



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

**PREVALENCIA DEL CARCINOMA ESCAMOSO DE OROFARINGE Y SU
RELACIÓN CON LOS GENOTIPOS DEL VPH EN PACIENTES DEL
HOSPITAL JUAREZ DE MÉXICO**

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MEDICO ESPECIALISTA EN
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGIA DE CABEZA Y CUELLO

PRESENTA:
DRA. JESSICA GUTIÉRREZ GONZÁLEZ

ASESOR DE TESIS:
DR. OMAR JESÚS JUÁREZ NIETO

CIUDAD DE MÉXICO, 2017.





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.

AUTORIZACION DE TESIS

DR. JOSÉ MANUEL CONDE MERCADO

JEFE DE DIVISIÓN DE ENSEÑANZA DE POSGRADO
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

DR. OMAR JESÚS JUÁREZ NIETO

ASESOR DE TESIS
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGIA
DE CABEZA Y CUELLO
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

DR. OMAR JESÚS JUÁREZ NIETO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGIA DE CABEZA Y CUELLO
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

DRA. MARÍA DEL CARMEN DEL ÁNGEL LARA

JEFA DE SERVICIO
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGIA DE CABEZA Y CUELLO
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

NÚMERO DE REGISTRO: HJM 0257/17-R

DEDICATORIA

A mi Mamá, Papá y Hermano: Personas fundamentales en mi vida, quienes me han guiado a lo largo de ella y me han visto tener logros y fracasos; y sin embargo siempre han estado brindándome su apoyo y amor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios: Por darme la capacidad física y mental para poder estar aquí, y permitirme tener ésta oportunidad, que no sólo me ha servido a crecer en lo profesional sino también en lo personal, y me ha facilitado cumplir sueños.

A mi familia: A mi mamá por ser mi amiga, darme sus consejos y ser mi ejemplo de esfuerzo, a mi Papá por mostrarme el sentido de la organización, responsabilidad y sobre todo por su apoyo incondicional. A mi hermano por su comprensión, cariño y nobleza.
Gracias a ustedes por creer en este sueño hecho realidad.

A mis amigas y compañeros: Por tenderme su mano, por sus palabras de aliento y comprensión en momentos difíciles. Por aquellas memorias de diversión y aprendizaje.

A mis Maestros: Dr. Juárez, Dr. Gutiérrez, Dr. Padilla, Dr. Galindo, Dr. Aguilar, Dra. Cárdenas, Dr. Estrada, Dra. Del Ángel, gracias por brindarme su enseñanza, paciencia, por permitirme desarrollar destrezas y habilidades; y conocerlos como persona.

INDICE

MARCO TEÓRICO	6
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	10
OBJETIVO GENERAL	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
TAMAÑO DE MUESTRA	12
UNIVERSO O POBLACIÓN	12
VARIABLES	13
MATERIAL Y MÉTODOS	14
DISEÑO DEL ESTUDIO	15
RESULTADOS	17
ANÁLISIS	26
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30

MARCO TEÓRICO

El cáncer epidermoide de cabeza y cuello representa una causa significativa de morbilidad a nivel mundial, constituye el 16.6%, y el 3.4% de las muertes por cáncer en Europa y Estados Unidos de América, respectivamente. Los subsitios anatómicos más comunes para este tipo de carcinoma suelen ser la laringe, cavidad oral y la orofaringe (GLOBOCAN 2012).

El carcinoma escamoso de amígdalas es el tipo más común de cáncer orofaríngeo, y representa el 15-20% de los carcinomas orofaríngeos en países como Suecia, Finlandia y Estados Unidos de América. Gracias a los programas para disminuir la incidencia del tabaquismo en los Estados Unidos de América, el cáncer orofaríngeo negativo al Virus del Papiloma Humano (VPH) relacionado a tabaquismo va en decremento, y en su lugar, ha aumentado la incidencia de Cáncer Escamoso de Orofaringe (CEO) relacionado a la presencia de VPH en un 2-3% por año. Según los datos del “Surveillance Epidemiology and End Results (SEER)”, la prevalencia del VPH en los cánceres orofaríngeos aumentó en un 225% de 1988 al 2004, y la de los cánceres negativos para el VPH disminuyó en un 50% en hombres caucásicos y afroamericanos (1)

A pesar de ser un cáncer poco frecuente, la Sociedad Americana Contra el Cáncer calcula que para el año 2016, habrán 48,330 personas con cáncer de orofaringe y de cavidad oral, de las cuales 9,570 personas morirán. El cáncer orofaríngeo de tipo escamoso puede presentarse en adultos de 35-44 años de edad con baja incidencia, pero en adultos de 55-64 años de edad ésta incidencia incrementa en 11.1 por cada 100,000 para el caso hombres (10.0-12.1 con un IC 95%) y en un 3.9 por cada 100,000 para mujeres (3.3-4.6 con IC 95%) (2). En México, la información epidemiológica en relación al cáncer bucal y orofaríngeo es escasa, según el Registro Histopatológico de Neoplasias de México, en el año 2002 la incidencia de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello fue de un 5%, con 147 casos de

cáncer de orofarínge de un total de 108,064 malignidades (esto representa casi el 1% de éstas); la relación hombre-mujer fue de 3.4:1.

Tradicionalmente, se han asociado a varios factores de riesgo al cáncer orofaríngeo de los cuales los más importantes son el uso de tabaco (inhalado o masticado) y el consumo alcohol. Sin embargo, en estudios epidemiológicos, patológicos y moleculares realizados en las últimas décadas sugieren una etiología heterogénea; existiendo una creciente de 45-70% de nuevos casos asociados a la aparición de un nuevo factor de riesgo que impacta considerablemente hacia forma biológica, características clínicas de presentación, resultados de tratamiento, así como en posibles estrategias de prevención y manejo; nos referimos al Virus de Papiloma Humano (VPH). Existen numerosos subtipos de este virus catalogándose en base al potencial neoplásico en bajo riesgo y alto riesgo, de los cuales según The Agency of Research of Cancer (IARC) catalogó los genotipos VPH 16 y 18 como carcinógenos humanos asociados a cáncer orofaríngeo escamoso de mucosas, con una asociación para el primero del 90% a desarrollar ésta patología (4, 5).

La razón para el aumento del carcinoma epidermoide orofaríngeo VPH-positivo se ha sugerido que depende del cambio en los comportamientos sexuales; Por ejemplo: debut sexual temprano, el número de compañeros orales o vaginales, así como el aumento en el número de parejas sexuales.

Recientemente se ha demostrado una fuerte asociación estadísticamente significativa entre las prácticas orosexuales con el cáncer orofaríngeo de células escamosas positivas a VPH16. (2,3) Numerosos estudios han demostrado que el pronóstico para el carcinoma escamoso de orofaringe VPH-positivo es mucho mejor que para el VPH-negativo, independientemente del estadio clínico y TNM; ya que tras el tratamiento, se observa una supervivencia a los 5 años para el primero de 70-80% contra 25-40% para el segundo, respectivamente; lo cual demuestra claramente una característica biológica y clínica asociada a la transcripción activa del virus (5). Genéticamente este tipo de carcinoma es menos complejo que aquel que no es causado por HPV.

Los VPHs son virus pequeños (~55 nm de diámetro), no-envueltos, con una capsida icosaédrica compuesta por 72 capsómeros que alberga un genoma de dsDNA circular. El genoma del VPH se divide en tres regiones: E: genes codificantes tempranos, L: genes codificantes tardíos, y una LCR. A saber, la función de las proteínas E1/E2 es controlar la replicación y los niveles de expresión de E5, E6 y E7; por otro lado, E4 es capaz de polimerizarse en fibras de aspecto amiloide, estas fibras dan el fenotipo característico de coilocito. Se cree que las fibras amiloides probablemente permiten la liberación del virus en las células suprabasales del tejido infectado (6). E5 puede potenciar la actividad transformante de E6 y E7 a través de la inhibición del MHC II, y la sobre-expresión de MAPK y EGFR en las células infectadas (7). E6 es un oncogen, y su función canónica consiste en unir y degradar a la proteína p53 a través de una ubiquitina ligasa conocida como E6AP. E7 también es considerado un oncogen, y su función es probablemente más importante que E6 en el carcinoma epidermoide, y su función canónica consiste en unir y degradar a pRb permitiendo el progreso del ciclo celular. L1/L2 codifican proteínas de la capsida viral, L1 es la principal proteína de superficie de la capsida, y L2 une al genoma del VPH para facilitar la encapsidación. La LCR contiene el origen de replicación del virus, además de contener diversos sitios de unión a factores de transcripción. (8)

En un número importante de casos (y siempre y cuando se tenga una inmunidad competente), las lesiones generadas por VPH pueden remitir espontáneamente, aunque en algunos casos, estas pueden progresar hacia lesiones intraepitelial escamosa de alto grado. (7,8)

Métodos de detección de HPV

Para el cáncer de orofaringe existe una alta asociación entre la presentación de la enfermedad con relación a la actividad transcripcional del VPH16 de las células tumorales.

1. Diagnóstico morfológico. Identificación morfológica de las alteraciones citopáticas producidas por el virus HPV (principalmente coilocitosis) en las células escamosas, las cuales pueden observarse tanto en el examen citológico como en el estudio histológico.
2. Método inmunohistoquímico; Detección de proteínas del HPV, por ejemplo proteína p16 es muy sensible para evidenciar la tasa transcripcional activa del oncogen E7 del HPV.
3. Métodos de biología molecular para la detección de este virus, las pruebas de detección del VPH en el cáncer de orofaringe se describen a continuación, con pequeñas variantes entre ellas en cuanto a diferencias en cuanto a su sensibilidad, complejidad y reproductibilidad: (5)
 - DNA determinado por Reacción de Polimerasa en Cadena (PCR) es muy sensible pero no permite valorar la actividad transcripción y tampoco confirma que el virus de VPH proviene en ese momento de las células tumorales. Sin embargo, la forma de DNA por hibridación *in situ* permite observar que la señal proviene directamente del núcleo de la célula tumoral.
 - RNA determinado por RT-PCR permite valorar la actividad de transcripción tumoral para el HPV-16 para los oncogenes E6 y E7; sin embargo, no confirma que provenga actualmente de las células tumorales. El RNA detectado por hibridación *in situ* permite valorar tanto la actividad transcripcional así como confirma que esta actividad proveniente directamente del núcleo de la célula tumoral.
 - Captura de híbridos. En esta técnica se utilizan sondas de RNA capaces de detectar varios tipos de VPH. Cuando la muestra presenta infección vírica se produce un híbrido RNA-DNA que es capturado por un anticuerpo específico contra híbridos y

detectado mediante una reacción tipo ELISA que utiliza un compuesto quimioluminiscente para revelar la reacción y que proporciona incluso información sobre la cantidad de DNA viral presente en la muestra, que parece tener relación con la presencia de lesiones de alto grado. La técnica dispone de dos sondas: una para virus de bajo riesgo y otra para virus de alto riesgo, aunque una práctica habitual consiste en aplicar únicamente la sonda para detección de virus de alto riesgo, con lo cual se reducen notablemente los costos. El test Hybrid Capture II permite detectar cinco virus de bajo riesgo (6, 11, 42, 43, 44) y 13 tipos de riesgo alto o intermedio (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68), involucrados en el 90% de casos de carcinoma de orofaringe.

METODOLOGIA

Pregunta de investigación

- ¿Los pacientes con diagnóstico de cáncer de orofaringe, en el Hospital Juárez de México están relacionados a la positividad para genotipos del Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo?

Justificación

- El incremento acelerado en la tasa de incidencia y prevalencia de cáncer escamoso de orofaringe asociado a virus de papiloma humano de alto riesgo (HPV-AR).
- Existe evidencia molecular sustancial que sugiere la participación del Virus de Papiloma Humano de alto riesgo en la patogénesis del cáncer escamoso de orofaringe, sin embargo los datos epidemiológicos en nuestra población así como en Latinoamérica son inconsistentes.
- En nuestro Hospital no se han estudiado la incidencia respecto al carcinoma escamoso de orofarínge positivo a HPV-AR.

Objetivo General

Determinar la prevalencia de cáncer escamoso orofaríngeo diagnosticado en pacientes del Hospital Juárez de México en asociación a genotipos de HPV-AR, especialmente al genotipo 16.

Objetivo específico

- Valorar si los casos positivos para HPV-AR están en relación a los antecedentes de prácticas orosexuales.

Tipo de estudio

- Estudio ambispectivo, observacional, transversal y descriptivo
- Pacientes con diagnóstico de 5 años atrás a la fecha (2011-2015)
- Grupo a evaluar
 - Evaluar pacientes del Hospital Juárez de México
 - Pacientes con diagnóstico de cáncer orofaríngeo del Hospital Juárez de México, no importando estadio clínico al momento del diagnóstico.

Población

Pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de orofaringe, que consultaron al servicio de Otorrinolaringología del Hospital Juárez de México en el periodo comprendido entre Enero de 2011 – Diciembre 2015 (5 años)

Criterios de inclusión

- Pacientes del Hospital Juárez de México diagnosticados con cáncer orofaríngeo independientemente del estadio clínico al momento del diagnóstico.
- Casos con diagnóstico de tumor primario localizado en orofaringe (amígdalas y base de lengua)
- Pacientes mayores de 18 a 65 años
- Pacientes con antecedentes de factores de riesgo

- Pacientes que firmen el consentimiento informado
- Pacientes con reporte histopatológico y de inmunohistoquímica con diagnóstico de cáncer escamoso de orofaringe.
- Pacientes que no han recibido y aquellos que ya recibieron tratamiento quirúrgico y/o quimio-radioterapia con diagnóstico histopatológico positivo.

Criterios de exclusión

- Paciente con diagnóstico de carcinoma escamoso de cabeza y cuello que no se encuentre localizado en Orofaringe.
- Otro tipo de neoplasias (benignas y malignas) en cabeza y cuello.
- Pacientes que se niegan a brindar información respecto a factores de riesgo.
- Pacientes que se niegan a firmar consentimiento informado
- No contar con datos completos en el expediente
- No contar con bloque de parafina disponible para ser estudiado.

Criterios de eliminación

- Pacientes que no cuenten con diagnóstico de carcinoma escamoso de orofaringe
- Muestra histopatológica insuficiente.
- Muestra histopatológica de mala calidad para obtención del PCR
- Pacientes con antecedentes de Enfermedades de Transmisión Sexual diferente a VPH
- Pacientes con consumo de otras toxicomanías (marihuana)

Variables independientes

- Edad
- Genero
- Número de parejas sexuales
- Número de parejas con prácticas orosexuales
- Presencia de VPH-AR en prueba de captura de híbridos y biología molecular.
- Presencia de VPH-AR por inmunohistoquímica

Variables dependientes

- Consumo de tabaco y su frecuencia
- Consumo alcohol y su frecuencia
- Antecedentes de Enfermedades de Transmisión Sexual previas

Materiales y métodos

Aplicación de cuestionario que incluye:

- Género
- Edad
- Número de parejas sexuales
- Uso de métodos de barrera
- Tabaquismo y su frecuencia
- Alcoholismo y su frecuencia
- Enfermedades de Transmisión Sexual diagnosticadas previamente
- Tratamientos de quimioradioterapia previos
- Tratamiento quirúrgico previo

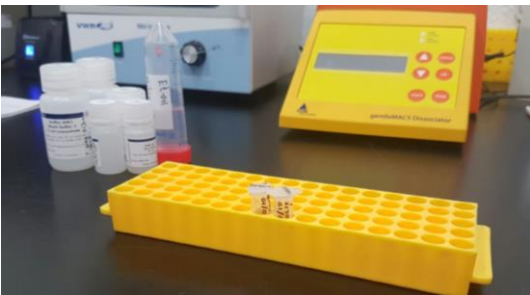
DISEÑO DEL ESTUDIO

Éste estudio se realizó en pacientes del Hospital Juárez de México durante un periodo de 12 meses por parte del servicio de Otorrinolaringología y en conjunto con la Unidad de Investigación (Laboratorio 3 de Biología Molecular del Cáncer).

a) Estudio Retrospectivo:

Se obtuvieron los números de expediente de aquellos pacientes que contaban con un diagnóstico histopatológico de carcinoma escamoso de orofaringe. Posteriormente, éstos mismos fueron revisados y se recopiló la información de acuerdo a los parámetros previamente descritos. Con la información recopilada, se solicitó al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México cortes histológicos de 5 μm de espesor de tejido fijado en parafina provenientes de biopsias de orofaringe correspondientes a los casos de positividad.

Los cortes histológicos se desparafinaron a través de un tratamiento con xilol/xilol-alcohol/alcoholes graduales para posteriormente obtener el tejido pulverizado a través de un raspado con navaja del tejido desparafinado en la laminilla.



El tejido pulverizado se transfirió a un tubo de 1.5 ml para después lavarse con PBS 1X. Tras lavarse con PBS 1X el tejido se centrifugó a 13,000 rpm y se retiró el sobrenadante.



La extracción del DNA, se realizó con el kit CLART®HPV2, el cual detecta 35 genotipos del HPV; los genotipos de alto riesgo que detecta son los genotipos:16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68B, de riesgo moderado (o alto riesgo probable) a los genotipos: 26, 53, 73, 82; y de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 70, 71, 72, 81, 83, 84, 85, 89.

El genotipado del VPH mediante éste kit se realizó de acuerdo a las especificaciones del fabricante, es específico para cada sonda del microarreglo y se realiza por triplicado para cada uno de los genotipos. A su vez, se cuenta con controles internos de hibridación para cada microarreglo, como controles de calidad.

El análisis de los microarreglos se realizó de forma totalmente automatizada en un lector SAICLART®, y el software de procesamiento de microarreglos desarrollado por GENOMICA. Este software es capaz de detectar e interpretar automáticamente los genotipos presentes en la imagen, evitando así cualquier subjetividad que podría introducir la intervención del usuario.

b) Estudio Prospectivo:

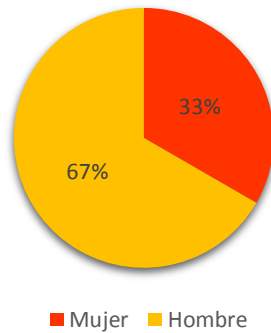
Para los nuevos casos detectados en aquellos pacientes con factor de riesgo y lesión clínica evidente en orofaringe se realizó la toma de biopsia de tejido fresco, en consultorio de servicio de Otorrinolaringología, la cual posteriormente fue depositada y transportada en un vial (RNA Lateral) para mantener la muestra en fresco y sometido a 4°C durante 24 horas, para después realizar la amplificación y determinación de DNA, realizando posteriormente los microarreglos en caso de presentarse material genético positivo a VPH.

Las actividades previamente descritas para este estudio fueron llevadas a cabo por el médico residente del servicio de Otorrinolaringología involucrado en este proyecto, así como de entregar las muestras a la Unidad de Investigación (Laboratorio 3 de Biología Molecular del Cáncer) con el fin de aplicar el procedimiento previamente descrito tanto en cortes histopatológicos como en biopsias de tejido fresco.

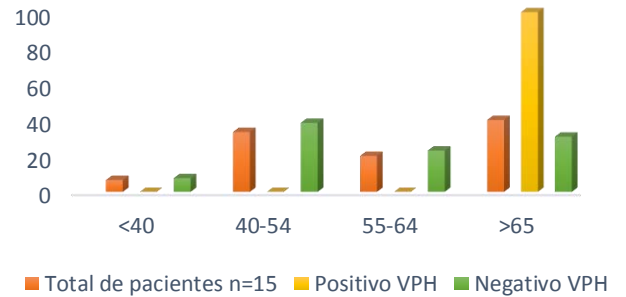
RESULTADOS

Se encontraron 20 casos de cáncer de orofarínge en pacientes del Hospital Juárez de México diagnosticados durante el periodo 2011-2015, de los cuales se obtuvieron 15 biopsias para determinación del DNA; los 5 pacientes restantes tuvieron que ser eliminados debido a que no contábamos con expediente completo o biopsia disponible para obtener la información requerida para este estudio. La información demográfica se muestra en la tabla 1. Se encontraron 10 hombres y 5 mujeres; en donde el rango de edad varía desde los 44 a los hasta los 78 años, con una media de 62 años y 49 años respectivamente.

**MUESTRA TOTAL DE PACIENTES
(N=15)**



**DISTRIBUCIÓN POR RANGO DE
EDAD**



La mayoría de los tumores fueron localizados en amígdala palatina (n=13) tabla 2, seguido de 2 casos en base de lengua; los pacientes con cáncer en base de lengua fueron más jóvenes (edad promedio: 51 años) que los de amígdala.

SUBSITIO DE LOCALIZACION

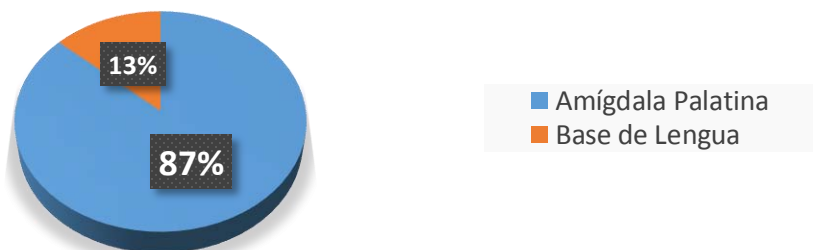
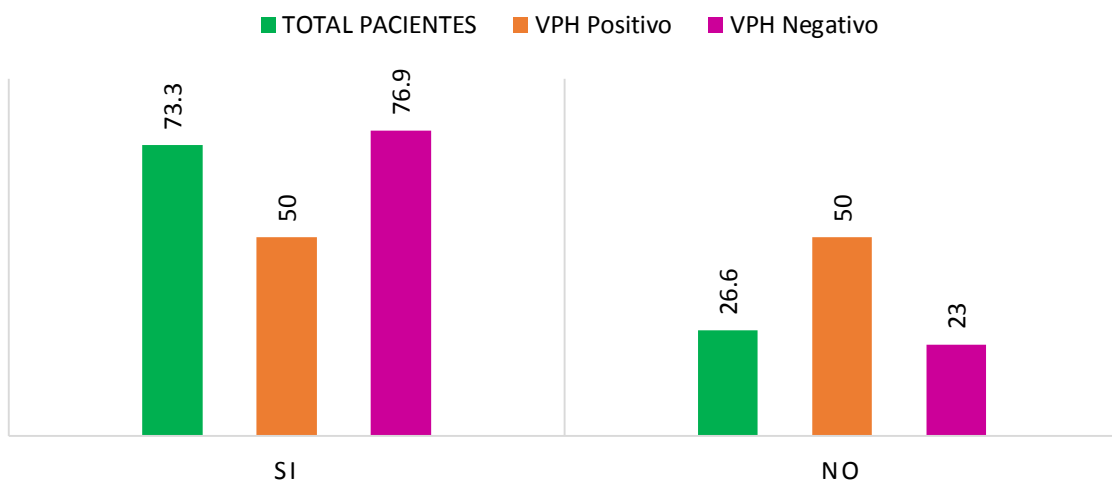


Tabla 1. Características sociodemográficas, incluyendo factores de riesgo

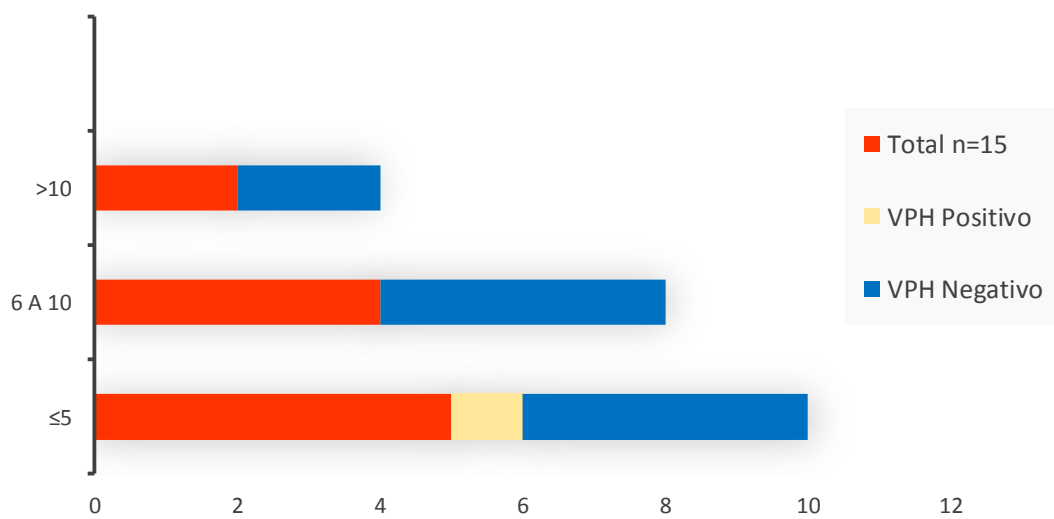
Características del paciente	Total de pacientes (n=15)		VPH positivos (n=2) (13.3)		VPH negativos (n=13)	
	n	%	n	%	n	%
Género						
Mujer	5	33.3	1	50	4	30.7
Hombre	10	66.6	1	50	9	69.2
Edad (años)						
<40	1	6.6	0	0	1	7.6
40-54	5	33.3	0	0	5	38.4
55-64	3	20	0	0	3	23
≥65	6	40	2	100	4	30.7
Uso de tabaco						
Si	11 (8:3)	73.3	1	50	10	76.9
No	4 (2:2)	26.6	1	50	3	23
Número de años						
<20	6	40	1	100	5	38.4
>20	5	33.3	0		5	38.4
Número de cigarros al día						
≤5	5	33.3	1	100	4	30.7
6-10	4	26.6	0	0	4	30.7
>10	2	13.3	0	0	2	15.3
Consumo de bebidas alcohólicas						
No	5	33.3	1	50	4	30.7
Si	10	66.6	1	50	9	69.2
Frecuencia de consumo						
Bebedor social	4	26.6	1	100	3	23
Bebedor recurrente	6	40	0	0	6	46.1

Respecto a los factores de riesgo asociados (tabla 1), se encontró el uso de tabaco es practicado por la mayoría de los pacientes (73,3%), con un consumo en promedio de 5 a 10 cigarrillos por día (33,3%), en un periodo de aproximadamente 10 años.

PORCENTAJES DE CONSUMO DE TABACO

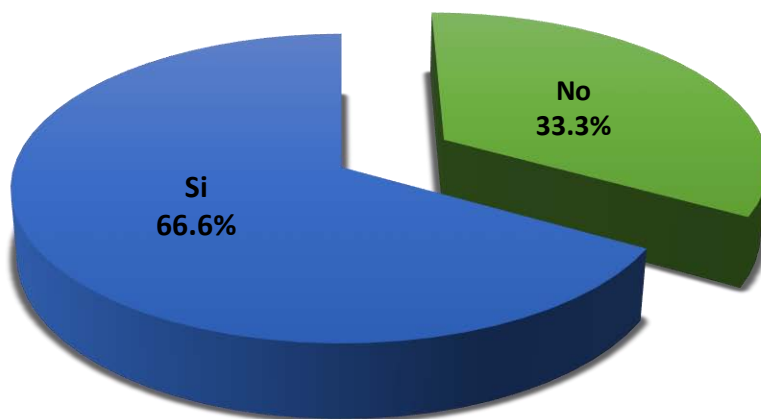


CONSUMO CIGARILOS/DIA

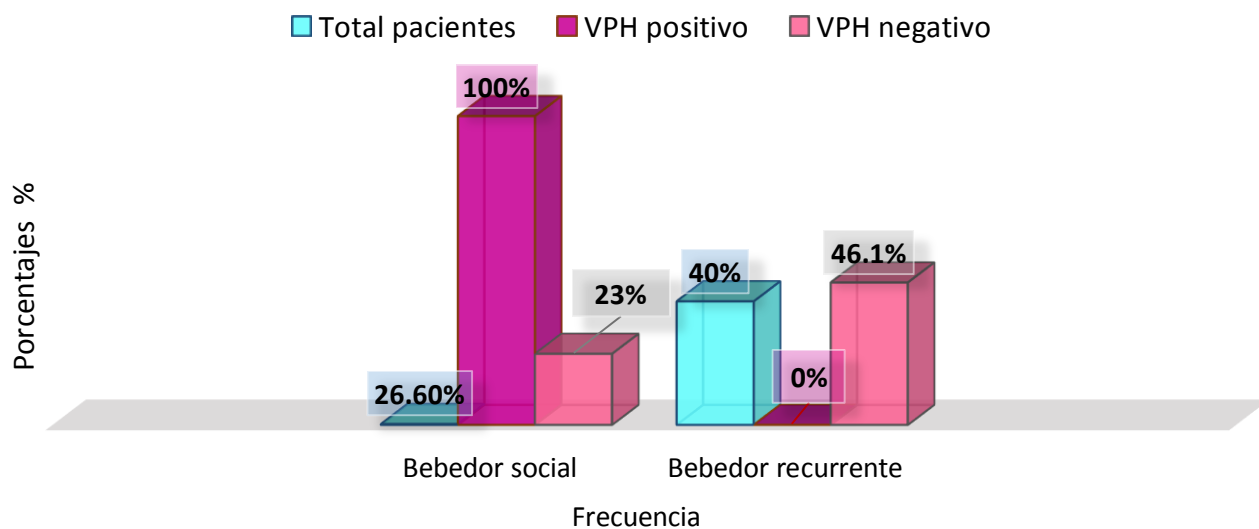


En cuanto al hábito y consumo de alcohol se encontró que el 66,6% lo realiza con una frecuencia diaria del 40%; siendo hábitos Practicados usualmente en el género masculino para ambos factores.

INGESTA DE ALCOHOL



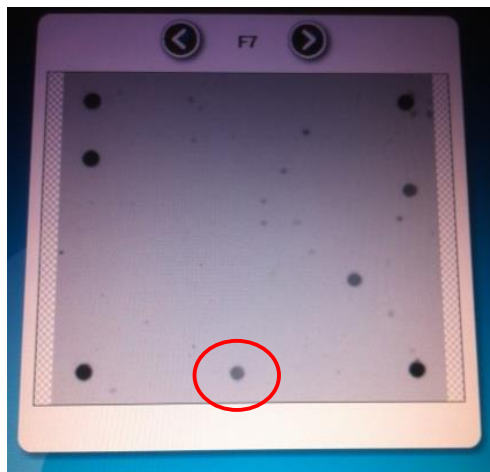
FRECUENCIA DE CONSUMO



La muestras de los 15 pacientes, a las cuales se les realizo purificación del DNA y aplicación de microarreglo para VPH, se obtuvieron de la forma siguiente: 10 muestras a partir de cortes embebidos en parafina y 5 de tejido fresco y depositado en RNA latter.

De los 13 casos de Cáncer Escamoso de Orofaringe en amígdala, 1 caso se reportó positivo para proteína p16 por inmunohistoquímica (mujer), pero negativo para microarreglo por lo cual no se pudo determinar genotipo de VPH; y otro fue positivo para VPH, por microarreglo presentado positividad para genotipo 16 (hombre); los 11 casos restantes, junto con los de base de lengua, al realizar la aplicación de microarreglo resultaron negativos. El porcentaje de cáncer de orofarínge en el cual se detectó DNA VPH16 fue del 13.3% (2 de 15) tabla 1. De los pacientes previamente mencionados, en el primer caso la paciente negó todo tipo de antecedente de consumo de tabaco, alcohol o práctica orosexual; desafortunadamente en el siguiente paciente no fue posible recolectar la información respecto a antecedentes de práctica orosexual debido a que estos no se encontraban reportados en el expediente.

- Electroforesis y microarreglo positivo a VPH16



Virus		
Virus	Resultado	Controles
Tipo 6	Negativo	Conforme
Tipo 11	Negativo	Conforme
Tipo 16	POSITIVO	Conforme
Tipo 18	Negativo	Conforme

- Realización de Microarreglo con resultado negativo a VPH



Pos.	ID Ensayo	Ensayo	Array ID	Tejido	Balanceo muestra	Resultado
09	50208	CLART HPV2 B	00000000000208	71	71-0	Negativo
09	50208	CLART HPV2 B	00000000000208	72	72-0	Negativo
A10	50208	CLART HPV2 B	00000000000208	73	73-0	Negativo
B10	50208	CLART HPV2 B	00000000000208	74	74-4	Negativo
C10	50208	CLART HPV2 B	00000000000208	75	75-0	Negativo
D10	50208	CLART HPV2 B	00000000000208	76	76-en 11/04/2017	No hay DNA

Al momento del diagnóstico inicial los pacientes se encontraban clínicamente en fase avanzada, estadio IV en su mayoría (60%); y en estadio II y III con 20% respectivamente (tabla 2), dentro de los cuales se encuentra el paciente positivo a infección por VPH16. Ningún paciente se presentó en estadio de fase temprana I. Según la clasificación TNM, en cuanto tamaño tumoral, existieron 7 con dimensión de 2 a 4 centímetros y en 6 casos con extensión a estructuras adyacentes a amígdala y base de lengua (40%); sin embargo la determinación principal para el estadio fue por la presentación ganglionar (60%); es importante mencionar que ninguno de los pacientes al momento del diagnóstico presentaba metástasis.

Tabla 2. Características tumorales en base a clasificación TNM para Cáncer de Cabeza y Cuello, tratamiento recibido.

Características tumorales	Total de pacientes (n=15)		VPH positivos (n=2)		VPH negativos (n=13)	
	n	%	n	%	n	%
SUBSITIO						
Amígdala Palatina	13	86.6	2	100	11	84.6
Base de Lengua	2	13.3	0	0	2	15.3
CLASIFICACION TNM						
TUMOR						
T1	0	0	0	0	0	0
T2	7	36.84	0	0	7	53.8
T3	2	13.33	1	50	1	7.6
T4	6	40	1	50	5	38.4
GANGLIO						
N0	6	40	1	50	5	38.4
N1	4	26.6	0	0	4	30.7
N2 a-c	4	26.6	1	50	3	23
N3	1	6.66	0	0	1	7.6
METASTASIS						
M0	15	100	0	0	15	100
M1	0	0	0	0	0	0
ESTADIO						
I	0	0	0	0	0	0
II	3	20	0	0	3	23
III	3	20	0	0	3	23
IV	9	60	2	100	7	53.8
TRATAMIENTO						
Si	9	60	1	100	8	61.5
No	6	40	0	0	6	46.1
TIPO DE TRATAMIENTO						
CIRUGIA	0	0	0	0	0	0
RT	1	6.66	0	0	1	7.6
RT/QT	4	26.6	1	100	3	23
QX/RT	1	6.66	0	0	1	7.6

RT: Radioterapia, RT/QT: Radioterapia y Quimioterapia, Qx/RT: Cirugía y Radioterapia, Qx/RT/QT: Cirugía con Radioterapia y Quimioterapia.

El 60% de los pacientes recibieron tratamiento, el cual constó de QT/RT (27%), esta modalidad fué aplicada en el paciente con presencia de VPH 16; otras alternativas como radioterapia única o cirugía con radioterapia se usaron en el 6.66% de los casos respectivamente; el tratamiento combinado a base de cirugía + QT/RT se usó en el 20%. Cabe mencionar que dentro del 40% de los pacientes que no recibió tratamiento, se incluye a la paciente con p16 positivo, ya que esta se negó a recibir el mismo.

ANÁLISIS

Este estudio epidemiológico muestra que los pacientes evaluados se encuentran en el rango de edad conforme lo marcan estudios como el de Nasmann y Hammarstedt *et al*, los cuales establecen una edad de aparición entre la quinta y sexta década de la vida; además se encontró que el mayor número de diagnosticados con cáncer de orofaringe fueron de género masculino.

De los casos evaluados sólo dos fueron positivos para la presencia de VPH, uno de los casos se determinó positivo para VPH genotipo 16, sin embargo al revisar los resultados podemos observar que además de la infección, contaba con factores de riesgo para el desarrollo de cáncer escamoso de orofarínge; sin embargo la ingesta tanto de tabaco y alcohol si bien fue por largo periodo de tiempo, la cantidad y frecuencia de consumo era poco relevante, por lo que no se encontró evidencia de sinergización entre ellos. En contraste, pacientes con cáncer escamoso de orofarínge y determinación negativa a VPH, resultaron ser grandes consumidores tanto en cantidad y frecuencia de alcohol y tabaco; corroborando como lo marca la literatura que el consumo elevado de alguno de ambos se vuelve un factor de riesgo importante.

En la asociación entre factores de riesgo como el consumo de tabaco y alcohol con el desarrollo del cáncer de orofaringe; el uso de ambos incrementa de manera significativa la posibilidad de padecer cáncer de orofarínge, sin embargo tanto su consumo como la frecuencia no predispone a tener la infección por VPH; a pesar de que en múltiples estudios se ha encontrado que ambos factores han ido en decremento y que uno de los factores significativamente asociados y determinante del crecimiento exponencial es la presencia de virus de VPH de alto riesgo para el desarrollo del cáncer. Por lo tanto el tabaco y alcohol forman factores de riesgo importante para el desarrollo de cáncer de orofaringe, mas no actúan como cofactores en el cáncer mediado por infección de VPH.

Durante el desarrollo del estudio, algo que llamó la atención fue la presencia de sobreexpresión de la proteína p16 según inmunohistoquímica de uno de los casos, el cual también es de mencionar tenía antecedentes negados a factores de riesgo como: tabaco, alcohol y prácticas de orosexuales; sin embargo al realizar la prueba de microarreglo, ésta resultó negativa. Según múltiples estudios las maneras de diagnóstico son principalmente con la identificación de proteínas E6 y E7 por Reacción de Polimerasa en Cadena (PCR), y otra alternativa es por medio de Inmunohistoquímica, por lo que en nuestro caso no hubo forma de corroborar la asociación de Cáncer Escamoso de Orofaringe determinado por inmunohistoquímica con la infección de VPH y su genotipo correspondiente.

Estudios realizados por D'Souza y Kreimer, refieren que existen dos mecanismo en el desarrollo del cáncer de orofarínge el primero está dado por los efectos carcinógenos del tabaco, alcohol, o ambos; y segundo por la inestabilidad genómica indicada por la infección de VPH. Además al ser positivos para VPH confiere mejor pronóstico ya que la morfología histopatológica se conoce como no queratinizante pero con mejor diferenciación, a diferencia de la originada por otros factores de riesgo donde la morfología es menos diferenciada lo cual otorga peor pronóstico.

A pesar de la clasificación de TNM y el estadio clínico no existe diferencia significativa entre la aparición de lesiones localizadas en amígdalas y base de lengua, si acaso una edad más temprana de diagnóstico para las segundas. La mayoría se detectan hasta fase tardía puesto es cuando se presentan los síntomas, esto confiere que las alternativas de tratamiento se limitan a radioterapia principalmente y a quimioterapia adyuvante, en algunos de los casos. Son pocos los casos en los cuales se puede encontrar una fase temprana (estadio I) en la que el tratamiento ideal sea la cirugía o la radioterapia solamente con un mejor pronóstico. Es por ello que consideramos importante desarrollar e implementar métodos que incluyan la aplicación de toma de muestras periódicas, a forma de screening, en pacientes en los que se cuenten con factores de riesgo.

Las limitaciones en este presente estudio incluyeron un número limitado de muestras debido a que no se encontraron los cortes de biopsia embebida en parafina, así como

ausencia de datos reportados en expedientes como lo son el número de parejas sexuales y el tipo de prácticas sexuales, por ejemplo.

CONCLUSIÓN

A pesar de que la relación causa efecto no puede ser inferida desde un solo estudio, nuestros hallazgos complementan la literatura ya conocida para el desarrollo del Cáncer Escamoso de Orofaringe. En nuestro medio la práctica del consumo de tabaco y alcohol aún siguen siendo elevados y por lo tanto se consideran estos factores de alta importancia; respecto a la relación de esta patología con la infección de VPH pese a que haya sido encontrado solo en dos casos, no podemos descartar por completo su participación por lo que consideramos que este trabajo debe continuar desarrollándose a largo plazo a fin de obtener una muestra más representativa; así como hacer un estudio comparativo con los casos de otros sitios de presentación como laringe y cavidad oral, ya que son los subsitios más comunes de cabeza y cuello para el desarrollo de cáncer escamoso; y así de esa manera poder conocer la prevalencia que tiene el cáncer de cabeza y cuello en nuestro hospital.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ramqvist T and Dalianis T. An Epidemic of Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma (OSCC) Due to Human Papillomavirus (HPV) Infection and Aspects of Treatment and Prevention. *ANTICANCER RESEARCH* 31: 1515-1520 (2011)
2. D'Souza, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison M. Oral Sexual Behaviors Associated with Prevalent Oral Human Papillomavirus Infection. Brief Report. *JID* 2009;199 (1 May): 1263-1269
3. Auluck A, Hislop G, Bajdik C, Poh C, Zhang L, Rosin M. Trends in Oropharyngeal and Oral Cavity Cancer Incidence of Human Papillomavirus (HPV)-Related and HPV-Unrelated Sites in a Multicultural Population. *Cancer*. 2010 (June): 2635- 2644
4. Azua-Romero J. El papel modulador de p16ink4a en la infección por el virus del papiloma humano. *Rev Clin Esp.*2005; Vol. 205 (5): 250-1
5. Lewis J S Jr, Ukpo O C, Flanagan J, Luo Y, Thorstad W L & Chernock R D. Transcriptionally-active high-risk human papillomavirus is rare in oral cavity and laryngeal/hypopharyngeal squamous cell carcinomas a tissue microarray study utilizing E6/E7 mRNA in situ hybridization. *Histopathology* 2012; 60: 982–991
6. McIntosh PB, Martin SR, Jackson DJ, Khan J, Isaacson ER, Calder L, et al. Structural analysis reveals an amyloid form of the human papillomavirus type 16 E1--E4 protein and provides a molecular basis for its accumulation. *J Virol*. 2008;82(16):8196-203.
7. Tsai TC, Chen SL. The biochemical and biological functions of human papillomavirus type 16 E5 protein. *Arch Virol*. 2003;148(8):1445-53.
8. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013;445(1-2):2-10.
9. Torrente MC, Rodrigo JP, Haigentz M Jr, Dikkers FG, Rinaldo A, Takes RP, Olofsson J, Ferlito A. Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck*. 2011 Apr; 33(4):581-6.
10. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2016*. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2016.
11. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, Dahlgren LO, Joneberg J, Creson N, Lindholm J, Ye W, Dalianis T, Munck-Wikland E. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Cancer*. 2006 Dec 1;119(11):2620-3.
12. Dirección General de Epidemiología. *Registro histopatológico de cáncer*. México: Secretaría de Salud; 2002

13. Soria-Céspedes D, Canchola G, Lara-Torres C, Sánchez-Marle JF, Hernández R, Hidalgo O. Carcinoma epidermoide orofaríngeo metastásico en ganglios linfáticos cervicales asociado a los subtipos 16 y 45 del virus del papiloma humano (VPH). Estudio clínico, morfológico y molecular de dos casos. *Gaceta Médica de México*. 2013; 149:673-9
14. Piña P, Alvarado I. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *GAMO Vol. 11 Núm. 3*, mayo – junio 2012
15. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, Dahlgren LO, Joneberg J, et al. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Cancer*. 2006;119(11):2620-3.
16. Auluck A, Hislop G, Bajdik C, Poh C, Zhang L, Rosin M. Trends in oropharyngeal and oral cavity cancer incidence of human papillomavirus (HPV)-related and HPV-unrelated sites in a multicultural population: the British Columbia experience. *Cancer*. 2010;116(11):2635-44.