral Microbiol Immunol.* 2008; 23 (4): 271-4.
35. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. In: *World Health Organization Classification of Tumours.* International Agency for Research

- on Cancer. World Health Organization. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, et al. Lyon, France. 2005.
36. George A, Sreenivasan BS, Sunil S, et al. Potentially malignant disorders of oral cavity. *Oral Maxillofac Pathol J* 2011; 2 (1): 95-100.
 37. Ostwald C, Rutsatz K, Schweder J, et al. Human papillomavirus 6, 11, 16 and 18 in oral carcinomas and benign lesions. *Med Microbiol Immunol.* 2003; 192 (3):145-8.
 38. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol.* 2011; 29 (32): 4294-301.
 39. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papilloma virus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet.* 2006; 367 (9518): 1247-55.
 40. Cubie HA. Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology.* 2013; 445 (1-2): 21-34.
 41. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Risk factors for oral cancer in newly diagnosed patients aged 45 years and younger: a case-control study in Southern England. *J Oral Pathol Med.* 2004; 33 (9): 525-32.
 42. Gillison ML, Shah KV. Human papillomavirus associated head and neck squamous cell carcinomas: mounting evidence for an aetiologic role for human papillomavirus in a subset of head and neck cancers. *Curr Opin Oncol.* 2001; 13 (3): 183-8.
 43. Attner P, Du J, Nasman A, et al. The role of humanpapillomavirus in the increased incidence of base of tongue cancer. *Int J Cancer.* 2010; 126 (12): 2879-84.
 44. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers.* 2005; 14 (2): 467-75.
 45. Miller CS, White DK. Human papillomavirus expression in oral mucosa premalignant conditions and squamous cell carcinoma: a retrospective review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82 (1): 57-68.
 46. Hansson BG, Rosenquist K, Antonsson A, et al. Strong association between infection with human papillomavirus and oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a population based case-control study in southern Sweden. *Acta Otolaryngol.* 2005; 125 (12): 1337-44.
 47. SR Prabhu, DF Wilson. Human papillomavirus and oral disease – emerging evidence: a review. *Aust Dental J.* 2013; 58 (1): 2-10.

48. Veldhuijzen NJ, Snijders PJ, Reiss P, et al. Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus. *Lancet Infect Dis.* 2010; 10 (12): 862-74.
49. Sanders AE, Slade GD, Patton LL. National prevalence of oral HPV infection and related risk factors in the U.S. adult population. *Oral Dis.* 2012; 18 (5): 430-41.
50. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, et al. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis.* 2009; 199 (9): 1263-9.
51. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res.* 2002; 89 (2): 213-28.
52. Frega A, Cenci M, Stentella P, et al. Human papillomavirus in virgins and behaviour risk. *Cancer Lett.* 2003; 194 (1): 21-4.
53. Gómez García E, Gómez Mampaso S, Conde Someso E, et al. Infección por Papilomavirus en el hombre. Estado actual. *Actas Urol Esp.* 2005; 29 (4): 365-72.
54. Ragin C, Edwards R, Larkins-Pattigrew M, et al. Oral HPV infection and sexuality: a cross-sectional study in women. *Int J Mol Sci.* 2011; 12 (6): 3928-40.
55. Kellokoski JK, Syrjänen SM, Chang F, et al. Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. *J Oral Pathol Med.* 1992; 21 (10): 459-64.
56. Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, et al. Sexually Transmitted Infections Among US Women and Men: Prevalence and Incidence Estimates, 2008. *Sex Transm Dis.* 2013; 40 (3): 187-93.
57. Kreimer AR. Prospects for prevention of HPV driven oropharynx cancer. *Oral Oncol.* 2014; 50 (6): 555-9.
58. Paolini F, Massa S, Manni I, et al. Immunotherapy in new pre-clinical models of HPV-associated oral cancers. *Hum Vaccin Immunother.* 2013; 9 (3): 534-43.
59. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92 (9): 709-20.
60. Kreimer AR, Alberg AJ, Daniel R, et al. Oral human papillomavirus infection in adults is associated with sexual behavior and HIV serostatus. *J Infect Dis.* 2004; 189 (4): 686-98.
61. Kleter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, et al. Novel shortfragment PCR assay for highly sensitive broadspectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Pathol.* 1998; 153 (6): 1731-9.
62. Jacobs MV, Snijders PJ, van den Brule AJ, et al. A general primer GP5+/GP6(+)mediated PCRenzyme immunoassay method for rapid detection

- of 14 highrisk and 6 lowrisk human papillomavirus genotypes in cervical scrapings. *J Clin Microbiol.* 1997; 35 (3): 791-5.
63. Clavel C, Masure M, Putaud I, et al. Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *J Clin Pathol.* 1998; 51 (10): 737-40.
 64. Frazer IH, Leonard JH, Schonrock J, et al. HPV DNA in oropharyngeal squamous cell cancers: Comparison of results from four DNA detection methods. *Pathology.* 1993; 25 (2): 138-43.
 65. Lindel K, Beer KT, Laissue J, et al. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: A radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer.* 2001; 92 (4): 805-13.
 66. Ang KK, Harris J, Wheeler R, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2010; 363 (1): 24-35.
 67. Dvoryaninova OY, Chainzonov EL, Litvyakov NV. The clinical aspects of HPV-positive cancer of the oral cavity and oropharynx. *Vestn Otorinolaringol.* 2016; 81 (1): 72-7.
 68. Genden EM, Kotz T, Tong CC, et al. Transoral robotic resection and reconstruction for head and neck cancer. *Laryngoscope.* 2011; 121 (8): 1668-74.
 69. Sathish N, Wang X, Yuan Y. Human papillomavirus (HPV)-associated oral cancers and treatment strategies. *J Dent Res.* 2014; 93 (7 Suppl): 29S-36S
 70. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, et al. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol.* 2008; 26 (8): 612-9.
 71. Posner MR, Hershock DM, Blajman CR, et al. Cisplatin and fluorouracil alone or with docetaxel in head and neck cancer. *New Engl J Med.* 2007; 357 (17): 1705-15.
 72. Otero-Motta AP, Ordóñez JL, González-Celador R, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in cytologic abnormalities from unvaccinated women living in north-western Spain. *APMIS.* 2011; 119 (3): 204-15.