

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudio de postgrado
E Investigación

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

EVALUACIÓN DE P16 POR INMUNOHISTOQUÍMICA DE CARCINOMA
EPIDERMOIDE EXTRAGENITAL

Trabajo de Investigación que presenta:
DRA. MARÍA ESTHER MÉNDEZ ROSALES

Para obtener el Diploma de la Especialidad
ANATOMÍA PATOLÓGICA

Asesor de Tesis:
DR. FERNANDO E. DE LA TORRE RENDÓN

No. De Registro de Protocolo:

051.2009

2011.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO
E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

EVALUACIÓN DE P16 POR INMUNOHISTOQUIMICA DE CARCINOMA
EPIDERMOIDE EXTRAGENITAL

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:
DRA. MARÍA ESTHER MÉNDEZ ROSALES

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD
ANATOMÍA PATOLÓGICA

ASESOR DE LA TESIS:
DR. FERNANDO E. DE LA TORRE RENDÓN

NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO:

051.2009

2011.

DR. FÉLIX OCTAVIO MARTÍNEZ ALCALÁ
COORDINADOR DE CAPADESI

DR. GUILIBALDO PATIÑO CARRANZA
ARELLANO
JEFE DE ENSEÑANZA

DRA. MARTHA EUNICE RODRÍGUEZ
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DR. LUIS CISNEROS SOTELO
PROFESOR TITULAR

DR. FERNANDO E. DE LA TORRE RENDÓN
ASESOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

A la Técnica en Histopatología RAQUEL GUERRERO ALQUICIRA por su valiosa participación en la elaboración de este trabajo de investigación realizando cortes especiales y las técnicas de histoquímica e Inmunohistoquímica.

A Rodrigo, Eduardo y mis papas.

ÍNDICE.....	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	12
HALLAZGOS CLÍNICOS.....	12
HALLAZGOS HISTOLÓGICOS.....	12
HALLAZGOS INMUNOFENOTÍPICOS.....	12
DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIÓN.....	15
ANEXO 1.....	16
FIGURAS.....	17
GRÁFICAS.....	22
TABLAS.....	23
ANEXO 2.....	28
RECOLECCIÓN DE DATOS.....	29
BIBLIOGRAFÍA.....	32

RESUMEN:

El carcinoma epidermoide del sistema genital femenino se asocia frecuentemente con infección por los subtipos 16 y 18 del virus del papiloma humano (VPH). Los VPH constituyen un grupo heterogéneo de virus ADN que se clasifican como de riesgo alto y bajo.

En México el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello ocupa el 5% de todas las neoplasias. La infección por VPH asociada a estos tumores se relaciona con un mejor pronóstico comparado con los casos que están únicamente asociados a alcohol y tabaquismo. La proteína de p16 es un marcador de la desregulación molecular del ciclo celular; las células escamosas alteradas por VPH de alto riesgo sobreexpresan p16, mientras que las normales no.

El propósito de este estudio es investigar la sobreexpresión de p16 en carcinomas epidermoides de origen extragenital, enfocándose a conjuntiva, cabeza y cuello. Fueron estudiados 127 casos, con localización en laringe, conjuntiva, lengua, fosa nasal, mucosa oral, faringe y amígdala. Se eliminaron 78 casos y se les realizó inmunomarcación a 49 casos, de los cuales 31 fueron negativos y 18 positivos. De estos, 8 mostraron positividad <30%, 1 presentó positividad entre 30% a <60% y 9 mostraron una positividad mayor a 60%. De los casos negativos 18 correspondieron a tumores de laringe, 4 lengua, 2 conjuntiva, 2 fosa nasal, 2 mucosa oral y 2 faringe. De los que mostraron positividad menor a 30%, tuvieron la siguiente distribución, 4 correspondieron a laringe, 2 a conjuntiva y 1 a parótida, 1 a mucosa oral. Solamente un caso tuvo positividad entre 30-60% y correspondió a tumor de parótida. La positividad mayor a 60% se observó en 3 neoplasias de conjuntiva, una de lengua, y respectivamente un caso de cada una de las siguientes localizaciones: mucosa oral, fosa nasal, laringe, faringe y amígdala. En conclusión el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello tuvo un predominio en hombres, afectó el sexto decenio de la vida y su localización más frecuente fue la laringe. La mayor expresión de p16 se observó en casos de conjuntiva y en orofaringe, en carcinomas bien diferenciados y especialmente en mujeres. Aun cuando nuestra serie es pequeña y requiere ampliarse, esto probablemente apoya la relación de carcinomas epidermoides con VPH de alto riesgo en estas áreas, más comúnmente que en el resto.

SUMMARY.

Squamous cell carcinoma of the female genital tract is often associated with infection by 16 and 18 subtypes of human papillomavirus (HPV). HPVs are a heterogeneous group of DNA viruses grossly classified as high and low risk. In Mexico, squamous cell carcinoma of head and neck represents 5% of all malignancies. As referred HPV infection is associated with a better prognosis compared with cases that are related to alcohol and smoking. p16 protein is a molecular marker of cell cycle deregulation, squamous cells altered by high-risk HPV overexpress p16, while uninfected cells do not.

The purpose of this study was to investigate the overexpression of p16 in squamous cell carcinomas of extragenital origin, focusing in those of the head and neck, conjunctival neoplasias were also included. We studied 127 cases, with localization in the larynx, conjunctiva, tongue, nasal cavity, oral mucosa, pharynx and tonsil. Skin tumors, including eyelid epidermoid carcinomas were not considered. 78 cases were eliminated and immunohistochemistry was performed for p16 protein on 49 cases, of these 31 were negative and 18 positive. Of the positive cases, 8 carcinomas showed <30% positivity of malignant cells; 1 tumor disclosed positivity of 30% to 60% and 9 were positive in more than 60% of neoplastic cells. Most were negative cases, 18 were epidermoid cancers from larynx, 4 from tongue, 2 were located on conjunctiva, and 2 on each nasal cavity, oral mucosa and pharynx. The cases with less than 30% of positivity were from the the larynx (4), 2 on conjunctiva (2), parotid gland (1) and oral mucosa (1). With a only one case from parotid gland revealed 30-60% positivity Cases with positivity in superior to 60% 3 were on conjunctiva (3), one on tongue (1), oral mucosa (1), nasal cavity (1), larynx (1), pharynx (1) and tonsil (1). In our series squamous cell carcinoma of head and neck has a male predominance, affecting mainly the sixth decade of life and is more frequently in the larynx. The highest levels of p16 expression were found on carcinomas from conjunctiva and oropharynx, in well-differentiated carcinomas and in women. Even our series number of cases is small, however these preliminary observations is are suggestive of high-risk HPV related epidermoid carcinomas more common on those areas.

INTRODUCCIÓN.

El carcinoma epidermoide del aparato genital femenino ha mostrado alta frecuencia de asociación con la infección del Virus del Papiloma Humano de alto riesgo (VPH-AR).(5) Los carcinomas epidermoides mucocutáneos de origen extragenital se han relacionado en menor proporción con la infección del VPH-AR. (1)

El virus de papiloma humano (VPH) pertenece a la familia "Papillomaviridae". Es un virus pequeño con una cápsida icosaédrica formada sólo por proteínas y no está envuelto por ninguna bicapa lipídica. Fue aislado por primera vez en una papilomatosis de un conejo en 1933. El VPH es un grupo heterogéneo de virus DNA que incluye más de 100 tipos, de estos cerca de 40 son transmitidos sexualmente y afectan principalmente a las células epiteliales de la piel y la mucosa, y generalmente lo hacen en las capas basales. Están tipificados molecularmente de acuerdo con la secuencia de los ácidos nucleicos que componen su genoma, y definidos por tener marcos de lectura abiertos en L1. Las proteínas tempranas E6 y E7, son oncogenes virales identificados desde la década de los 80s.(10) Los VPH se han clasificado de alto riesgo y bajo riesgo, dependiendo de su asociación con neoplasias malignas, en especial del área genital, donde se ha realizado el mayor número de estudios. (5) El VPH infecta a las células al entrar en contacto directo célula con célula. Los papilomavirus pueden presentar diferentes tropismos, es decir, preferencias por un tipo de epitelio determinado, o por una zona concreta de la piel. Así, algunos papilomavirus infectan la mucosa bucal, otros la mucosa laríngea, otros los genitales externos y otros la mucosa cervical.

La sobreexpresión de la proteína p16INK4a sirve como un biomarcador independiente de la desregulación molecular del ciclo celular de las células escamosas, que son portadoras del VPH-AR. Existen varios tipos de VPH-AR, pero en todos los casos el efecto de la oncoproteína viral E7 es el mismo y forma un complejo con la proteína pRB (supresor de oncogén) que una vez bloqueada provoca una sobreexpresión de p16 INK4a.

La proteína P16 contiene 148 aminoácidos, forma complejos binarios específicos con Cdk4 y Cdk6 (quinasas dependientes de ciclinas) inhibiendo la fosforilación de la pRb (supresor de oncogenes), que participa en la regulación del ciclo celular en la fase G1, por lo que la p16 se considera como un gen supresor tumoral, localizado en el cromosoma 9p21, que se sobreexpresa en carcinomas epidermoides y neoplasias intraepiteliales asociadas al VPH de alto riesgo. Es de gran ayuda para la identificación de cánceres relacionados con este grupo de virus oncogénicos, especialmente en el contexto adecuado. También debe señalarse que la sobreexpresión de p16 puede encontrarse en cánceres no relacionados a VPH de alto riesgo, inclusive cánceres no

epiteliales como leiomiomas de útero o linfoma de Hodgkin. Otros mecanismos moleculares también están implicados en su sobreexpresión además del bloqueo de la proteína Rb.

La expresión de esta proteína en células normales está estrictamente regulada con niveles cuantitativamente bajos, sin poderse detectar a través de inmunohistoquímica. Sin embargo p16 (INK4a) se encuentra sobreexpresada en las lesiones escamosas intraepiteliales y carcinoma epidermoide de cérvix uterino, mismos que son portadores de la infección del VPH-AR. En las lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (LEIAG) se presenta reacción inmunohistoquímica intensa, difusa, homogénea y en banda; mientras que las lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado hay positividad heterogénea, débil y en parches; el epitelio cervical normal es negativo. La positividad inmunohistoquímica se observa en el núcleo y citoplasma y es de utilidad práctica en el diagnóstico diferencial de las lesiones escamosas intraepiteliales del cérvix; sobre todo en aquellas con datos histopatológicos limítrofes y de bajo grado.

El carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello es el sexto cáncer más frecuente en todo el mundo, el sitio más afectado es la orofaringe seguido de cavidad oral y la laringe; los factores más importantes son el tabaco y el alcohol, sin embargo también se considera la asociación a infección por VPH. El VPH es considerado un factor de riesgo en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, ya que se asocia con el riesgo de desarrollo de la enfermedad pero no lo suficiente para causarla. Es necesaria la presencia de otros factores asociados para causar la enfermedad (mala nutrición, tabaquismo, consumo de alcohol, etc.). Sin embargo, no todos los tipos de VPH se asocian con la producción de cáncer. (17) El carcinoma de células escamosas de cuello uterino es una neoplasia maligna relacionada directamente con el VPH debido a que el 95% de estos tumores son positivos a VPH. (10) Este modelo apoya la posibilidad de que el VPH tenga un papel importante como cofactor en la carcinogénesis del carcinoma escamoso en otras localizaciones. La frecuencia reportada de VPH y el carcinoma de células escamosas en cabeza y cuello varía de un 2 a 76%. (7) Actualmente y como resultado de estudios epidemiológicos y biológicos se ha conocido la conexión entre infección por virus del papiloma humano y lesiones escamosas de cabeza y cuello, mientras que otros estudios llegan a demostrar la presencia de virus del papiloma humano en aproximadamente el 50% de los carcinomas de células escamosas e hiperplasias orales, fundamentalmente los denominados tipos de alto riesgo (HPV-16 y HPV-18). (5,6)

En México, el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello ocupa 5 % de todas las neoplasias, y por lo general se identifica en etapas localmente avanzadas. La localización más común es cavidad

oral y orofaringe. En la cavidad oral, la zona más afectada es la lengua, seguida de encía y piso de boca; en la orofaringe, la zona más afectada son las amígdalas y en menor frecuencia el paladar blando. La distribución anatómica de la infección del VPH está probablemente relacionada con las positividades de contacto con el vector del VPH. Se han reportado en diversos sitios anatómicos como cabeza y cuello, vejiga, próstata, mama, esófago y pulmón. (10) Sin embargo su papel como cofactor no es claro en todos los casos.

La infección por virus del papiloma humano (VPH) es un factor independiente de riesgo para el cáncer epidermoide de cabeza y cuello (CECyC) y se ha relacionado con un mejor pronóstico comparado con los casos que no cursan con dicha infección viral, que los que son asociados a alcoholismo y tabaquismo. En enfermos con CECyC generalmente jóvenes y con infección por VPH-16 se ha encontrado mejor tasa de respuesta a radioterapia y mejor control local, además de incremento en la supervivencia a cinco años comparados con los pacientes no infectados. Sin embargo, este hallazgo es debatible y otros autores han atribuido ese buen pronóstico a mayor radiosensibilidad de la neoplasia pero en asociación con los demás factores pronósticos conocidos en cáncer de cabeza y cuello, principalmente la presencia o no de metástasis ganglionares cervicales.

MATERIAL Y METODOS

Para este estudio se obtuvieron de los archivos de patología del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos" 537 casos diagnosticados en base a su morfología histológica como carcinoma epidermoide localizados en un periodo de 10 años de 1999-2009, (ver tabla 1.1). Se seleccionaron para esta investigación los casos referidos como de conjuntiva, cabeza y cuello, obteniendo un total de 127 casos, que correspondieron a amígdala, faringe, fosa nasal, cavidad oral, laringe, lengua, conjuntiva y parótida. No se consideraron carcinomas de piel o párpado. De estos casos fueron eliminados 78; 75 por no contar con los bloques de parafina para realizar la inmunomarcación correspondiente y dos por no haberse identificado el sitio anatómico y solo estaban referidos como mandíbula; y uno por que en estaba referido como párpado, sin embargo al revisarse la histología se observó que correspondía a piel de párpado. Los criterios de inclusión para este estudio fue que los tumores fueran carcinomas epidermoides sin importar diferenciación, de localización extragenital. Además se recopiló los siguientes datos: edad, sexo, localización, grado de diferenciación y si se trataba de carcinomas in situ o invasores.

Después de la resección quirúrgica, el tejido fue fijado en formol al 10% e incluidos en parafina. Se realizaron cortes a 5 μ m de grosor y fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina (H&E). La inmunohistoquímica se hizo usando el sistema complejo biotina unida a peroxidasa estreptavidina, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Nuestro protocolo incluyó desparafinación con xilol, rehidratación en grado descendente de alcohol a agua, la recuperación de antígeno con Buffer citrato a pH 6.0 calentado a 95°C por 30 minutos, el peróxido endógeno fue bloqueado con peróxido de hidrógeno al 3% en metanol. Después de enjuagar con PBS, el primario fue incubado por una hora a temperatura ambiente en una cámara húmeda. El anticuerpo primario utilizado fue el anticuerpo monoclonal de ratón anti p16INK4a humano, clona E6H4.trfr (CINtec/MTM).

Para este estudio se analizó la expresión de p16 en carcinomas epidermoides, con una marca tanto nuclear como citoplásmica; se establecieron cuatro patrones:

Patrón 0: Ausencia completa de la marca inmunohistoquímica de p16INK4a (negativo),

Patrón 1: Marca inmunohistoquímica discontinua o en parches con una positividad <30%

Patrón 2: Marca discontinua más extensa con una positividad del 30-60%

Patrón 3: Marca continua, intensa >60%. (9)

RESULTADOS

Hallazgos clínicos

Los 537 casos localizados tuvieron la siguiente distribución topográfica: Genital femenino 195, cabeza y cuello 106, piel 116, tracto digestivo 30, conjuntiva 21, metástasis a ganglios linfáticos 9, genital masculino 8, pulmón 8, urinario 4, sitio sin especificar (revisiones de laminillas) 26, otros 14. (Gráfica 1). En relación al género 193 casos correspondieron a pacientes del sexo masculino, 341 al sexo femenino y 3 sin especificación de sexo. (Gráfica 2). El grupo estudiado fue de cabeza y cuello, y se incluyó conjuntiva, obteniendo un total de 127 casos distribuidos de la siguiente forma: laringe 58, conjuntiva 21, lengua 15, fosa nasal 11, mucosa oral 9, faringe, amígdala 3, parótida 2 y 2 referidos como mandíbula; de todos estos casos fueron eliminados 78. (tabla 1.2)

De todos los casos estudiados 13 correspondían a mujeres y 36 a hombres, la edad de presentación tuvo un rango de 34 a 98 años; siendo el mayor grupo etario afectado el de 70-79 años. (tabla1)

Hallazgos histológicos

De los 49 casos se observó la siguiente distribución del carcinoma: laringe 22 casos, conjuntiva 8, lengua 6, mucosa oral 4, faringe 3, fosa nasal 3, parótida 2, amígdala 1 caso. Microscópicamente las células neoplásicas eran monomórficas, de ovoides a fusocelulares, eosinófilas con bordes definidos, núcleos hipercrómicos con pérdida de la relación núcleo citoplasma; las células se disponen en nidos, sabanas o cordones, con altos índices mitóticos, y la queratinización que pueden formar perlas corneas de acuerdo a la diferenciación del tumor (figuras 1-3); de los 49 casos 25 eran bien diferenciados, 19 moderadamente diferenciados y 5 poco diferenciados (ver tabla 2.) en cuanto a la invasión 46 casos presentaban invasión evidente y tres eran in situ que correspondían a conjuntiva.

Hallazgos inmunofenotípicos

Se les realizó inmunomarcación a 49 casos obteniendo los siguientes resultados: 31 casos fueron negativos, (ver fig. 4) y 18 positivos de los cuales 8 mostraron una positividad <30% (ver fig 5 y 6), 1 presentó positividad >30% y <60% (ver fig 7 y 8) y 9 presentaron una positividad >60% (ver fig. 9); de los casos negativos 18 correspondían a laringe, 4 a lengua, 2 conjuntiva, 2 fosa nasal, 2 mucosa oral y 2 faringe; de los que mostraron positividad <30%, tuvieron la siguiente distribución, 4 correspondían a laringe, 2 a conjuntiva, 1 a parótida, 1 a mucosa oral. De los que tuvieron una positividad del 30-60% solo fue un caso que correspondió a parótida. De los casos que

presentaron una positividad >60% correspondían 3 a conjuntiva, uno a lengua, mucosa oral, fosa nasal, laringe, faringe y amígdala.(ver tabla 3).

De los carcinomas epidermoides que estaban bien diferenciados y mostraron una intensa positividad para p16 fueron cuatro casos, localizados dos en conjuntiva, uno en lengua y amígdala; Cinco casos mostraron una positividad baja menor del 30% y correspondían a conjuntiva, fosa nasal, laringe y parótida. Dieciséis casos eran bien diferenciados, sin embargo no mostraron inmunorreactividad.(ver tabla 4).

De los carcinomas epidermoides moderadamente diferenciados que mostraron una intensa positividad fueron cinco casos y correspondían a conjuntiva, faringe, fosa nasal, laringe, mucosa oral; un caso que correspondía a parótida tuvo una marca >30% y <60%; dos casos que correspondían a laringe y lengua tuvieron una positividad <30%, y once casos fueron negativos , y el mayor número de casos correspondía a laringe.

Los carcinomas epidermoides poco diferenciados solo uno presentó positividad <del 30% y correspondía a mucosa oral, y cuatro fueron negativos.

DISCUSIÓN.

La P16 es una proteína celular normal cuya expresión es detectable en lesiones displásicas de alto grado del cervix; para su interpretación en el sistema binario se utiliza "positivo", "negativo".

El rango de positivo se asigna cuando el espécimen muestra una marca continua en las células basales y parabasales del epitelio escamoso del cervix, con o sin marca en el epitelio superficial (positivo difuso). El rango negativo abarca tanto pequeños nidos como células aisladas con una marca que no es continua en las células basales y parabasales (positivo difuso) y sin marca.

El VPH es un carcinógeno bien conocido en carcinomas del área anogenital y orofaringe, debido a que las células infectadas en estos sitios anatómicos han sido afectadas por exposición directa de las mucosas. No obstante los casos que han mostrado positividad en vejiga o próstata, han sido probablemente por extensión directa de una mucosa adyacente infectada por transmisión sexual; al igual que en cavidad oral y esófago. En el estudio de Clements y cols, presentaron una serie de seis casos de tumores retroperitoneales con sobreexpresión de p16, donde sugiere la diseminación por vía hematológica o linfática.(10)

En investigaciones previas se ha demostrado que el carcinoma epidermoide ha tenido un incremento en frecuencia en vías aerodigestivas(8), sin embargo en nuestro estudio, se observó que excluyendo genital femenino, piel y cabeza y cuello fueron los sitios más comunes; destacando en cabeza y cuello la laringe, en el estudio de Samir y cols, destacaron que en su grupo de estudio, el sitio que más destacó fue amígdala.

En nuestra serie de 49 casos de pacientes con carcinoma epidermoide en cabeza y cuello encontramos que el sitio más frecuente fue laringe, seguido de conjuntiva y lengua, y que la población en que más se presentó fue en hombres con un 74%, cifra similar observada en el estudio de Samir y cols. En cuanto al grado de diferenciación se observó que el 52% correspondió a carcinomas epidermoides bien diferenciados, 38% a moderadamente diferenciado y el 10% a poco diferenciado. El 93% de los tumores presentaban invasión, y el 7% correspondieron a carcinomas in situ, que únicamente se localizaron en conjuntiva. En el 38% de los casos se identificó intensa sobreexpresión de p16, los sitios que con más frecuencia sobreexpresaron la proteína fueron conjuntiva y laringe, seguidos de parótida y cavidad oral, con una predilección por el sexo femenino en los carcinomas bien diferenciados con una positividad intensa, y con un rango de edad de 34 a 70 años y un promedio de 59 años.

CONCLUSIÓN:

La expresión de p16 no es sinónimo de VPH, sin embargo la relación que existe con la presencia del virus es muy alta, es posible que las células infectadas no contribuyan por sí solas al riesgo de desarrollar cáncer, pero actualmente el estilo de vida, los factores genéticos, el abuso de sustancias y el tipo de prácticas sexuales aumentan el riesgo para desarrollar malignidad.

En nuestro material entre mejor este diferenciado el tumor presentó una mayor inmunoreactividad, y los casos en donde se observó mayor inmunoreactividad a p16 fue en conjuntiva y laringe, seguidos de parótida y cavidad oral y se correlacionó el grado de diferenciación con sobreexpresión.

Coincidiendo con lo observado en distintas series en este trabajo el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello tiene un predominio en hombres que cursan el sexto decenio de la vida y como ubicación más frecuente fue la laringe, con mayor expresión de p16 en conjuntiva y orofaringe, en carcinomas bien diferenciados, con un predominio en mujeres.

Este estudio preliminar debe ser continuado con un mayor número de casos y en correlación con detección molecular de VPH de alto riesgo en carcinomas epidermoides de esta área.

ANEXO 1.

Figuras

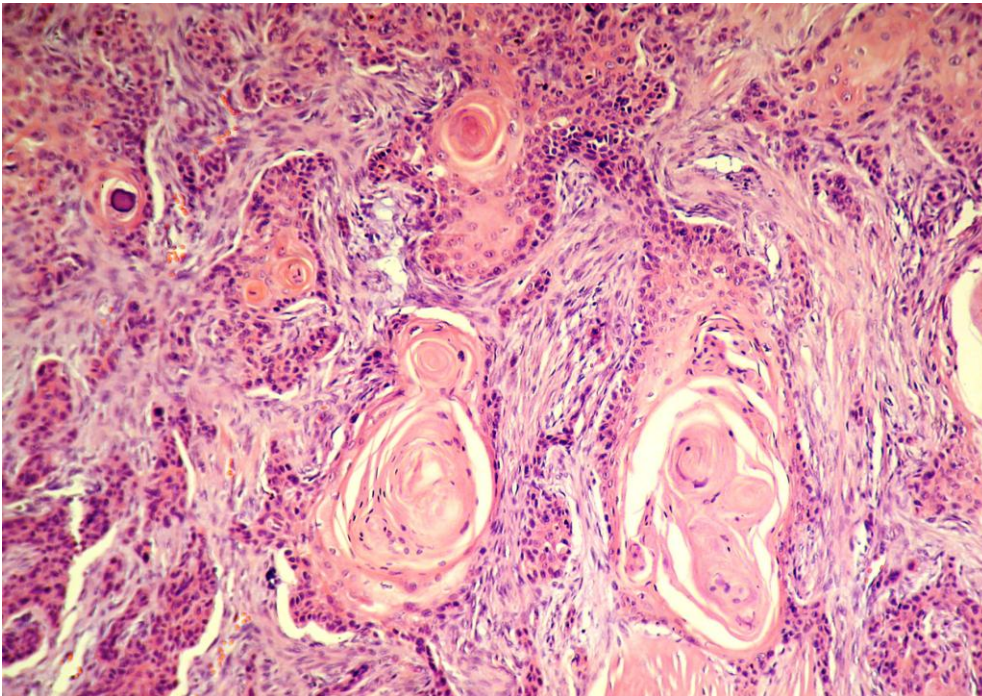


Fig. 1 Carcinoma epidermoide bien diferenciado invasor localizado en parótida.

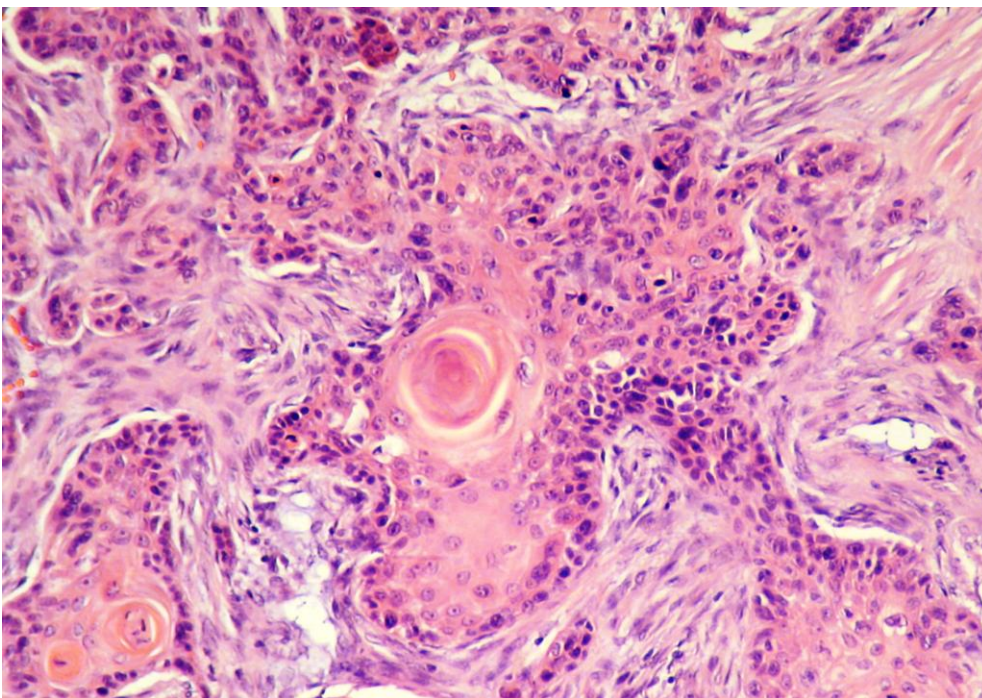


Fig. 2 Carcinoma epidermoide bien diferenciado con áreas de queratinización.

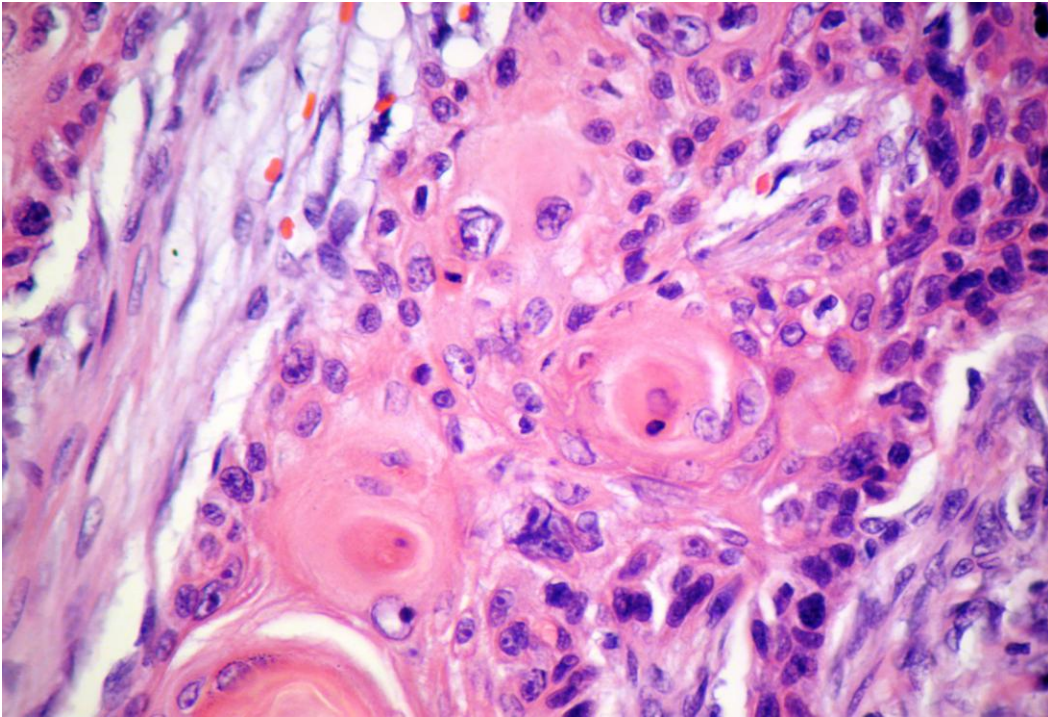


Fig. 3 Células de carcinoma epidermoide con núcleos hipercrómicos, vesiculosos, con presencia de nucléolo y citoplasma eosinófilo de aspecto laminar.

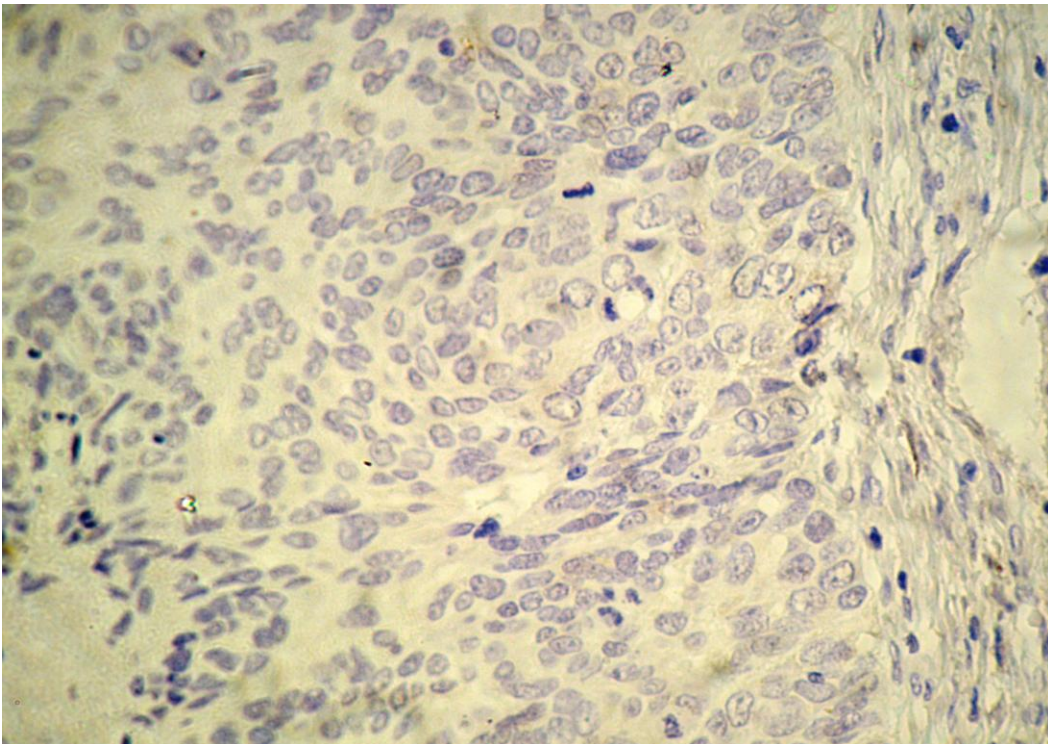


Fig. 4 Carcinoma epidermoide poco diferenciado, sin expresión de p16.

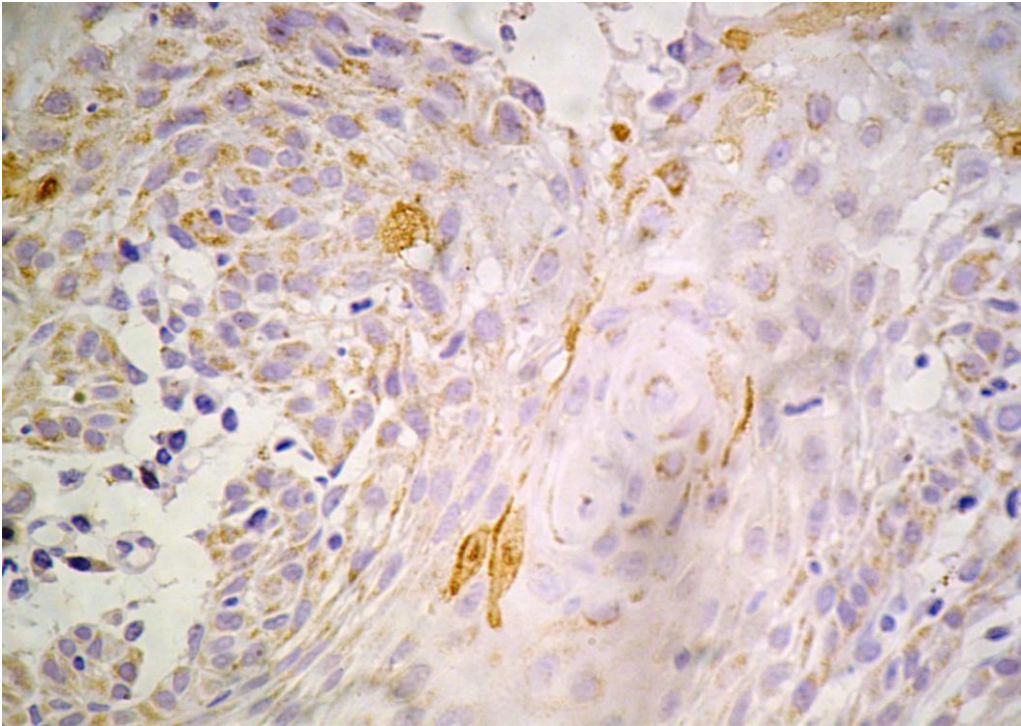


Fig. 5 Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado con expresión de p16 <30%.

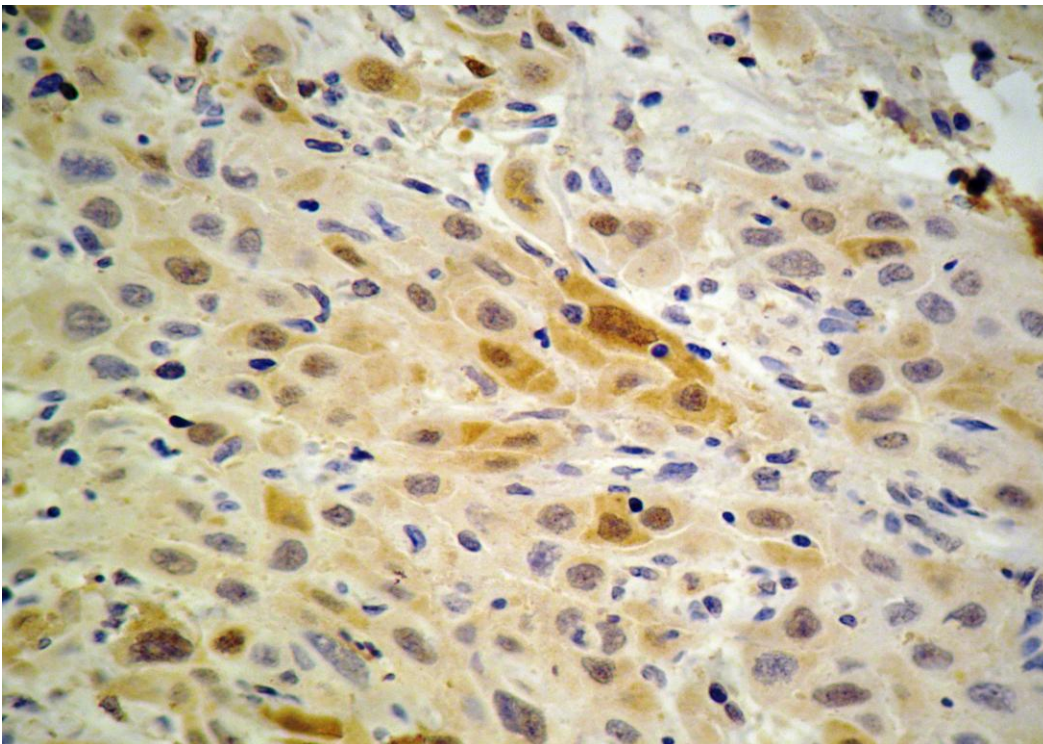


Fig.6 Células de carcinoma epidermoide con expresión de p16 <del 30%.

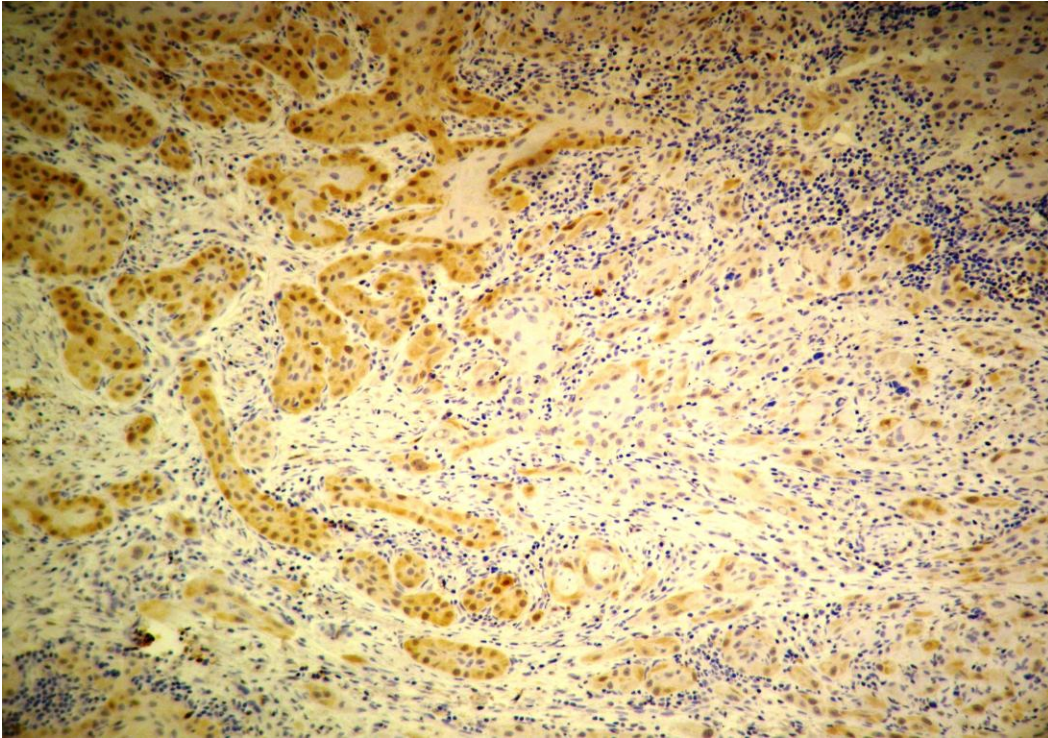


Fig 7. Células de carcinoma epidermoide con una expresión de p16 >del 30% y < del 60%.

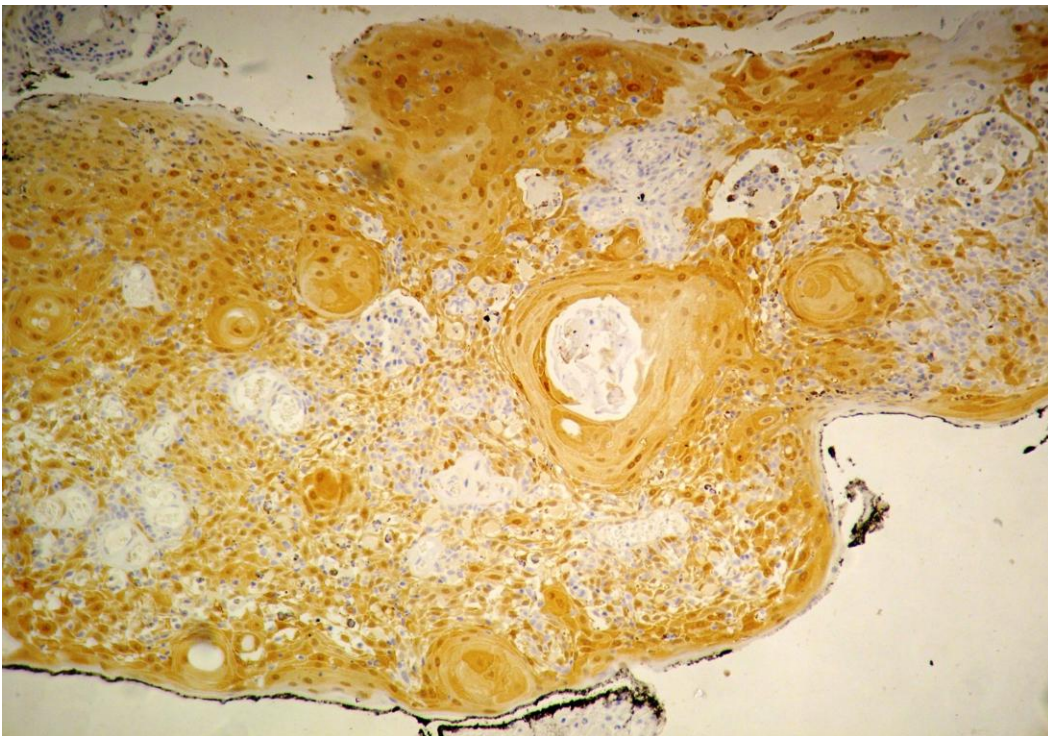


Fig. 8 Células de carcinoma epidermoide bien diferenciado con expresión de p16 del 60%.

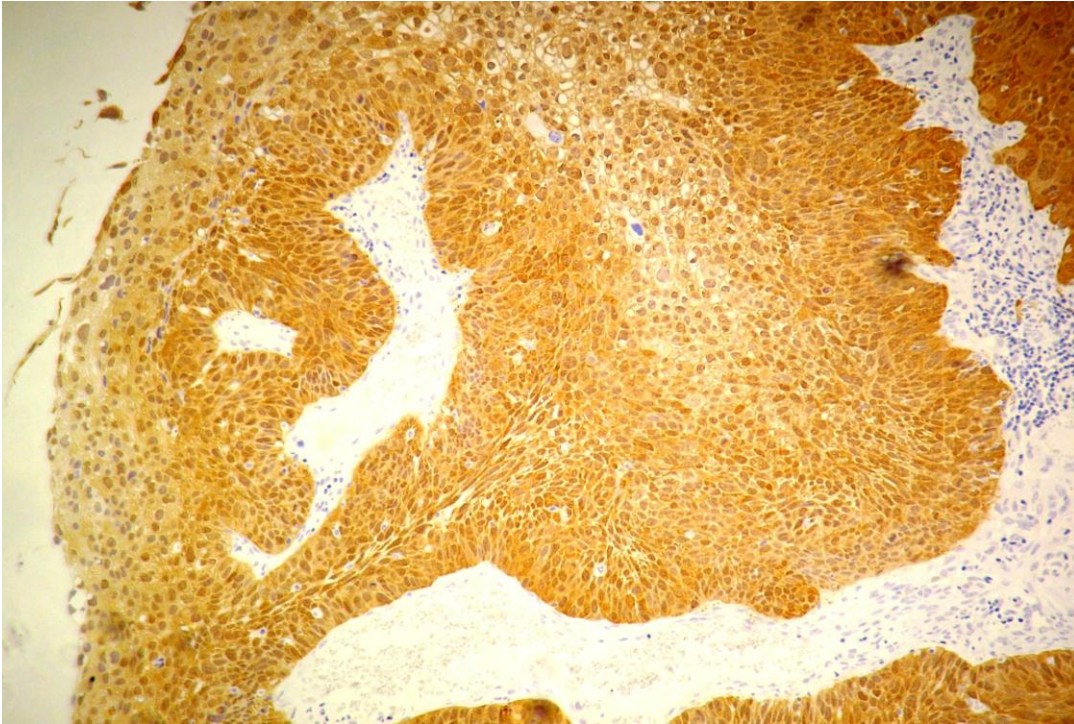
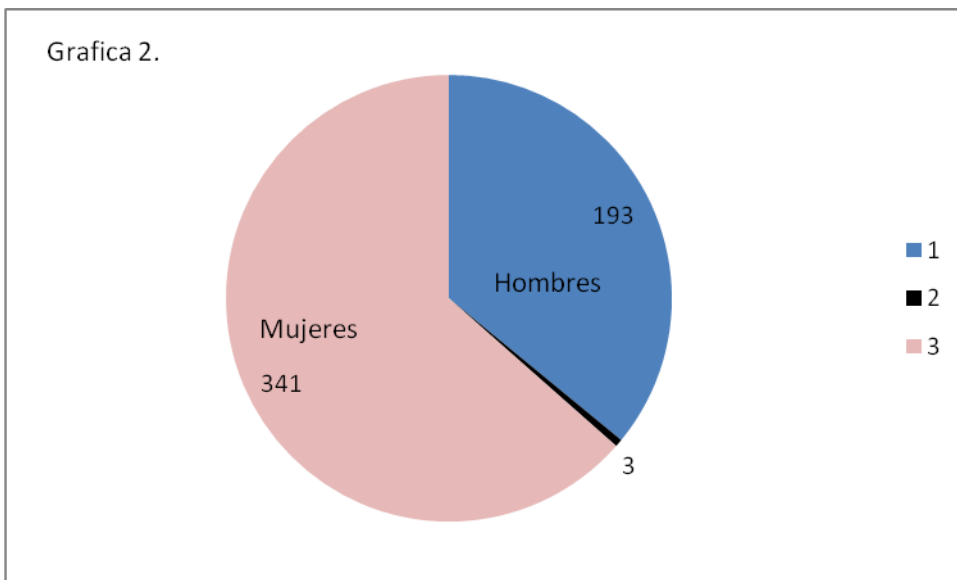
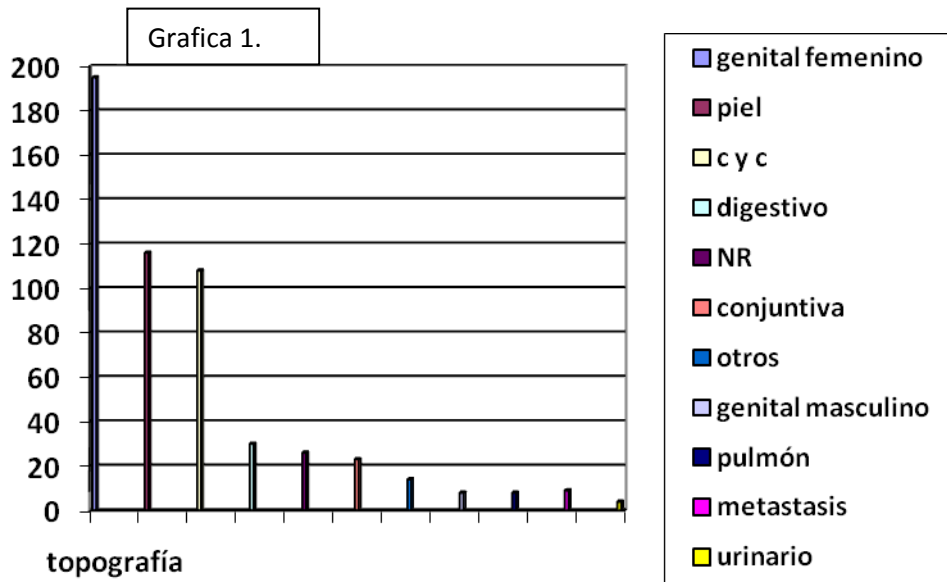


Fig. 9 Carcinoma epidermoide poco diferenciado, invasor con una expresión de p16 >del 60% (90%).

GRÁFICAS



TABLAS

Tabla 1.1 Total de casos de carcinoma epidermoide encontrados en el período 1999-2009

Localización	Casos	Mujeres	Hombres	Edad	Promedio de edad
Genital femenino	195	195	0	24-94	(56)
Piel	116	64	49	25-96	(71)
Cabeza y cuello	106	32	73	42-93	(67)
Tracto digestivo	30	13	17	35-91	(63)
Conjuntiva	21	8	13	30-98	(65)
Genital masculino	8	0	8	30-86	(61)
Pulmón	8	4	4	41-83	(63)
Urinario	4	1	3	60-86	(73)
Metástasis	9	3	6	40-94	(62)
Sitio sin especificar	26	12	15	43-90	(66)
Otros	14	9	5	42-87	(68)
Total	537	341	193		64.2

En los casos estudiados hubo tres en los que no se refirió el sexo.

Tabla 1.2 Casos seleccionados de carcinoma epidermoide. Distribución por sitio y promedio de edad				
Localización	Número de casos	Rango de edad	Promedio	Relación M:F
Amígdala	1	63	63	1:0
Conjuntiva	8	34-98	62	5:3
Faringe	3	52-70	62	3:0
Fosa nasal	3	64-84	74	2:1
Laringe	22	37-81	63	19:3
Lengua	6	44-87	59	2:4
Mucosa oral	4	61-82	71	2:2
Parótida	2	74-83	78	2:0

Tabla 2. Casos de carcinoma epidermoide de acuerdo a su grado de diferenciación y presencia de invasión.

Sitio	bien	moderado	poco	Invasor
Amígdala	1			1
Conjuntiva	7	1		5
Faringe		2	1	3
Fosa nasal	1	2		3
Laringe	9	10	3	22
Lengua	4	2		6
Mucosa oral	2	1	1	4
Parótida	1	1		2
Total	25	19	5	46

Tabla. 3 Grado y expresión inmunohistoquímica de p16						
Casos	Localización	Grado de diferenciación	Negativo	< 30%	30-60%	>60%
1	Amígdala	Bien				◀
1	Conjuntiva	Bien	◀			
2	Conjuntiva	Bien	◀			
3	Conjuntiva	Bien		◀		
4	Conjuntiva	Bien				◀
5	Conjuntiva	Bien				◀
6	Conjuntiva	Moderado				◀
7	Conjuntiva	Bien		◀		
8	Conjuntiva	Bien	◀			
1	Faringe	Moderado				◀
2	Faringe	Poco	◀			
3	Faringe	Moderado	◀			
1	Fosa nasal	Moderado				◀
2	Fosa nasal	Moderado	◀			
3	Fosa nasal	Bien	◀			
1	Laringe	Moderado	◀			
2	Laringe	Moderado	◀			
3	Laringe	Moderado	◀			
4	Laringe	Moderado		◀		
5	Laringe	Moderado	◀			
6	Laringe	Bien	◀			
7	Laringe	Moderado	◀			
8	Laringe	Bien	◀			
9	Laringe	Moderado				◀
10	Laringe	Bien		◀		
11	Laringe	Poco	◀			
12	Laringe	Bien	◀			
13	Laringe	Bien	◀			

14	Laringe	Moderado	◀			
15	Laringe	Moderado	◀			
16	Laringe	Bien	◀			
17	Laringe	Moderado	◀			
18	Laringe	Bien	◀			
19	Laringe	Poco	◀			
20	Laringe	Poco	◀			
21	Laringe	Bien		◀		
22	Laringe	Bien	◀			
1	Lengua	Bien				◀
2	Lengua	Moderado		◀		
3	Lengua	Bien	◀			
4	Lengua	Moderado	◀			
5	Lengua	Bien	◀			
6	Lengua	Bien	◀			
1	Mucosa oral	Poco		◀		
2	Mucosa oral	Bien	◀			
3	Mucosa oral	Bien	◀			
4	Mucosa oral	Moderado				◀
1	Parótida	Bien		◀		
2	Parótida	Moderado			◀	

Tabla 3.0 Expresión de p16 por sitio anatómico

Localización	Negativo	Positivo <30%	30-60%	>60%
amigdala				1
conjuntiva	3	2		3
Faringe	2			1
Fosa nasal	2			1
Laringe	18	4		1
Lengua	4			1
Mucosa oral	2	1		1
parotida		1	1	
total	31	8	1	9

Anexo 2.

Recolección de datos

Tabla. 1.1 Registro de casos					
casos	Número de registro	edad	sexo	Localización	Grado de diferenciación
1	3561-00	72	F	Lengua	Bien/inv
2	3954-00	60	M	Laringe	Moderado/inv
3	4159-00	60	M	Laringe	Bien/inv
4	1668-01	60	M	Conjuntiva	Bien
5	3327-01	62	M	Laringe	Poco/inv
6	3510-01	49	F	Laringe	Poco/inv
7	4839-01	44	F	Lengua	Bien/inv
8	4899-01	47	M	Lengua	Moderado/inv
9	6693-01	87	F	Lengua	Bien/inv
10	8261-01	50	M	Laringe	Bien/inv
11	8550-01	70	F	Mucosa oral	Moderado/inv
12	2240-02	50	M	Conjuntiva	Bien/inv
13	3930-02	42	M	Laringe	Bien/inv
14	1231-03	77	M	Laringe	Moderado/inv
15	4213-03	64	M	Fosa nasal	Moderado/inv
16	6351-03	75	M	Laringe	Moderado/inv
17	6729-03	51	F	Laringe	Moderado/inv
18	222-04	63	M	Laringe	Moderado/inv
19	523-04	60	M	Lengua	Moderado/inv
20	1089-04	76	M	Laringe	Moderado/inv
21	3564-04	72	M	Laringe	Bien/inv
22	3724-04	NR	F	Laringe	Moderado/inv
23	5717-04	70	M	Faringe	Moderado/inv
24	370-05	45	M	Conjuntiva	Bien
25	450-05	74	M	Laringe	Moderado/inv
26	2864-05	84	F	Fosa nasal	Moderado/inv
27	4166-05	98	F	Conjuntiva	Bien/inv
28	7456-05	72	M	Laringe	Bien/inv
29	5690-06	74	M	Fosa nasal	Bien/inv
30	8916-06	74	M	Parótida	Bien/inv
31	1171-07	83	M	Parótida	Moderado/inv
32	1191-07	74	F	Mucosa oral	Poco/inv
33	1543-07	63	M	Amígdala	Bien/inv
34	4262-07	37	M	Laringe	Bien/inv
35	4531-07	82	M	Mucosa oral	Bien/inv
36	4957-07	71	M	Laringe	Poco/inv
37	8448-07	71	M	Laringe	Bien/inv
38	479-08	64	M	Faringe	Poco/inv
39	1447-08	61	M	Mucosa oral	Bien/inv
40	2693-08	60	F	Conjuntiva	Bien/inv
41	5101-08	81	M	Laringe	Bien/inv
42	9850-08	72	M	Laringe	Moderado/inv
43	11017-08	58	M	Laringe	Moderado/inv
44	1022-09	45	F	Lengua	Bien/inv
45	1652-09	34	M	Conjuntiva	Bien/inv
46	4872-09	60	F	Conjuntiva	Moderado/inv
47	7898-09	52	M	Faringe	Moderado/inv

48	8794-09	61	M	Laringe	Bien/inv
49	8943-09	81	M	Conjuntiva	Bien

Tabla 2 Resultado de estudios de inmunohistoquímica en carcinomas epidermoides					
Registro	Localización	Negativo	Positivo <30%	Positivo 30-50%	Positivo >60%
3561-00	Lengua	◀			
3954-00	laringe	◀			
4159-00	Laringe	◀			
1668-01	Conjuntiva	◀			
3327-01	Laringe	◀			
3510-01	Laringe	◀			
4839-01	Lengua				◀
4899-01	Lengua		◀		
6693-01	Lengua	◀			
8261-01	Laringe		◀		
8550-01	Mucosa oral				◀
2240-02	Conjuntiva	◀			
3930-02	Laringe	◀			
1231-03	Laringe	◀			
4213-03	Fosa nasal				◀
6351-03	Laringe	◀			
6729-03	Laringe	◀			
222-04	Laringe		◀		
523-04	Lengua	◀			
1089-04	Laringe	◀			
3564-04	Laringe	◀			
3724-04	Laringe				◀
5717-04	Faringe				◀
370-05	Conjuntiva	◀			
450-05	Laringe	◀			
2864-05	Fosa nasal	◀			
4166-05	Conjuntiva		◀		
7456-05	Laringe	◀			
5690-06	Fosa nasal	◀			
8916-06	Parótida		◀		
1171-07	Parótida			◀	
1191-07	Mucosa oral		◀		
1543-07	Amígdala				◀
4262-07	Laringe		◀		
4531-07	Mucosa oral	◀			
4957-07	Laringe	◀			
8448-07	Laringe	◀			

479-08	Faringe	◀	
1447-08	Mucosa oral	◀	
2693-08	Conjuntiva		◀
5101-08	Laringe	◀	
9850-08	Laringe	◀	
11017-08	Laringe	◀	
1022-09	Lengua	◀	
1652-09	Conjuntiva		◀
4872-09	Conjuntiva		◀
7898-09	Faringe	◀	
8794-09	Laringe	◀	
8943-09	Conjuntiva		◀

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1). Pérez-Ordoñez B, Beauchemin M. y Jordan R. **Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck.** *J Clin Pathol* 2006; 59; 445-453.
- 2). Syrjänen, S D.D.S. **Human Papillomaviruses in Head and Neck Carcinomas.** *N Engl J Med* 2007;10 356-362. (www.nejm.org)
- 3). Chen R, Sehr P, Waterboer T., y cols. **Presence of DNA of human papillomavirus 16 but no other types in tumor-free tonsillar tissue.** *J Clin Micro* 2005;1408–1410.
- 4). Canedo P. y cols. **Expresión de p16INK4a en biopsias de cérvix uterino. Utilidad en el diagnóstico diferencial entre cervicitis crónica reactiva, neoplasia intraepitelial cervical de bajo y alto grado y carcinoma invasor.** *An Méd (Mex)* 2006; 51 (2): 49-57.
- 5). Gallegos-Hernández JF y cols. **Virus del papiloma humano asociado con cáncer de cabeza y cuello.** *Cir Ciruj* 2007;75:151-155.
- 6). ADONIS W.ET AL. **Evaluación de hipermetilación del gen *p16INK4α* en cáncer escamoso de pulmón en pacientes chilenos.** *Rev Chil Enf Respir* 2006; 22: 7-12.
- 7) Schelover E. y cols. **Evolución del carcinoma laríngeo asociado a lesión viral por Virus del Papiloma Humano (HVP).** UNNE, 2005. (www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-095.pdf)
- 8) Samir K. y cols. **Prevalence of human papillomavirus type 16 DNA in squamous cell carcinoma of the palatine tonsil, and not the oral cavity, in young patients.** *AmJ Surg Pathol* 2003;27,1463-1470.
- 9) Chauv A. y cols. **Distinctive association of p16INK4a overexpression with penile intraepithelial neoplasia depicting warty and/or basaloid features: a study of 141 cases evaluating a new nomenclature.** *AmJ Surg Pathol* 2010; 3;385-392.
- 10) Clementes A. y cols. **The presence of human papillomavirus or p16 in six cases of retroperitoneal carcinoma.** *Am Coll Obstet Gynecol* 2010;116 (5)1042-1046.
- 11) Vickie Y. Jo y cols. **Papillary squamous cell carcinoma of the head and neck.** *Am J Surg Pathol* 2009;33:1720-1724.
- 12) Mendenhall W. y Logan H. **Human Papillomavirus and head and neck cancer.** *Am J Clin Oncol* 2009;32(5)535-539.
- 13) Kostov M y cols. **Correlation of cell cycle regulatory proteins (p53 and p16INK4a) and bcl-2 oncoprotein with mitotic index and thickness of primary cutaneous malignant melanoma.** *Bosnian Journal of Basic Medical Science* 2010;10(4)276-281.
- 14) Neelam G. y cols. **Prognostic significance of molecular markers in oral squamous cell carcinoma: a multivariate analysis.** *Head and Neck-DOI* 2009. (www.interscience.wiley.com).
- 15) Reed A. y cols. **High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma.** *Cancer Res* 2011;56,3630-3633.

16) Strome S. y cols. **Squamous cell carcinoma of the tonsils: a molecular analysis of HPV associations.** Am Ass of Cancer Res 2002.8,1093-1100.

17) Liuzzi J, *et al.* **Tipificación del virus del papiloma humano en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.** *Rev Venez Oncol.* 2007,19,(3),.210-218.