



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EXPRESIÓN DE p16, p53 y MDM2 EN LESIONES
EPITELIALES PAPILOMATOSAS BENIGNAS Y
CARCINOMAS EPIDERMÓIDES ASOCIADOS A
INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN
LA CAVIDAD ORAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

ALIN NICOLAS HERNÁNDEZ DÍAZ

TUTOR: Mtra. ADRIANA MOLOTLA FRAGOSO

ASESOR: Mtro. ROBERTO ONNER CRUZ TAPIA



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.

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Roberto Onner Cruz Tapia por darme la oportunidad de participar en el proyecto y por incentivarme a seguir aprendiendo.

Al Departamento de Patología Bucal y Maxilofacial DePel UNAM y al Centro de Diagnóstico de Patología Bucal y Maxilofacial por permitirme usar sus instalaciones y proveerme de los materiales necesarios.

A la Facultad de Odontología de la UNAM por instruirme durante 5 años en mi carrera profesional y siempre motivarme a la superación.

A la memoria de Paula Martínez Sánchez

*“El recuerdo inefable de tu amor y cariño
perduraran por siempre en cada uno de
nuestros corazones”.*

DEDICATORIAS:

A mi hermana Lourdes Hernández y a mi cuñado Fabian Martinez por apoyarme a lo largo de mi licenciatura y creer en mí desde el principio.

A mi abuela por alentarme en todos mis proyectos y decisiones, estando orgullosa en todo momento de mí.

A mi madre y mis demás hermanos por estar siempre conmigo y motivarme a ser las cosas siempre de la mejor manera.

A todos mis amigos más cercanos por no dejar de creer en mis capacidades y ayudarme a ser mejor persona/estudiante.

ÍNDICE

1. Resumen.....	6
2. Abstract.....	7
3. Introducción.....	9
4. Antecedentes.....	10
5. Marco Teórico.....	13
5.1 Carcinoma Epidermoide.....	13
5.1.1 <i>Presentación clínica y radiográfica</i>	13
5.1.2 <i>Características histológicas</i>	15
5.1.3 <i>Hallazgos inmunofenotípicos del Carcinoma Epidermoide</i>	18
5.1.4 <i>Tratamiento y pronóstico</i>	20
5.1.5 <i>Invasión perineural</i>	20
5.2 Virus del Papiloma Humano.....	23
5.2.1 <i>Papiloma escamoso</i>	25
5.2.2 <i>Condiloma Acuminado</i>	27
5.2.3 <i>Hiperplasia epitelial multifocal (enfermedad de Heck)</i>	28
5.2.4 <i>Metodos de detección para VPH</i>	30
5.3 Carcinoma Epidermoide asociado al Virus del Papiloma Humano.....	30
5.4 P53.....	31
5.5 MDM2.....	32
5.6 P16.....	34
6. Planteamiento del problema.....	35
7. Hipótesis.....	36
8. Justificación.....	36
9. Objetivo general.....	36
10. Objetivos específicos.....	36
11. Metodología.....	37
12. Variables del estudio.....	38
13. Recursos humanos y materiales.....	39
14. Resultados	41
15. Discusión	54
16. Conclusiones.....	57
17. Referencias.....	58

1. RESUMEN

El cáncer es un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracteriza por mutaciones acumuladas a lo largo del tiempo a nivel celular que conllevan a una proliferación celular descontrolada. Dentro de este grupo se encuentran los cánceres de cabeza y cuello. El 90% de los casos de cáncer oral y faríngeo se diagnostican con Carcinoma Epidermoide. El CE se puede definir como un tumor maligno de origen epitelial invasor, de características morfológicas diversas y cuya etiología es multifactorial, dividiendo dos grupos importantes: factores internos y externos. Entre los factores externos podemos destacar el alcoholismo, tabaquismo y la infección por VPH, específicamente los subtipos de alto riesgo 16 y 18. La prevalencia del VPH en la cavidad oral es alta, con un 7% aproximadamente en la población de 14 a 69 años. Entre sus diferentes presentaciones clínicas relacionadas al virus se encuentran papiloma escamoso, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial multifocal (enfermedad de Heck). Existen diferentes marcadores para confirmar el diagnóstico de carcinoma epidermoide, los que comúnmente se utilizan son: a) p53, que es uno de los genes que comúnmente sufre mutaciones y es sobre expresado en muchos tipos de cáncer, b) MDM2 que esta sobreexpresado en un rango del 20 al 40% de los cánceres humanos y c) p16, que es un marcador que demuestra que el virus del VPH se encuentra transcripcionalmente activo. Estudios publicados en las últimas décadas proponen que las mutaciones en el gen CDKN2A no solo afectan a p16 si no también en algunos casos a MDM2 y por consecuencia a p53.

Materiales y Métodos: En el presente estudio se utilizaron los marcadores de inmunohistoquímica p16, p53 y MDM2 en 9 casos de carcinoma epidermoide y en 21 casos de papiloma escamoso/condiloma acuminado donde se analizaron las características morfológicas, así como la localización, proporción de expresión y escalada Allred de los tres marcadores en cada uno de los casos.

Resultados: El 52% de la totalidad de los casos de LPB y el 66% de la totalidad de los casos de CE tuvo una presentación en el sexo masculino. Ambos tipos de lesiones tuvieron un promedio de presentación entre la 4ª y 6ª etapa de la vida. Los hallazgos morfológicos fueron diversos, 15% de las LP presentaron displasia leve y el único caso negativo para p16 presentó características morfológicas distintas en comparación con los demás que si presentaron positividad a la inmunoreacción. Se observó la expresión de p16 en el 38% de los casos de lesiones papilares y en el 88% de los casos de carcinoma epidermoide, De forma simultánea se encontró positividad a p53 y MDM2 en lesiones papilares en lesiones papilares. La expresión de p53 y MDM2 en CE fue más alta en comparación con las LPB.

Conclusiones: La infección por el virus del papiloma humano es uno de los principales factores externos para el desarrollo de carcinoma epidermoide; los resultados en este estudio nos orientan a apoyar la teoría de mutaciones simultaneas que no solo afectan a p16 a través del gen codificante CDKN2A sino que también en algunos casos puedan afectar a MDM2 por ser un producto del gen mencionado anteriormente y que por consecuente tenga afectación en p53 debido a su susceptibilidad a mutaciones genéticas. Sería importante seguir una línea de investigación más con el fin de analizar la tasa de incidencia en la afectación a estas proteínas en LP y CE para obtener un porcentaje más concreto.

2. ABSTRACT

Cancer is a heterogeneous group of diseases that arise due to DNA mutations accumulated through time, some of which, lead to uncontrolled cell proliferation. Cancer may develop everywhere in the human body, including neck and head. Ninety percent of cases of oral and pharyngeal cancer are diagnosed via squamous cell carcinoma (SCC). SCC can be defined as a malignant tumor of invasive epithelial origin with different morphological characteristics. Its multifactorial etiology can be divided into two important groups: internal and external factors. Some of the external factors include alcoholism, smoking and Human Papilloma Virus (HPV), with specifically high-risk subtypes 16 and 18. There is a high prevalence of HPV in the oral cavity, with around 7% in the population aged between 14 to 69 years. Among its different clinical presentations related to the virus, we find squamous papilloma, condyloma acuminatum and multifactorial epithelial hyperplasia (Heck's disease). There are different biomarkers to confirm the diagnosis of squamous cell carcinoma, the most commonly used are: a) p53, which is one of the genes that usually suffers mutations and is over expressed in many types of cancer, b) MDM2 that is over expressed in 20% to 40% of human cancers and c) p16 which is a biomarker that shows that the HPV is transcriptionally active. Studies published in the past decades suggest that mutations in the DCKN2A gene not only affect p16, but also MDM2 and p53.

Materials and Methods: In the current study, the immunohistochemical markers p16, p53 and MDM2 were used in 9 cases of squamous cell carcinoma and in 21 cases of squamous papilloma/acuminate chondyloma to analyze the morphologic characteristics as well as the location, expression ratio and Allred scale of each marker in each of the cases.

Results: 52% of all cases of benign papillary lesions (BPL) and 66% of all cases of SCC were found in males. Both lesions presented between the 4th and 6th stages of life. The morphological results were variable, 15% of the PL presented mild dysplasia and only one case negative for p16 showed different morphological characteristics as compared to the others that presented a positive reaction to immunoreactivity. The p16 was expressed in 38% of the cases of PL and in 88% of the cases of SCC. p53 and MDM2 positivity was found to be simultaneously positive in papillary lesions. p53 and MDM2 expression in SCC was higher in comparison with BPL.

Conclusions: Human papilloma virus is one of the main external factors for the development of squamous cell carcinoma; the results on this study support the theory that simultaneous mutations not only affect p16 through the CDKN2A coding gene but may also affect MDM2 as a consequence of mutations on the aforementioned gene and consequently,

affect p53 due to its susceptibility to genetic mutations. It would be important to carry out further research in order to analyze the incidence rate in the affectation of these proteins in PL and SCC in order to obtain a more concrete percentage.

3. INTRODUCCIÓN

El cáncer es un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracteriza por mutaciones acumuladas a lo largo del tiempo a nivel celular que indican una proliferación descontrolada. Dentro de este grupo se encuentran los cánceres de cabeza y cuello, que representan el 6° tipo de cáncer más común a nivel global.

El 90% de los casos de cáncer oral y faríngeo se clasifican con Carcinoma Epidermoide. El CE se puede definir como un tumor maligno de origen epitelial invasor y su desarrollo está relacionado con factores de riesgo específicos como son el tabaquismo, alcoholismo, la infección por Virus de Papiloma Humano, entre otros. Se presenta comúnmente en dorso y bordes laterales de la lengua, paladas, región alveolar, aunque puede presentarse en cualquier región de la cavidad oral y la faringe. Así como se conocen factores de riesgo que predisponen al paciente al desarrollo de este tipo de enfermedad, existen factores pronósticos que ayudan al profesional de salud en la elección del tratamiento, así como predecir la supervivencia del paciente. El CE es conocido por su baja supervivencia a los 5 años la cual es del 50%.

Por razones desconocidas, los CE positivos para VPH han resultado tener un mejor resultado en cuando a los tratamientos con quimioterapia/radioterapia. El VPH representa una de las enfermedades de transmisión sexual con mayor prevalencia dentro de la población joven, la cual se caracteriza por la presencia de diferentes lesiones benignas entre las cuales se encuentran: papiloma escamoso, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial multifocal. Se han diferenciado los subtipos de VPH de alto riesgo para el desarrollo de cáncer entre los cuales destacan el subtipo 16 y 18, los cuales han sido identificados en neoplasias malignas de la cavidad oral.

El estudio de la fisiopatología del cáncer nos ha brindado conocimiento acerca de las capacidades adquiridas de la célula tumoral lo cual a su vez nos ha ayudado para el desarrollo de nuevas terapias, así como acciones preventivas. Como se mencionó anteriormente, los subtipos de alto riesgo de VPH son un factor que predispone para el desarrollo de cáncer oral. Seguir esta línea de investigación reciente ayudará a una mejor caracterización de este tipo de neoplasias para así poder brindar mejores alternativas de tratamiento para los pacientes y una mayor tasa de supervivencia.

4. ANTECEDENTES

El cáncer bucal y sus signos/síntomas han sido observados y descritos por la medicina desde la antigüedad. Los registros más antiguos que se tienen de esta enfermedad fueron encontrados en la medicina egipcia en el Papiro Ebers donde se reportaron diferentes descripciones acerca de lesiones posiblemente cancerosas que en general fueron traducidas como “hinchazón” o “tumor”. Al final de este papiro en la sección titulada “tratado sobre tumores” se describe un caso clínico donde se reportan ulceraciones de gran tamaño en la encía. Más adelante en la antigua Grecia (siglo VI a.C.) con Hipócrates que publicó el Corpus Hippocraticum donde se mencionan lesiones ulcerosas crónicas, endurecidas, con desarrollo progresivo expandiéndose por los tejidos semejando las patas de un “cangrejo”. De ahí es donde se les adjudica a Hipócrates y sus discípulos el término “cáncer” que utilizaron para describir las diferentes lesiones ulcerativas. ⁽¹⁾

Saltando hasta el imperio bizantino en la compilación “Colecciones médicas” elaborada por Oribasio de Pérgamo (320 d.C.) donde recopiló todos los conocimientos médicos de la época se describieron los diferentes manejos farmacológicos y quirúrgicos para los crecimientos de tipo canceroso en los labios, orejas, nariz y párpado. De la misma manera Aetius Amidenus contribuye con el conocimiento médico con su obra “Dieciséis libros de Medicina” en el que sugirió el consumo de cierta planta (Plinio) con el fin de prevenir cánceres bucales y de la orofaringe. En resumen, el imperio bizantino se caracterizó por la medicina la cual ayudó para la asepsia y la analgesia de los tratamientos quirúrgicos de las lesiones en boca. ⁽¹⁾

Los siguientes siglos fueron inactivos para oncología. Durante la edad media de Europa Occidental hubo pocos avances en cuanto a los tratamientos médicos y la cirugía de cáncer oral, que se mantuvieron igual que en el pasado debido a las restricciones religiosas de disección humana. De los eventos más importantes en el aumento en la incidencia de cáncer fue la introducción del tabaco en el mundo occidental en el siglo XVI. El primer tratamiento contra el cáncer de labios fue intentado en 1650 por Richard Wiseman, el cual en sus diferentes publicaciones redactó las diferentes técnicas que utilizaba para los cánceres de labio, lengua, encía y mejilla; así como los instrumentos empleados. ⁽¹⁾

La primera glosectomía completa para el retiro de un tumor fue intentada por el Dr. Pietro de Marchetti (1589-1673). En los siguientes años el desarrollo de las técnicas quirúrgicas fue lento debido al riesgo de infecciones, riesgo de hemorragias y la falta de agentes anestésicos. Desde el siglo XVII al XIX se creía que el cáncer era una enfermedad infecciosa transmisible; básicamente todos los microorganismos que pudieran ser aislados de tejidos cancerosos eran considerados como posible agente causal. La mayor parte acerca de nuestro conocimiento actual sobre oncología oral, incluidos los métodos de diagnóstico y la gestión del tratamiento, fueron desarrollados durante los siglos XIX y XX. La introducción de la anestesia fue introducida en 1846 lo cual fue un evento clave que permitió aumentar las escisiones de del cáncer con el desarrollo de muchos accesos quirúrgicos para el cáncer oral, incluida la sesión del labio, y la mandíbula por Bernhard (1810 a 1887).⁽¹⁾

El siglo XIX vio nuevos avances en el comienzo de la microscopia y la evaluación histopatológica de los tumores por parte de Johannes Peter Müller (1801-1858). La primera evaluación microscópica era en gran parte defectuosa y pobre, por lo cual la aceptación del examen histológico fue lenta. Simón-Emmanuel Duplay (1836-1924) fue quien inicio la época moderna de la oncología ya que en su recopilación publicada habla acerca del cáncer como “una masa constituida por tejido nuevo en desarrollo con tendencia a crecer y/o permanecer” distinguiendo las lesiones benignas de las malignas, además de identificar a la leucoplasia un factor importante para el desarrollo del cáncer oral.⁽¹⁾

Para principios de siglo XX, William Stuart (1852-1922) utilizo el concepto de diseminación linfática de las células tumorales primarias y demostró que la resección radical de ganglios linfáticos en bloque podría reducir hasta un 6% las tasas de recurrencia. A mediados de los noventas, la radioterapia también se utilizó para tratar los canceres orales y su diseminación a los ganglios linfáticos, tratando de evitar los efectos de una cirugía extensa. Dos décadas más tarde, en 2002, la American Head and Neck Society estandarizo la terminología y la técnica de disección de cuello. Fue hasta que entonces se utilizó la cirugía como tratamiento principal y la radioterapia/quimioterapia como tratamiento coadyuvante.⁽¹⁾

Aunque en años anteriores ya se había establecido algunos de los factores de riesgo para el desarrollo de cáncer oral entre los cuales se encontraban el tabaquismo, alcoholismo y exposición a la radiación no fue hasta el 2008 que se estableció la relación entre el

desarrollo de cáncer oral y la infección por agentes víricos (VPH y Virus de Epstein Bar). Gracias a las investigaciones realizadas por el Dr Harald zur Hausen se descubrió la estrecha relación entre el VPH y la relación con el cáncer uterino, ya que demostró que este virus juega un papel importante en la transformación de malignidad de las células epiteliales. Aunque Syrjänen *et al* (1983) fueron los primeros en proponer al VPH como factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de cabeza y cuello debido a la similitud que presentaba en epitelio de la mucosa oral con el epitelio del cuello uterino. ⁽¹⁾

Sin embargo, no es hasta el 2010 que el panel de expertos de la Asociación Dental Americana (ADA) reconoce al VPH como un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer orofaríngeo. En el 2013 en el trabajo presentado por Woo *et al* reportaron la presencia de VPH de alto riesgo (subtipo 16) en diferentes displasias de la cavidad oral. Este estudio dio seguimiento a sus pacientes, de los cuales 3 de ellos desarrollaron Carcinoma Epidermoide meses después. ⁽¹⁾

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Carcinoma Epidermoide

El Carcinoma Epidermoide es la neoplasia maligna con mayor prevalencia dentro de la población mundial y representa más del 90% de las lesiones orales malignas. Anualmente se diagnostican 27, 000 nuevos casos de cáncer oral y cada año mueren aproximadamente 5, 500 personas a causa de esta enfermedad. La etiología del CE es multifactorial. Estudios recientes establecen una gran carga genética. Pero pueden estar involucrados tanto factores externos como internos. Los factores extrínsecos incluyen el consumo de alcohol, tabaco, exposición a la radiación, infecciones virales (Virus del Papiloma Humano y Virus de Inmunodeficiencia Adquirida, Virus del Epstein Barr). Dentro de los factores intrínsecos se incluye el estado de salud generalizado de la persona, malnutrición, inmunosupresión, anemia ferropénica, así como familiares con historia de cáncer. De la misma manera se ha asociado al CE el progreso de los desórdenes orales potencialmente malignos, especialmente leucoplasia y eritroplasia. ⁽²⁾

El carcinoma epidermoide afecta principalmente a adultos mayores de evolución variable, que puede oscilar entre meses y años, con una media de 6 meses aproximadamente a partir del diagnóstico (8 a 24 meses entre los grupos socioeconómicos más bajos); debido a que en etapas iniciales de crecimiento es indolora. ⁽²⁾

5.1.1 Presentación clínica y radiográfica

El Carcinoma Epidermoide tiene diferentes patrones de crecimiento, los cuales tienen impacto en su presentación clínica como son:

- Exofíticos (Convencional, Verrucoso, Sarcomatoide y Papilar)
- Endofítico (Convencional, Basaloide, Acantolítico y Cunicular)

Los tumores exofíticos suelen tener una superficie irregular, papilar o verruciforme y su color puede variar desde uno similar al de la mucosa adyacente hasta blanco o rojo según la cantidad de queratina y vascularización; la superficie comúnmente se encuentra ulcerada e indurada. El patrón de crecimiento endofítico o infiltrante es una de las condicionantes más importantes que predisponen al mal pronóstico, a lo largo del tiempo se ha determinado que las características infiltrantes y de mal pronóstico están reguladas por ciertos aspectos

moleculares y genéticos que hacen muy particular al carcinoma epidermoide de la boca. Varios de estos están soportados por ciertos factores de arresto celular, modificaciones epigenéticas y mutaciones que siguen en constante estudio. ⁽²⁾

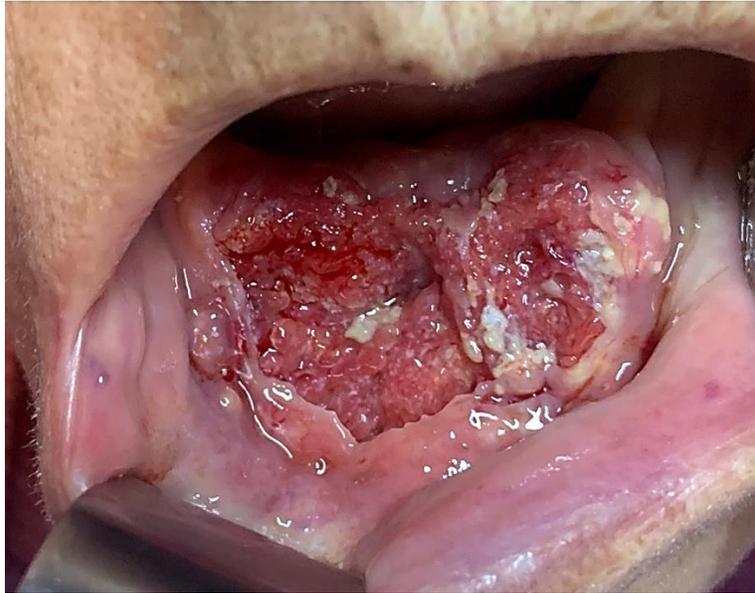


Figura 1. Fotografía de un CE presente en piso de boca donde se puede observar una lesión con múltiples ulceras, bordes mal definidos, zonas eritematosas y algunas con un aumento de volumen (fuente directa).

Los granulomas traumáticos, las infecciones fúngicas profundas, la tuberculosis, la sífilis terciaria, las lesiones orales de la granulomatosis de Wegener y la enfermedad de Crohn deben incluirse dentro de los diagnósticos diferenciales debido a que presentan características clínicas similares al del Carcinoma Epidermoide. Los sitios más comunes de aparición del CE son la lengua (bordes laterales, superficie posterior y ventral), el piso de boca, encía, mucosa labial, y paladar duro. La lengua es el sitio anatómico donde se presentan poco más del 50% de los cánceres intraorales; de lo anterior dos tercios de los carcinomas orales aparecen en el borde posterior de la lengua, la otra tercera parte aparece en los bordes anteriores y la superficie ventral. Por razones desconocidas, la lengua representa un sitio cada vez más frecuente de afectación en pacientes jóvenes. ⁽³⁾

De todos los carcinomas intrabucuales, las lesiones que se encuentran en piso de boca son las que con mayor probabilidad se desarrollan como segunda neoplásia maligna a consecuencia de una lesión primaria. De la misma manera, los carcinomas de piso de boca se localizan con mayor frecuencia en la región de la línea media cerca del frenillo lingual.

Los CE gingivales y alveolares suelen ser indoloros y con mayor frecuencia surgen de la mucosa mandibular posterior queratinizada; asimismo, estos carcinomas tienen una propensión especial a simular lesiones de carácter benigno comunes como son el granuloma piógeno, la gingivitis y la enfermedad periodontal. Es común que los CE en este sitio anatómico destruyan el hueso adyacente y causen movilidad dental. ⁽⁵⁾

La destrucción de hueso adyacente cuando se presenta puede ser dolorosa o completamente indolora, y radiográficamente se observa como una zona radiolúcida, moteada, mal definida con bordes irregulares y de una apariencia similar a la de la osteomielitis. Es importante que si la destrucción de hueso adyacente alcanza la zona perineural es probable que cause una parestesia. ⁽⁵⁾

5.1.2 Características histológicas

El Carcinoma Epidermoide surge del epitelio superficial displásico, se caracteriza por la pérdida de la organización en las capas superficiales y la invasión del epitelio hacia los tejidos subyacentes. Definimos como invasión a la extensión epitelial hacia la membrana basal y el tejido conjuntivo; la invasión puede ser en forma de cordones o islas epiteliales con o sin unión aparente al epitelio. El CE es un tumor que se distingue por la destrucción del tejido sano y puede extenderse profundamente hasta el tejido adiposo, muscular y óseo. Las células epiteliales pueden atravesar al perineuro (invasión perineural) que encierra los haces nerviosos o pueden invadir la luz de las venas/arterias o la de los vasos linfáticos (invasión vascular). De forma simultánea, se puede observar una respuesta inflamatoria abundante al epitelio invasor, y la necrosis también puede estar presente. El tumor puede inducir una fibrosis densa y una angiogénesis importante. ⁽⁴⁾

Los criterios histopatológicos para el diagnóstico de displasia en el epitelio de la mucosa oral son con base en los datos arquitecturales y citológicos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los datos mencionados se muestran en la siguiente tabla:

DATOS HISTOPATOLÓGICOS DE LA DISPLASIA EPITELIAL EN LA MUCOSA ORAL SEGÚN LA OMS	
Datos arquitecturales	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Estratificación irregular. 2. Pérdida de polaridad de las células basales. 3. Crestas epiteliales anómalas (en gota, bulbosas, etc.) 4. Aumento del número de mitosis. 5. Mitosis anormales superficiales. 6. Queratinización prematura de células aisladas. 7. Perlas de queratina dentro de las crestas. 	
Datos citológicos	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Variación anormal en el tamaño nuclear. 2. Variación anormal en la forma nuclear. 3. Variación anormal en el tamaño celular. 4. Variación anormal en la forma celular. 5. Aumento en la proporción núcleo/citoplasma. 6. Aumento del tamaño nuclear. 7. Mitosis atípicas. 8. Aumento del número/tamaño de nucléolos. 9. Hiperchromatismo. 	

Figura 2. Tabla de los datos arquitecturales y citológicos para el diagnóstico de displasia epitelial por la OMS.

Las células neoplásicas generalmente muestran abundante citoplasma eosinofílico con núcleos grandes a menudo hiperchromáticos y una proporción nuclear y/o citoplasmática aumentada. Se observan diversos grados de pleomorfismo celular y nuclear. En condiciones normales las células epiteliales producen queratina, pero en el CE es común poder observar perlas de queratina dentro del epitelio tumoral (cúmulo de células queratinizadas en capas concéntricas) aunque también es posible observar células

individuales aisladas que sufren queratinización. La clasificación histopatológica del CE se basa en el grado de semejanza con el epitelio escamoso normal y la cantidad de producción de queratina. Las lesiones se clasifican en una escala de tres puntos (grado I a III) o de cuatro puntos (grado I a IV). Esta clasificación fue introducida por primera vez por Broders y se basó en las diferencias en el grado de diferenciación de las neoplasias; actualmente la clasificación de tumores de cabeza y cuello publicada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se basa en su la propuesta por Broders, reconociendo únicamente tres grados: a) tumor bien diferenciado b) tumor moderadamente diferenciado c) tumor pobremente diferenciado y d) tumor indiferenciado. ^{(2) (19)}

Los tumores menos diferenciados reciben los números más altos, es decir, si el tumor es lo suficientemente maduro como para parecerse mucho a su tejido de origen a menudo crece a un ritmo y hace metástasis más tarde en su curso; tal tumor se le denomina de bajo grado. Por el contrario, un tumor con pleomorfismo marcado y poca o nula producción de queratina puede ser tan inmaduro que resulta difícil identificar el tejido de origen; en tales casos es necesario el uso de otros estudios como de inmunohistoquímica (para citoqueratina, por ejemplo) para confirmar su origen epitelial. Dichos tumores a menudo crecen rápidamente, causan metástasis de manera temprana y se denominan de alto grado. ⁽²⁾

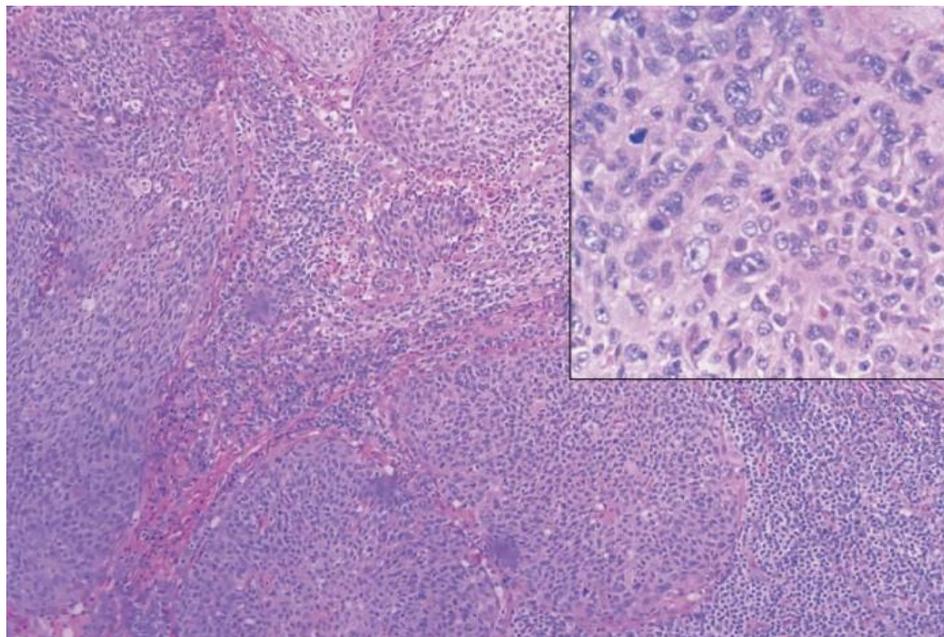


Figura 3. Fotomicrografía teñida con HyE de un Carcinoma Epidermoide de piso de boca. Se pueden observar células inmaduras con pleomorfismo nuclear, mitosis atípica, sin aparente estratificación o queratinización. ⁽⁴⁾

Para el carcinoma epidermoide de la cavidad oral y la orofaringe, la detección de la infección por VPH transcripcionalmente activa es especialmente importante para determinar el pronóstico. Los CE de la cavidad oral y de la orofaringe positivos para VPH a menudo son pobremente diferenciados y no queratinizados con características citológicas basaloides; además, la mayoría de los casos se diagnostican en un estadio avanzado. A pesar de esto, en muchas ocasiones los CE positivos para VPH muestran una mejor respuesta a los tratamientos que los que no son positivos. El estándar de oro para determinar si un carcinoma fue probablemente causado por VPH es a través del análisis de la expresión del oncogén E6 y E7 con ayuda de una técnica de PCR, sin embargo, esta técnica es adecuada para una biopsia recién tomada congelada por lo cual en ocasiones es más utilizada la detección de p16 a través de inmunohistoquímica. ⁽⁴⁾

5.1.3 Hallazgos inmunofenotípicos del Carcinoma Epidermoide

El panorama genómico del Carcinoma Epidermoide se caracteriza por la heterogeneidad tumoral, mutaciones de pérdida de función en genes supresores tumorales e inactivación por pérdidas heterocigotas y homocigotas en CDKN2A. La falta de función de p53 impide la apoptosis desencadenada o la detención del ciclo celular. Algunas mutaciones también pueden ejercer efectos negativos dominantes en p63 y p73 (proteínas relacionadas con un papel importante en la apoptosis y la diferenciación celular. En la última década se ha demostrado que el polimorfismo de un solo nucleótido (arginina o prolina) en el codón 72 del gen p53 está asociado con el riesgo de desarrollar múltiples neoplasias. ⁽⁶⁾

El gen MDM2 es un protooncogen celular amplificado en el 25-40% de todos los cánceres humanos. Se ha informado que un polimorfismo en un solo nucleótido de MDM2 se correlaciona con el riesgo o resultado de cáncer. Se ha reconocido que el Carcinoma Epidermoide puede surgir de un trastorno o desorden potencialmente maligno; esto como resultado de mutaciones posteriores que conducen a la adquisición de un fenotipo neoplásico. En estudios de rutina para confirmar el diagnóstico de CE se realizan pruebas de inmunohistoquímica para p53 y MDM2 ya que juegan un papel importante en la carcinogénesis. El potencial transformador de MDM2 se ha atribuido a la sobreproducción

de la proteína ya que se descubrió que el polimorfismo del gen aumenta los niveles de ARN de MDM2 y proteína MDM2 con una atenuación posterior de la vía p53. ⁽⁶⁾

También se ha documentado una mayor pérdida de heterocigosis de 17p13 en tumores pobremente diferenciados, lo que sugiere que la pérdida de la función de p53 puede estar implicada en la transición de preinvasivo a invasivo. La inmunohistoquímica tanto para MDM2 como para p53 fue positiva en el 47% de los casos según un estudio publicado en 2001 por Millon et al. ⁽⁵⁾ Otro marcador importante en estudios de inmunohistoquímica para CE es la citoqueratina. Las queratinas (CK) son una familia de proteínas de filamentos intermedios que se expresan comúnmente en el epitelio y tienen una función estructural básica en la formación del citoesqueleto, que es esencial para la integridad y estabilidad de la estructura celular. Las queratinas también pueden participar en la síntesis de proteínas y el crecimiento de células epiteliales, la señalización, la movilidad y la proliferación celular. ⁽⁷⁾

Las citoqueratinas 17 y 19 (CK17 y K19) son queratinas de tipo 1 y sus patrones de expresión variables se han implicado en el desarrollo de cáncer. Se han establecido asociaciones pronósticas entre CK17 y CK19 para diferentes tipos de cáncer del cuerpo humano entre los cuales se encuentra el Carcinoma Epidermoide. Estas queratinas están expresadas altamente en tejido tumoral en comparación con márgenes quirúrgicos limpios de tejido no tumoral. Es común que en pruebas de inmunohistoquímica en carcinomas epidermoides de grado III y IV o carcinomas bien diferenciados se encuentran sobreexpresadas estas proteínas dando un resultado positivo a la tinción.

En estudios recientes se ha correlacionado la sobreexpresión de CK17 con la presencia de metástasis en ganglios linfáticos y un pronóstico desfavorable en pacientes que recibieron cirugía y radioterapia lo que se confirmó con un aumento en la tasa de mortalidad relacionada con la enfermedad en aproximadamente 4 años posteriores a los tratamientos. Los filamentos de queratina son componentes intracelulares esenciales que modulan la señalización intracelular que a su vez regulará el crecimiento y movimiento celulares, por lo tanto, es posible que las células con una mayor expresión de CK17 y CK19 tengan una mayor movilidad organelar y así favorecer el crecimiento celular y la progresión del tumor. ⁽⁷⁾

Otro de los biomarcadores más importantes mencionado anteriormente es p16. Debido a la creciente asociación entre los Carcinomas Epidermoides positivos para VPH se ha vuelto de rutina realizar estudios de inmunohistoquímica para p16 en la mayoría de los diagnósticos con el fin de poder otorgar al paciente una información certera acerca del pronóstico de su tratamiento ya que los CE positivos para VPH han resultado tener un mejor avance con las diferentes alternativas de tratamiento y un mejor pronóstico de vida al finalizar este. ⁽⁸⁾

5.1.4 Tratamiento y pronóstico

La mayoría de los carcinomas epidermoides en etapa temprana y tardía se tratan quirúrgicamente con una escisión completa del tumor con márgenes claros de 1 a 2 cm, la cual ha demostrado excelentes resultados. Además, la disección del cuello generalmente se realiza cuando la contaminación de los ganglios linfáticos es evidente o cuando existe un alto grado de metástasis debido a la localización anatómica del tumor. En un Carcinoma Epidermoide con estadio moderado/avanzado comúnmente es necesario el uso de tratamiento combinado, con cirugía como modalidad principal y el requerimiento de radioterapia/quimioradioterapia adyuvante a menudo dictada por hallazgos adversos como pueden ser márgenes quirúrgicos positivos, características histopatológicas e alto grado, invasión perineural o invasión linfovascular y extensión extracapsular en ganglios linfáticos. ⁽⁵⁾

La medición microscópica del grosor del tumor o profundidad de la invasión se ha considerado durante mucho tiempo como un parámetro valioso para predecir la participación de los ganglios regionales y la supervivencia en el CE de la cavidad oral. Si bien el grosor y la profundidad de la invasión son sinónimos, pero tienen ligeras diferencias; el grosor generalmente se mide desde la superficie de la mucosa hasta la profundidad de la invasión y la profundidad de la invasión se mide desde la membrana basal del tejido normal adyacente hasta el punto más profundo de la misma invasión del tumor. ⁽²¹⁾

5.1.4.1 Invasión perineural

Tradicionalmente la invasión perineural (neurotropismo) es un predictor importante de mal pronóstico en el cáncer de cabeza y cuello. La presencia de IP se asocia con un control local y regional deficiente de la enfermedad, además, de estar asociado a metástasis en él los ganglios linfáticos regionales, lo cual es sinónimo en muchas ocasiones de una baja

posibilidad de supervivencia específica a la enfermedad. Aparte del impacto en el pronóstico, la IP sirve para guiar la terapia. Se ha demostrado que la quimioterapia adyuvante concurrente mejora los resultados en pacientes con invasión perineural. ⁽²¹⁾

El peor patrón de invasión o WPOI por sus siglas en inglés ha sido validado como pronosticador para los CE de la cavidad oral. WPOI se define por la disposición tumoral de 21 mm entre satélites tumorales. El WPOI ha sido validado específicamente en tumores en etapa temprana o bien diferenciados. Sin embargo, el WPOI puede verse como redundante a fines de notificación de invasión perineural extratumoral. ⁽²¹⁾

La profundidad de la invasión o el grosor del tumor pueden ayudar a predecir la metástasis oculta en los ganglios linfáticos cervicales a pesar del estadio en el que se encuentre el carcinoma. La profundidad de la invasión representa la distancia desde la membrana basal hasta la porción más profunda del tumor. Muchos estudios sugieren un mayor riesgo de metástasis ganglionar en una profundidad de invasión mayor a 5 mm; sin embargo, los puntos de corte sugerido varían según el subsitio anatómico en el que se presente el tumor. Los agentes quimioterapéuticos comúnmente utilizados para el tratamiento de Carcinoma Epidermoide de la cavidad oral incluyen compuestos que contienen platino (cisplatino o carboplatino), 5-fluorouracilo y taxanos (paclitaxel y docetaxel). Esta quimioterapia se puede utilizar en un principio con el fin de disminuir el tamaño de la lesión antes del tratamiento quirúrgico; otros autores la han sugerido con el fin de disminuir el riesgo de metástasis a distancia. ⁽⁵⁾

Por el contrario, para pacientes con un carcinoma localmente avanzado (etapa III, IVa o IVb) la evidencia actual respalda la quimioterapia postoperatoria (especialmente cisplatino incorporado) para un control regional óptimo y una supervivencia libre de enfermedad. Además, existen varias terapias dirigidas prometedoras, que incluyen anticuerpos monoclonales (cetuximab y panitumumab) o inhibidores de la tirosina cinasa de molécula pequeña (erlotinib) dirigidos contra el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). En particular, cetuximab ha sido aprobado en diferentes países a lo largo de centro y norteamérica para el tratamiento de Carcinoma Epidermoide de cabeza y cuello, y por lo general se administra en combinación con radioterapia y quimioterapia. ⁽⁵⁾

La radioterapia de intensidad modulada (IMRT por sus siglas en inglés) a menudo se usa para enfocarse únicamente en el área afectada y así minimizar el daño del tejido vecino. La

braquiterapia (colocación de diminutas semillas radiactivas) se puede utilizar para casos seleccionados como, por ejemplo: tratamiento definitivo para pequeños tumores intraorales o como coadyuvante de la radioterapia con IMRT. Con respecto a los subsitios anatómicos, los carcinomas epidermoides en el dorso y borde lateral de la lengua exhiben una mayor probabilidad de metástasis regional en comparación con los carcinomas de piso de la boca. (2)

En décadas anteriores la disección radical del cuello (extirpación del bloque de los vasos linfáticos del triángulo lateral del cuello junto con las estructuras no linfáticas asociadas, incluida la vena yugular interna, la glándula submandibular, el músculo esternocleidomastoideo y el nervio espinal accesorio) era el tratamiento estándar para los pacientes en los que clínicamente se podía observar metástasis en los ganglios linfáticos cervicales. Sin embargo, en las últimas décadas, la disección radical modificada del cuello (similar a la anterior pero con la preservación de las estructuras no linfáticas) y la disección selectiva del cuello (extracción de grupos seleccionados de ganglios linfáticos cervicales) han ganado aceptación. Estas técnicas están asociadas con una disminución de la morbilidad y dependiendo de la extensión de la enfermedad, a menudo permiten un control de la enfermedad comparable al de la disección clásica de radical del cuello. (2)

La tasa de supervivencia relativa estimada a 5 años para cánceres orales y orofaríngeos combinados es de aproximadamente 64%. Aunque algunos pacientes mueren a causa de su enfermedad hasta años después del tratamiento inicial, la gran mayoría de las muertes ocurren durante los primeros 5 años. El pronóstico varía considerablemente según el estadio y el subsitio anatómico del tumor. Como es sabido, la mayoría de los cánceres orales y orofaríngeos son diagnosticados en etapas tardías lo que hace que su índice de supervivencia sea bajo. Sin embargo, uno de los índices más importantes para el pronóstico de la enfermedad es la presencia o ausencia de VPH transcricionalmente activo, debido a que aquellos tumores con VPH-positivo muestran una mejor respuesta a la quimioterapia y/o radioterapia, con una reducción del 60% en el riesgo de muerte y un 30% más de tasa de supervivencia absoluta a 5 años. (5)

Las áreas de interés de investigación para la disminución continua de la mortalidad por cáncer oral y orofaríngeo incluyen mejoras en la prevención, el diagnóstico temprano y el tratamiento. (5)

5.2 Virus del Papiloma Humano

El Virus del Papiloma Humano (VPH) pertenece a la familia de virus papovaviridae. Es un virus pequeño (alrededor de 50 nm) y epiteliotrópico. La infección por VPH comienza cuando el virus penetra el huésped a través de microlesiones en la región anogenital, el tracto aerodigestivo superior, en la cavidad oral y otros sitios. El desarrollo de esta fase de incubación en el huésped depende de 3 principales factores: la permeabilidad celular, el tipo de virus y el huésped (estado de salud general, estado inmunológico y estilo de vida).⁽⁸⁾

La prevalencia del VPH en la cavidad oral es alta. Metanálisis y revisiones sistemáticas de la literatura sugieren que la infección oral por VPH está presente en aproximadamente 5 al 12% de la población sana. En la población pediátrica, la infección oral por VPH asintomática parece ser frecuente entre los menores de 1 año de edad; además otro estudio realizado por parte de la Escuela Nacional de Exámenes de Salud y Nutrición (NHANES) en un periodo comprendido de 2009 a 2010 estimó que la prevalencia de la infección oral por VPH entre personas de 14 a 69 años en los Estados Unidos es alrededor del 7%. Los modos de transmisión propuestos para la infección oral por VPH incluyen contacto sexual y no sexual de persona a persona (transferencia de saliva, contacto en microlesiones con objetos contaminados, autoinoculación, lactancia materna, transmisión perinatal y posiblemente prenatal). La historia natural de la infección oral por VPH no está bien caracterizada aún; Sin embargo, parece que en la mayoría de las personas la infección desaparece rápidamente, mientras que en algunos individuos la infección permanece.⁽⁸⁾

En piel o mucosas de aspecto normal, el virus puede permanecer en estado latente dentro de los núcleos de las células epiteliales basales; en tales casos, el ADN viral está presente en forma episomal (molécula circular extracromosómica) en un bajo número de copias. En cambio, en subtipos de VPH benignos y premalignos de bajo grado, el ADN del VPH episomal normalmente está presente dentro de las diversas capas de células epiteliales en un mayor número de copias, con desprendimiento de viriones maduros de las células superficiales. Con la división de cada célula epitelial basal infectada, una célula hija permanece en la capa basal para mantener el reservorio viral, y la otra célula hija migra a las capas suprabasales, interfiere con la regulación del ciclo celular y utiliza la maquinaria de la célula huésped para sintetizar las proteínas necesarias para la replicación viral. En presencia de un alto número de episomales, el ADN viral puede integrarse en el genoma

del huésped, lo que lleva a la expresión de oncoproteínas y a la inactivación de genes supresores tumorales, lo cual no será un requisito absoluto para el desarrollo de tales lesiones pero sí un factor predisponente. ⁽⁸⁾

Hasta ahora se han identificado 25 tipos de VPH asociados a lesiones presentes en cavidad oral, y según el potencial oncogénico se clasifican como de bajo riesgo los subtipos: VPH-6, 11, 13, 32, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 64, 67. 69. 71. 72 y 81. Entre los subtipos de alto riesgo se encuentran: VPH-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y 73. Entre las principales manifestaciones clínicas en la cabeza y el cuello se encuentran lesiones benignas como el papiloma escamoso, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial focal, pueden desarrollarse en la cavidad oral y la orofaringe. ⁽⁸⁾

En la siguiente tabla se muestran los principales genotipos de VPH y su principal sitio de predilección:

Sitio de Predilección	Lesión	Principales Genotipos de VPH	Otros Genotipos de VPH Reportados
Mucosa de cabeza y cuello	Papiloma Oral Escamoso	6, 11	
	Papilomatosis respiratoria	6, 11	
	Papiloma fungiforme	6, 11	16, 57
	sinonasal	6, 11	16, 18, 57
	Papiloma invertido sinonasal	13, 32	1, 6, 11, 16, 18, 55
	Hiperplasia Epitelial Multifocal	16	18, 26, 33, 36, 45, 52, 58
	Carcinoma Epidermoide	6, 11, 16	
	Papiloma de la conjuntiva		
Piel	Verruga vulgar	2	1, 4, 6, 7, 11, 26, 27, 29, 41, 57, 65
	Verruga plana	3, 10	
	Verruga palmoplantar	1, 4	2, 5, 26-29, 38, 41, 49, 75, 76
	Verruga de Butcher	2, 7	2, 45, 57, 60, 63, 65, 66
			1, 3, 4, 10, 28
Región anogenital	Condiloma acuminado	6, 11	2, 16, 18, 31, 33, 35, 39-45, 51-56, 58, 59, 66, 68, 70
	Neoplasia intraepitelial	6, 11, 16, 18, 31, 33	26, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82
	Carcinoma de células escamosas cervical	16, 18	6, 11, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68

Figura 4. Principales genotipos de VPH en las diferentes lesiones asociadas a la infección por el Virus del Papiloma Humano en las diferentes regiones de presentación (mucosa de cabeza y cuello, piel, región anogenital). ⁽²⁾

En los Estados Unidos Mexicanos se han autorizado 2 vacunas contra el VPH: a) una vacuna tetravalente “Gardasil” dirigida a los tipos de VPH 6, 11, 16 y 18 y b) que es una vacuna bivalente “Cervarix” dirigida a los tipos de VPH 16 y 18. Se recomienda que estas vacunas sean de rutina para mujeres de 11 a 12 años de edad con el fin de prevenir cánceres de cuello uterino, vulva y vagina. La vacuna cuádruple viral está indicada para ambos sexos para la prevención de verrugas genitales. Además, estudios recientes han demostrado que la vacuna bivalente tiene una eficacia superior al 90% en la prevención de las infecciones orales por VPH de los subtipos 16 y 18 entre las mujeres. ⁽⁹⁾

5.2.1 Papiloma Escamoso

Los papilomas escamosos son las lesiones benignas con mayor prevalencia de las mencionadas anteriormente, se presentan comúnmente entre los 30 y 50 años de edad, entre sus principales sitios de aparición se encuentran el paladar blando, frenillo lingual, vestíbulo inferior, dorso y borde lateral de la lengua. Estas lesiones pueden ser múltiples o aisladas, y pueden exhibir un grupo de proyecciones blancas en forma de espiga, crecimientos rosados en forma de coliflor o pápulas sésiles ligeramente elevadas. ^{(8) (10)}



Figura 5. Presentación clásica de un papiloma escamoso en borde lateral de la lengua. Esta lesión exofítica se caracteriza por presentar proyecciones largas y puntiagudas de color blanco. ⁽²⁾

Desde el punto de vista histopatológico, las lesiones se encuentran cubiertas por epitelio escamoso estratificado queratinizado o paraqueratinizado con acantosis o hiperplasia. La inmunohistoquímica o hibridación *in situ* del ADN pueden utilizarse para confirmar la presencia y el tipo de VPH en las muestras histopatológicas. Los genotipos de VPH que se han encontrado en los papilomas orales escamosos son los 6, 11, 13 y 32. La escisión quirúrgica es el tratamiento de elección para las lesiones causadas por VPH. Recientemente se ha podido observar displasia dentro de las lesiones relacionadas con VPH y se ha sugerido que puede ser un factor para el desarrollo de Carcinoma Epidermoide de la cavidad oral. ⁽¹⁰⁾

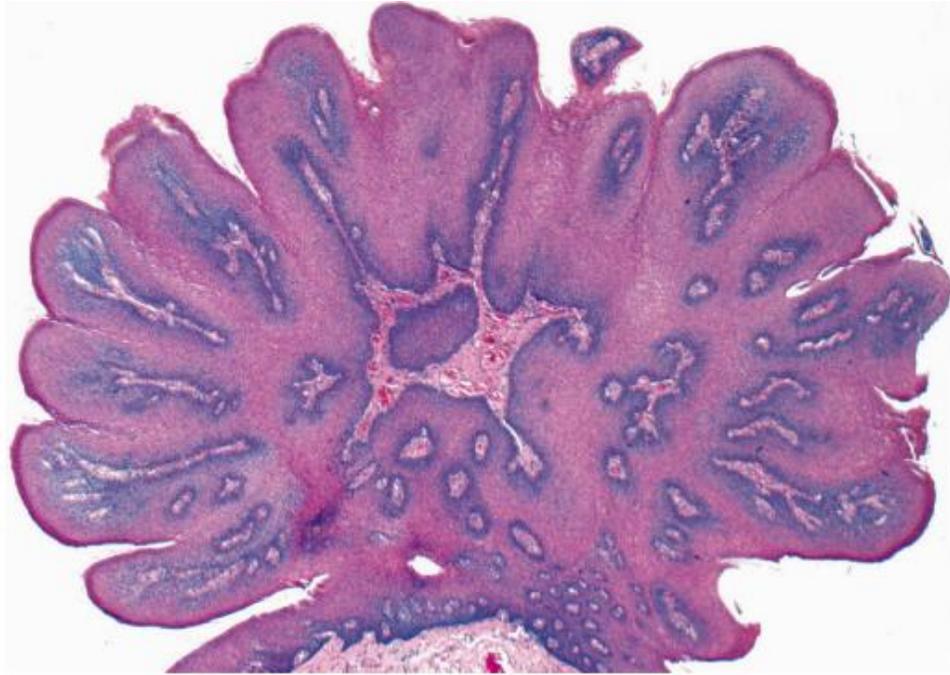


Figura 6. Fotomicrografía teñida con HyE de un papiloma escamoso. Se observan proliferación del epitelio escamoso con múltiples proyecciones papilares soportadas por núcleos fibrovasculares. ⁽²⁾

5.2.2 Condiloma Acuminado

Es una proliferación del epitelio escamoso inducida por la infección del VPH que puede presentarse en la región anogenital, la boca y laringe. Aproximadamente el 90% de los casos se le acuden a los subtipos de VPH 6 y 11, sin embargo, la coinfección con otros subtipos incluidos los de alto riesgo 16 y 18 conllevan a que se puedan presentar estas lesiones. La población en la que comúnmente se presentan son los jóvenes y adultos jóvenes debido a que su aparición es sinónimo de haber adquirido una enfermedad de transmisión sexual (ETS). Los sitios de aparición más frecuentes son la mucosa labial y el frenillo lingual, aunque en ocasiones también se pueden presentar en el paladar blando. ⁽¹¹⁾

La presentación clínica se describe como lesiones exofíticas sésiles con proyecciones superficiales cortas, bien delimitadas, indoloras y de un color rosado. El condiloma tiende a ser más grande que el papiloma escamoso (con un tamaño promedio de 1.0 a 1.5 cm, aunque se han reportado lesiones de hasta 3 cm de diámetro) y se caracteriza por su agrupación con otros condilomas. La histopatología describe al condiloma acuminado como una proliferación benigna del epitelio escamoso estratificado acantósico con ligeras proyecciones superficiales papilares queratósicas. También es común observar atipia

coilocítica en las capas más superficiales del epitelio, así como hiperplasia de células basales y criptas llenas de queratina en las proyecciones papilares. El epitelio superficial está bien diferenciado, pero dentro de la capa de células espinosas es normal observar coilocitos (células alteradas por la infección del VPH y que presentan picnosis).⁽¹¹⁾



Figura 7. Fotomicrografía teñida con HyE de condiloma acuminado. Se observa la proliferación de epitelio escamoso estratificado acantósico formando una proyección embotellada.⁽²⁾

5.2.3 Hiperplasia Epitelial Multifocal (Enfermedad de Heck)

La hiperplasia epitelial multifocal (HEMF) o enfermedad de Heck es una proliferación del epitelio escamoso atribuida principalmente a los subtipos de VPH 13 y 32. La HEMF generalmente afecta a varios miembros de una familia determinada; esto se puede deber a la susceptibilidad genética o la transmisión de VPH entre miembros de la familia. En un principio se describió como “hiperplasia epitelial focal” pero el término “multifocal” se añadió ya que los pacientes suelen presentar múltiples lesiones juntas. La HEMF comúnmente aparece en niños y jóvenes, aunque también los adultos pueden ser afectados. Los sitios más comúnmente afectados son la mucosa labial, mucosa bucal, paladar, piso de boca y en raras ocasiones es posible observar lesiones en el área tonsilar.⁽¹²⁾

Existen 2 variables clínicas principales: a) papulonodular y b) papilomatosa. La variante papulonodular es la más común de ambas y se caracteriza por presentar pápulas/nódulos rosados de superficie lisa con predilección por la mucosa bucal, mucosa labial y las comisuras. La variante papilomatosa se caracteriza por presentar nódulos de color blanco a rosa pálido en el dorso de la lengua y encía adherida. En ambas variantes, las lesiones aisladas son pequeñas (0.1 a 1 cm) y bien delimitadas, pero pueden unirse para formar una superficie de “empedrado” o fisurada. El sello distintivo de la HEM es un cambio abrupto y a veces considerado como acantosis del epitelio superficial. Las crestas interpapilares se ensanchan, y a menudo confluyen; también en ocasiones es posible observar queratinocitos superficiales que muestran un cambio coilocitario similar al de otras lesiones causadas por VPH. En ocasiones algunas células epiteliales muestran núcleos alterados con formas similares a una figura mitótica. ⁽¹²⁾

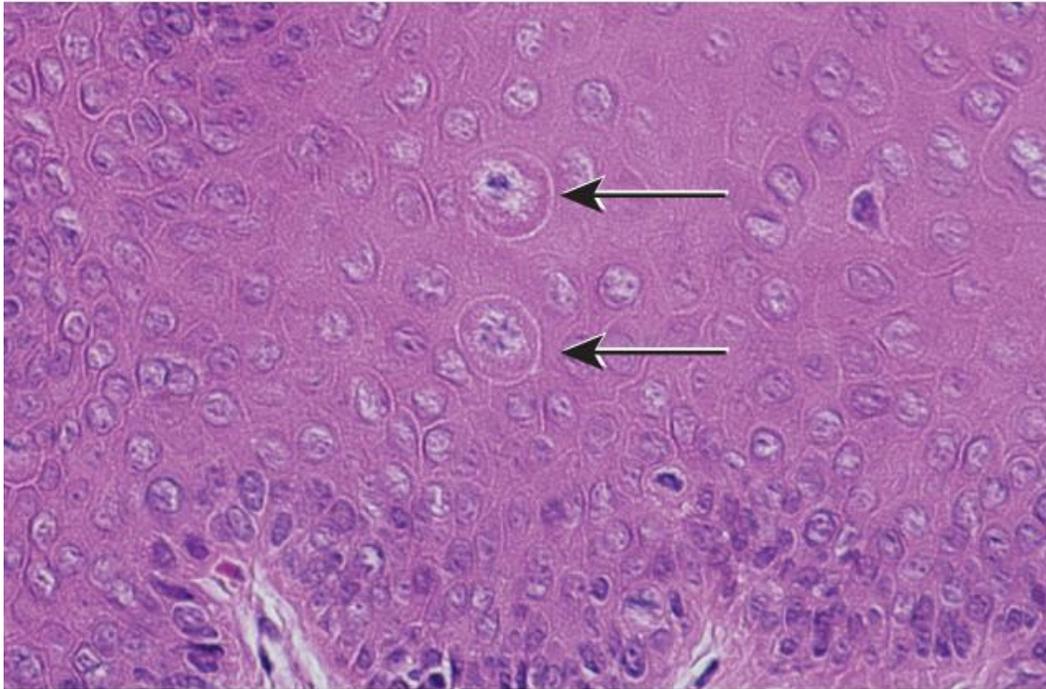


Figura 8. Fotomicrografía teñida con HyE de hiperplasia epitelial multifocal (HEM). Las flechas negras señalan células mitosoides las cuales se caracterizan por presentar núcleos alterados. De la misma manera se observa un epitelio escamoso estratificado maduro y bien diferenciado. ⁽²⁾

Existen diferentes tipos de tratamiento para estas lesiones, la escisión quirúrgica conservadora con fines diagnósticos, estéticos o para lesiones que están sujetas a trauma constante suele ser la más recomendada, aunque estas lesiones también pueden ser

tratadas con crioterapia y electrocoagulación. Algunos autores también han reportado el tratamiento a base de inyecciones intralesionales de interferón-alfa. ⁽¹²⁾

5.2.4 Métodos de detección para VPH

Los métodos para detectar VPH en lesiones de cabeza y cuello son diversos, destacando la reacción en cadena de polimerasa (PCR) como la técnica molecular más utilizada, seguido de la hibridación in situ (ISH) y terminando con la técnica de inmunohistoquímica (IHQ). Todos estos recursos presentan distintos rangos de sensibilidad y especificidad. ⁽¹³⁾

Las técnicas que utilizan hibridación de ácidos nucleicos marcados para detectar VPH como Southern blot o Dot blot reportan una alta especificidad, pero su sensibilidad suele ser menor en comparación con la técnica de PCR, que esencialmente trata de la amplificación de una región específica del ADN del VPH. Sin embargo, se debe entender que, a pesar de la detección de ADN viral, este hallazgo por sí solo no indicará la participación activa de este virus, por lo que se ha sugerido la combinación de técnicas para determinar una infección que potencialmente conlleve a la tumorigénesis, por ejemplo: La expresión citoplasmática y nuclear de p16, ambas en un porcentaje del 70% más la identificación de ADN viral mediante PCR. ⁽¹³⁾

5.3 Carcinoma Epidermoide asociado al Virus del Papiloma Humano

Se sabe que en algunos tipos de cáncer entre su etiología se encuentran diversas infecciones por agentes virales y más del 20% de los cánceres globales están asociados con este tipo de infecciones. Un diverso rango de virus está implicado en diferentes tipos de cánceres que afectan casi todos los órganos del cuerpo humano como son: el hígado, pene, vagina, cuello uterino, ano, orofaringe, laringe, senos paranasales y la cavidad oral. Los agentes virales que están asociados con cánceres orales incluyen: a) Virus del Papiloma Humano (VPH) asociado con carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, b) Virus de Epstein Barr (VEB) asociado con carcinomas nasofaríngeos, y c) Herpes Virus asociado a Sarcoma de Kaposi. ⁽¹⁴⁾

Estudios recientes han demostrado que el VPH es uno de los principales conductores para un posterior desarrollo de Carcinoma Epidermoide, específicamente el subtipo de VPH 16. ⁽¹⁴⁾

5.4 P53

El gen p53 abarca de 16 a 20 kilobases de ADN en el brazo corto del cromosoma 17 en la posición 17p13. En los últimos años varias líneas de evidencia han caracterizado a p53 como un gen supresor tumoral. El producto del gen p53 es una fosfoproteína nuclear de 393 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 53 kDa. La proteína p53 tiene 2 isoformas diferentes: a) correspondiente a p53 normal y b) correspondiente a la isoforma de p53 mutante. La isoforma normal de la proteína suele tener una vida media corta, por lo tanto, en las células no cancerígenas p53 se encuentra en concentraciones mínimas y por lo general, no es reactiva mediante las técnicas convencionales de inmunohistoquímica. ⁽¹⁵⁾

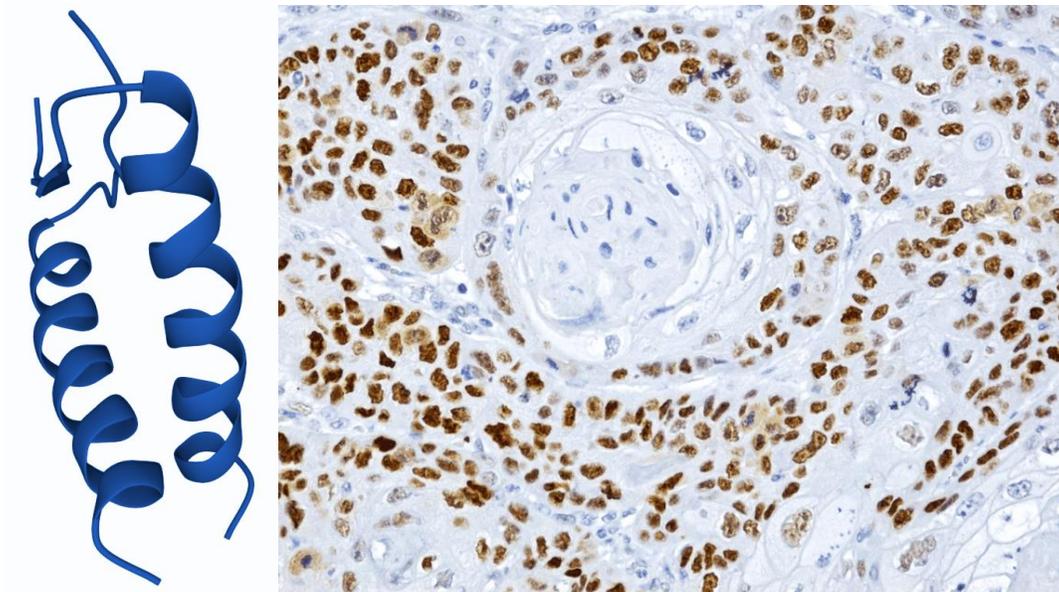


Figura 9 y 10. a) Modelo tridimensional de la proteína p53. Isoforma de p53 normal donde se puede observar que la mayoría de la estructura secundaria corresponde a hélice alfa. (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04637>). b) Fotomicrografía de técnica de IHQ para p53 en biopsia tomada correspondiente a un carcinoma epidermoide de la cavidad oral. ⁽²⁰⁾

Sin embargo, si existen mutaciones en el gen p53, que además de alterar la función como proteína supresora tumoral también se puede estabilizar, dando como resultado su acumulación a niveles detectables por medio de inmunohistoquímica. En un principio se pensaba que toda la proteína detectable de p53 era mutante, sin embargo, ahora se sabe que esta se puede sobre expresar como respuesta normal al daño del ADN, o como resultado de la unión de la proteína p53 a otras proteínas o virus como el Virus del Papiloma Humano (VPH). Su función normal de p53 no está bien establecida aún, pero por su

estructura se puede discernir que funciona como activador de la transcripción del ADN en conjunto con una proteína accesoria, y se cree que los productos proteicos subsiguientes ejercen un control negativo sobre el ciclo celular, específicamente en el paso S de la replicación del ADN. El gen p53 probablemente tiene varias funciones específicas en el ciclo celular normal, por lo tanto, es posible que el gen mutado tenga impacto en el desarrollo y progresión de la neoplasia. También es probable que las mutaciones de p53 por sí solas no sean suficientes para el desarrollo de tumores, pero representan la anomalía genética más comúnmente identificada en la formación de malignidad. ⁽¹⁵⁾

Las mutaciones del gen p53 se han identificado en una amplia gama de tumores malignos hasta la fecha, y también se ha observado que tanto la mutación de p53, así como la sobreexpresión de p53 son frecuentes en neoplasias malignas de cabeza y cuello. Incluso, algunos autores afirman que p53 es la alteración genética más común detectada en el carcinoma epidermoide. P53 también ha sido encontrado en desórdenes potencialmente malignos como lo son las leucoplasias y eritroplasias orales. ⁽¹⁵⁾

5.5 MDM2

MDM2 es un protooncogén celular amplificado en el 20-40% de todos los cánceres humanos. En carcinomas epidermoides la frecuencia de expresión positiva es alta, entre aproximadamente el 40 y 80% de los casos. La proteína MDM2 consta de 491 aminoácidos e interactúa a través de su dominio N-terminal con una hélice- α presente en el dominio de transactivación de p53. El gen de MDM2 se mapea en el cromosoma 12q13-14. MDM2 es una ubiquitina y ligasa E3 que se dirige a p53 para su degradación en respuesta al daño del ADN. Esta proteína tiene la capacidad de fosforilarse en varios sitios a través de diferentes vías en el momento de que se detecta una alteración en el ciclo celular (hipermitosis) así como en desordenes en la producción de insulina, factores de crecimiento, aminoácidos y del estado energético celular en general. ⁽⁶⁾

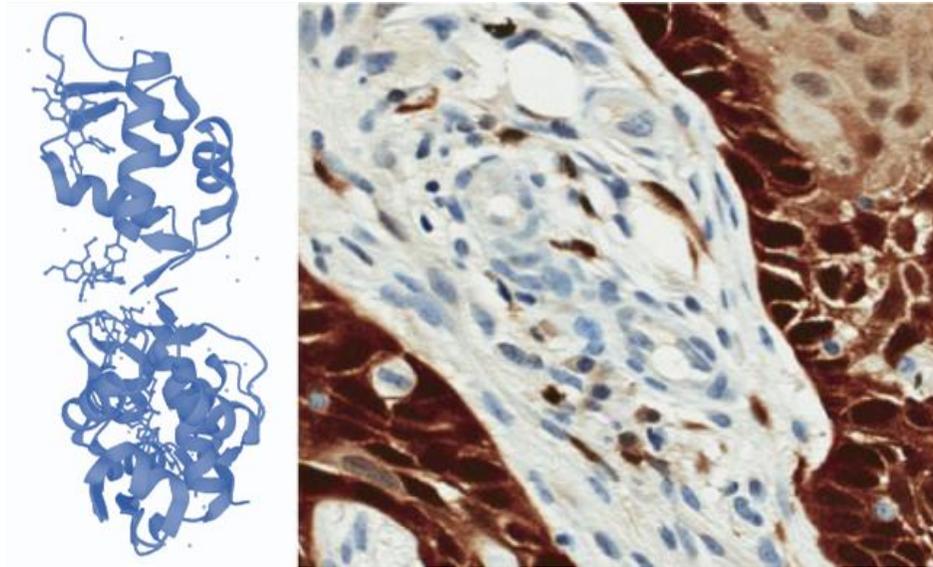


Figura 11 y 12. a) Modelo tridimensional de la proteína MDM2 (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q00987>) b) Fotomicrografía de técnica de IHQ para MDM2 proveniente de un Carcinoma Epidermoide. Se observa la positividad de las células por la sobreexpresión de MDM2 de un color marrón. ⁽²⁰⁾

Controla la proliferación celular y la apoptosis a través de la regulación de p53, por lo tanto, MDM2 tiene como objetivo limitar la actividad de p53 a través de la degradación eficiente de esta proteína. MDM2 es inmunorreactiva en el frente invasivo de Carcinomas Epidermoides en las capas basales y suprabasales del epitelio no tumoral en todos los casos positivos a p53. ⁽⁶⁾

Aunque la relación de MDM2 y p53 es vital para la regulación de la proliferación y la apoptosis celular, varias otras proteínas están implicadas en la regulación de la estabilidad de p53, por lo que p53-MDM2 es una parte central pero integrada a un complejo de mecanismos celulares complejos. Por ejemplo, MDM2 está regulado por p14^{ARF} (que se mapea en el cromosoma 9p21, gen CDKN2A) que se une directamente e inhibe las funciones de MDM2, lo que conduce posteriormente a la estabilización de p53. Hay al menos dos proteínas codificadas a partir del locus CDKN2A: p14^{ARF} y p16^{INK4a}, por lo general las mutaciones en CDKN2A afectan a p16 o a ambas proteínas, lo que sugiere que este es el principal gen de susceptibilidad. La inactivación de la función de p53 en la carcinogénesis de cabeza y cuello se debe con frecuencia a la unión de MDM2; al mismo tiempo, la baja expresión de MDM2 está asociada a mutaciones en p53 que impiden la regulación positiva de MDM2. ⁽⁶⁾

5.6 P16

La proteína supresora p16INK4a mejor conocida como p16 es una proteína que consta de 156 aminoácidos y con un peso molecular aproximado de 16.5 KDa. El gen codificante para p16 se encuentra en la región 21 del brazo corto del cromosoma 9. Inhibe las quinasas 4 y 6 dependientes de ciclina D1 (CDK4/6, ciclina D1) cuya función es regular la actividad de la proteína retinoblastoma (Rb) a través de la fosforilación de esta. ⁽¹⁶⁾

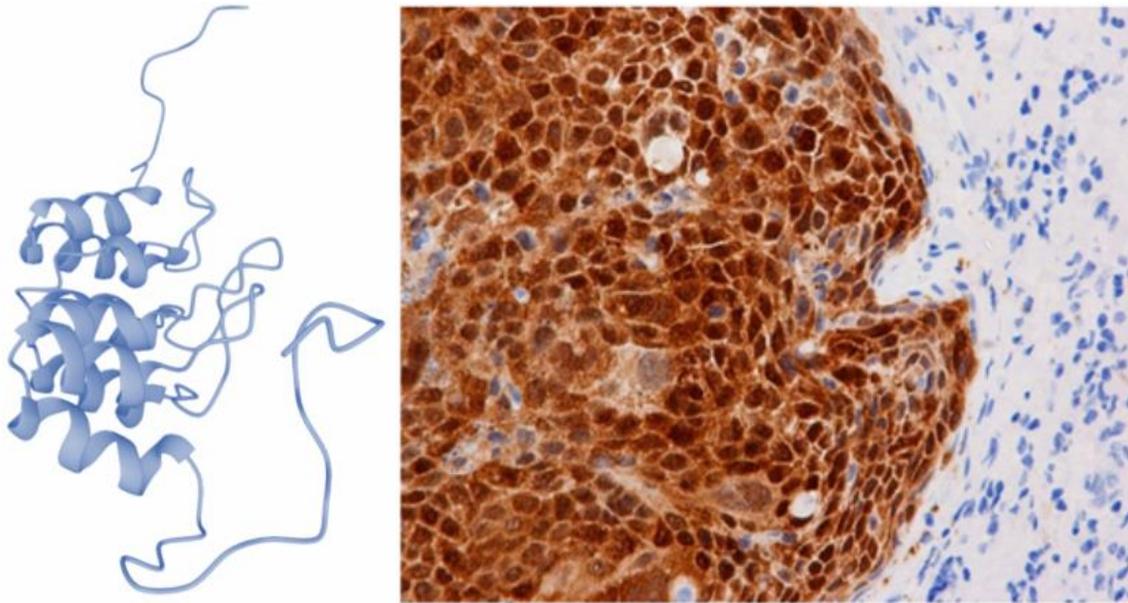


Figura 13 y 14. a) Modelo tridimensional de la proteína p16INK4a. El (uniprot.org/uniprotkb/P42771). b) Fotomicrografía de técnica de inmunohistoquímica para p16. Se muestra una fuerte tinción de positividad en la biopsia tomada de un papiloma escamoso de dorso de lengua. ⁽¹⁸⁾

La pérdida de la función de p16 genera inactivación de Rb por hiperfosforilación, y por tanto una disregulación y progresión prematura del ciclo celular. Se han descrito alteraciones de esta proteína p16 en relación con las radiaciones de los rayos ultravioleta, por predisposición genética (como ocurre en la predisposición familiar al melanoma), como consecuencia de mutaciones espontáneas y también provocadas por acción de los papilomavirus (VPH). Los subtipos de VPH mucosos (VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35...) actúan sobre el gen Rb y en consecuencia provocan una sobreexpresión de p16: Concretamente la proteína E7 de estos virus se une al gen Rb impidiendo la acción de los factores de transcripción de este. ⁽¹⁶⁾

Es importante destacar que la sobreexpresión de p16 se observa en casi todas las infecciones asociadas a VPH y se ha relacionado con la aparición de cánceres de cabeza y cuello, ya que la expresión de p16 nos ayuda como indicativo de que el virus está transcripcionalmente activo. Los carcinomas epidermoides con un resultado positivo para p16-VPH han resultado tener mayor prevalencia en adultos más jóvenes, propensión a hacer metástasis en ganglios linfáticos, sensibilidad a la radiación/quimioterapia y una mayor tasa de supervivencia. ⁽¹⁷⁾

Hasta hace poco se creía que el VPH tenía un papel menor en el desarrollo de CE debido a que solo se identificaba en el 2.9-5.9% de los casos y el comportamiento de estos tumores no ha sido bien caracterizado. ⁽¹⁵⁾ Desafortunadamente la mayoría de los estudios que relacionan la aparición de CE con la presencia de VPH no lo hacían a través de p16. En un estudio realizado por Woo Sook-Bin y colabs. (2013) en un grupo de pacientes con lesiones potencialmente malignas en diferentes sitios anatómicos y que de la misma manera desconocían algún antecedente para VPH, demostraron a través de pruebas de hibridación *in situ* para VPH de alto riesgo la correlación que había entre estados dos enfermedades, en este mismo estudio se menciona que en todas las biopsias tomadas de la lesión se les realizaron pruebas inmunohistoquímicas para p16 donde la positividad mostraba un cambio abrupto del epitelio displásico al no displásico en todas las lesiones, y que en el seguimiento que hubo en la totalidad de los pacientes, 3 de ellos desarrollaron un Carcinoma Epidermoide y uno más fue diagnosticado con Carcinoma Epidermoide durante la biopsia. ⁽¹⁷⁾

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Las lesiones asociadas a VPH en la cavidad oral son un grupo diverso de enfermedades que van desde lesiones hiperplásicas hasta neoplasias malignas, todas ellas con diferentes presentaciones clínicas y algunas similitudes histológicas, el factor de riesgo para su desarrollo se atribuye a una descompensación inmunológica, frecuencia de la exposición y el aumento de la carga viral posterior a la primoinfección. En el caso de las lesiones benignas o de los desórdenes potencialmente malignos se ha identificado la prevalencia de ciertos genotipos de VPH considerados de alto riesgo para el desarrollo de cáncer orofaríngeo y bucal. Sin embargo, pese a su alta incidencia en la población joven y adulta, pocos son los estudios y comparaciones que determinan factores más precisos con los que

podamos categorizar y caracterizar más detalladamente la susceptibilidad o asociación de las lesiones orales y la presencia de los serotipos de VPH de alto riesgo.

7. HIPÓTESIS:

Confirmaremos la presencia de P53 y MDM2 a través de la técnica de inmunoperoxidasa en las biopsias de lesiones papilares asociadas a VPH en la cavidad oral, cuyo valor mayor de expresión estará directamente relacionado con cambios displásicos y a su vez, mayor expresión de p16INK4A para su asociación con la infección de VPH.

8. JUSTIFICACIÓN:

Las neoplasias malignas o “cáncer” como se le conoce en los tejidos epiteliales, es la suma de desórdenes genéticos, ambientales y locales del tejido por lo que cuya etiología no puede ser adjudicada a un solo factor. El Carcinoma Epidermoide es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad oral y se distingue por ser un tumor que no ha sido bien caracterizado hasta la fecha. Recientes estudios han demostrado que muchos de los carcinomas epidermoides diagnosticados en cavidad oral han sido simultáneamente positivos a los subtipos de VPH de alto riesgo (16 y 18) y aseguran que este virus juega un papel importante en el desarrollo de CE. Es de suma importancia que se siga una línea de investigación de esta correlación y la carga que tiene el VPH en el desarrollo de CE con el fin de que en un futuro esta neoplasia esté bien caracterizada y así poder desarrollar mejores alternativas de tratamiento.

9. OBJETIVO GENERAL:

Describir la reacción inmunohistoquímica de p16, p53 y MDM2 en lesiones asociadas al virus del papiloma humano (VPH) en la cavidad oral.

10. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Registrar y describir las características histológicas de las muestras seleccionadas.
2. Comparar el grado de inmunoexpresión de las diferentes muestras que dieron positivo a p16, p53 y MDM2 a través de IQH.
3. Conocer la prevalencia de la expresión de p53 y MDM2 en lesiones papilares asociadas al Virus del Papiloma Humano.

4. Relacionar los cambios displásicos en el epitelio con la expresión de p53, MDM2 y p16.
5. Analizar a través de medidas de tendencia central y dispersión la asociación de la infección del VPH con las lesiones papilares.

11. METODOLOGÍA:

Primera etapa. Universo del estudio y protocolo de investigación.

Búsqueda y revisión exhaustiva y actualizada de la literatura en las plataformas electrónicas como PubMed, Sciencedirect, Google Scholar, Springer Science, Nature Journal y OMIM con las palabras clave: *Squamous Cell Carcinoma*, *HPV associated lesions*, *Oral HPV related lesions*, *HPV oral squamous cell carcinoma*, principalmente, así mismo, se elaborará el instrumento de recolección de datos para la creación de la base de datos, así como la revisión del archivo de patología de la DEPeI FO UNAM y un servicio privado de patología bucal y maxilofacial en la ciudad de México para la obtención de las muestras.

Segunda etapa. Selección de la muestra y experimentación.

Búsqueda y selección de biopsias en el archivo del Departamento de Patología Bucal y Maxilofacial de la DEPeI FO UNAM así como del Centro de Diagnóstico de Patología Bucal y Maxilofacial en un periodo comprendido de enero del año 2019 a septiembre del año 2022 que fueron diagnosticadas como: Papiloma escamoso, Condiloma acuminado, Hiperplasia Epitelial Focal, Leucoplasia Velloso Proliferativa, Displasia epitelial verrucosa atípica y Carcinoma Epidermoide Basaloide / no queratinizante / Poco diferenciado). Una vez seleccionadas las muestras, se realizará la técnica de construcción de microarreglos histológicos "Microchops" para su evaluación histológica y técnica de inmunohistoquímica.

Tercera etapa: Análisis Microscópico y Descripción de Resultados.

Las laminillas resultantes de los "Microchops" teñidas con HyE se someterán nuevamente al análisis histopatológico con parámetros actualizados y estandarizados por el Colegio Americano de Patólogos para el diagnóstico del Carcinoma Epidermoide, para el caso de las Displasias Orales se utilizarán los parámetros propuestos por Woo y colaboradores, mientras que para el diagnóstico de HEF, PE y CAc se utilizarán los parámetros descritos por W. Brad Neville con el fin de registrar y comparar los hallazgos morfológicos.

Cuarta etapa: Análisis de la inmunorreacción y Descripción de Resultados.

La inmunorreacción de las células se realizará utilizando la escala de Alred, determinando 5 puntajes y 3 parámetros por intensidad y porcentaje de expresión, Para poder determinar la proporción de células positivas utilizaremos el Score de Alred y se comparará con el porcentaje obtenido en el programa ImageJ.

Para determinar la localización de la inmunoexpresión celular, se describirá el patrón de expresión en la base de datos como (N) nuclear, (C) citoplasmática y (M) membranoso. Así mismo si la expresión resulta ser mixta se colocarán las letras correspondientes.

Quinta etapa: Análisis estadísticos y manuscrito de publicación.

Los resultados que se obtengan a partir de lo anterior se analizarán a través de medidas de tendencia central y se compararan con estudios similares.

12. VARIABLES DEL ESTUDIO:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	FUENTES DE INFORMACIÓN	CATEGORÍA
Papiloma escamoso INDEPENDIENTE	Tumor benigno de origen epitelial más frecuente asociado a la infección por Virus del Papiloma Humano.	Se diagnosticaron como papilomas escamosos a las lesiones que cumplieran con los criterios histológicos propuestos por Brad Neville y colabs.	Clasificación histopatológica de la OMS 2005.	CUALITATIVA NOMINAL
Condiloma acuminado INDEPENDIENTE	Lesiones benignas que se caracterizan por una proliferación del tejido epitelial causada por la infección del Virus del Papiloma Humano.	Se diagnosticaron como condiloma acuminado a las lesiones que cumplieran con los criterios histológicos propuestos por Brad Neville y colabs.	Clasificación histopatológica de la OMS 2005.	CUALITATIVA NOMINAL
Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck) INDEPENDIENTE	Proliferación benigna de la mucosa oral con características clínicas e histológicas bien definidas asociadas a la infección por VPH.	Se diagnosticaron como hiperplasia epitelial focal a las lesiones que cumplieran con los criterios histológicos propuestos por Brad Neville y colabs.	Clasificación histopatológica de la OMS 2005.	CUALITATIVA NOMINAL
Leucoplasia vellosa proliferativa INDEPENDIENTE	Mancha blanca que no puede ser retirada al raspado y que no puede caracterizarse como otra entidad clínica ni patológica.	Se diagnosticaron como leucoplasia vellosa proliferativa a las lesiones que cumplieran con los criterios histológicos propuestos por Brad Neville y colabs.	Clasificación histopatológica de la OMS 2005.	CUALITATIVA NOMINAL
Displasia epitelial verrucosa asociada a VPH	Combinación variable de fenómenos microscópicos indicativos de un desorden de la	Se diagnosticaron como displasia epitelial verrucosa a las lesiones que cumplieran con los criterios	Criterios arquitecturales y	CUALITATIVA NOMINAL

INDEPENDIENTE	maduración epitelial y de una alteración en la proliferación epitelial.	histológicos propuestos por Woo y colabs.	citológicos de la OMS 2005.	
Carcinoma epidermoide INDEPENDIENTE	Neoplásia maligna que se origina de las células escamosas del epitelio que recubre la mucosa con el mayor índice de prevalencia de la cavidad oral.	Se diagnosticaron como carcinomas epidermoides a los tumores que cumplieran con los criterios histológicos estandarizados por el Colegio Americano de Patólogos.	Clasificación histopatológica de la OMS 2017.	CUALITATIVA NOMINAL
P16 DEPENDIENTE	Proteína supresora tumoral encargada de la regulación del gen Rb y cuya alteración es a causa de la infección por VPH.	N. Nuclear C. Citoplasma M. Membrana.	- Software ImageJ	ORDINAL CUANTITATIVO (PROPORCIÓN DE CÉLULAS) NOMINAL (LOCALIZACIÓN DE EXPRESIÓN)
P53 DEPENDIENTE	Gen supresor tumoral encargado de la detección de alteraciones en el ADN en su isoforma normal y en su isoforma mutante asociado a la proliferación de neoplasias malignas.	N. Nuclear C. Citoplasma M. Membrana.	- Software ImageJ	ORDINAL CUANTITATIVO (PROPORCIÓN DE CÉLULAS) NOMINAL (LOCALIZACIÓN DE EXPRESIÓN)
MDM2 DEPENDIENTE	Protooncogén encargado de la regulación de p53 a través de su degradación eficaz y cuya alteración es asociada al desarrollo de carcinomas orales.	N. Nuclear C. Citoplasma M. Membrana.	- Software ImageJ	ORDINAL CUANTITATIVO (PROPORCIÓN DE CÉLULAS) NOMINAL (LOCALIZACIÓN DE EXPRESIÓN)

13. RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES:

- **Institucionales:**

Material diagnóstico disponible de los casos o expedientes que cumplan con los criterios de inclusión (laminillas y bloque de cera) perteneciente y proporcionado por el Departamento de patología Bucal y Maxilofacial de la DEPeI FO UNAM y por el Centro de Diagnóstico de Patología Bucal y Maxilofacial.

- **Humanos:**

Responsables del proyecto (2) Asesores (1)

- **Materiales e insumos:**

Bolígrafo, marca textos, libreta, computadora portátil con acceso a internet, memoria USB y estuche para transportar y resguardar las laminillas teñidas con HyE e inmunohistoquímica.

Material bibliográfico impreso, artículos obtenidos como resultado de la búsqueda electrónica en las diferentes plataformas y revistas digitales indexadas como PubMed, Science Direct, Google Scholar, entre otras.

- **Equipo de laboratorio:**

Equipo de laboratorio necesario para la técnica de tinción con HyE así como el equipo necesario para la técnica de inmunohistoquímica. Microscopio óptico.

- **Financiamiento:**

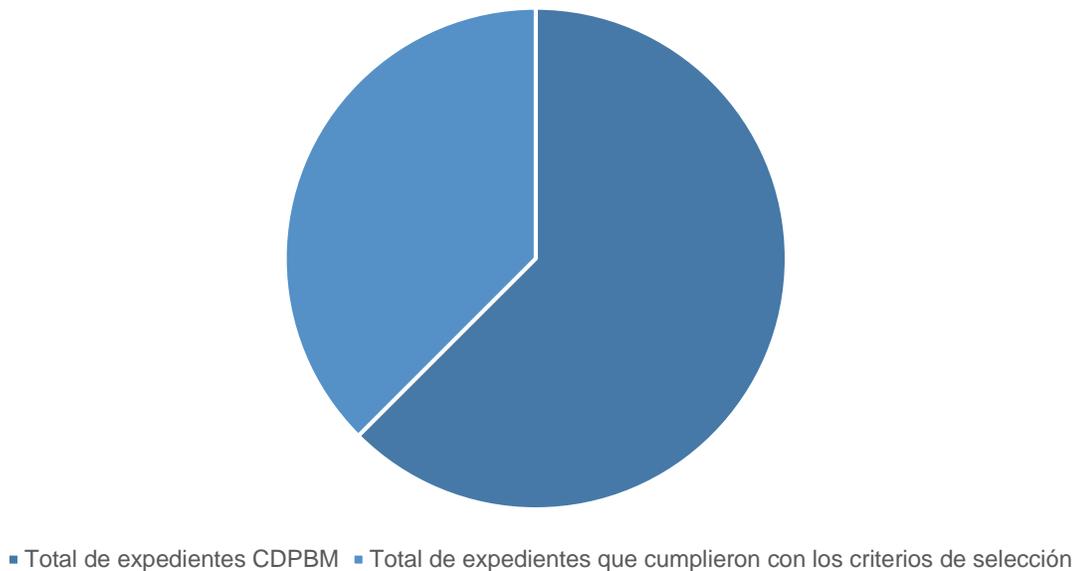
A cargo de los responsables del proyecto.

14. RESULTADOS:

Análisis estadístico descriptivo.

Durante la segunda etapa que comprendió el estudio, un total de 50 expedientes registrados en la bitácora de casos del Centro de Diagnóstico de Patología Bucal y Maxilofacial correspondientes a los años 2021-2022 fueron seleccionados a partir de los siguientes diagnósticos "Carcinoma epidermoide, Papiloma escamoso y Condiloma Acuminado". De la cifra inicial solo 9 casos para CE ($N_1 = 9$), 13 casos para papiloma escamosa ($N_2 = 13$) y 8 casos para condiloma acuminado ($N_3 = 8$) contaban con los criterios de inclusión (tener laminilla, así como bloque de cera). El resto de las biopsias no cumplieron con los criterios de selección, que en su mayoría se caracterizó por no presentar bloque de cera.

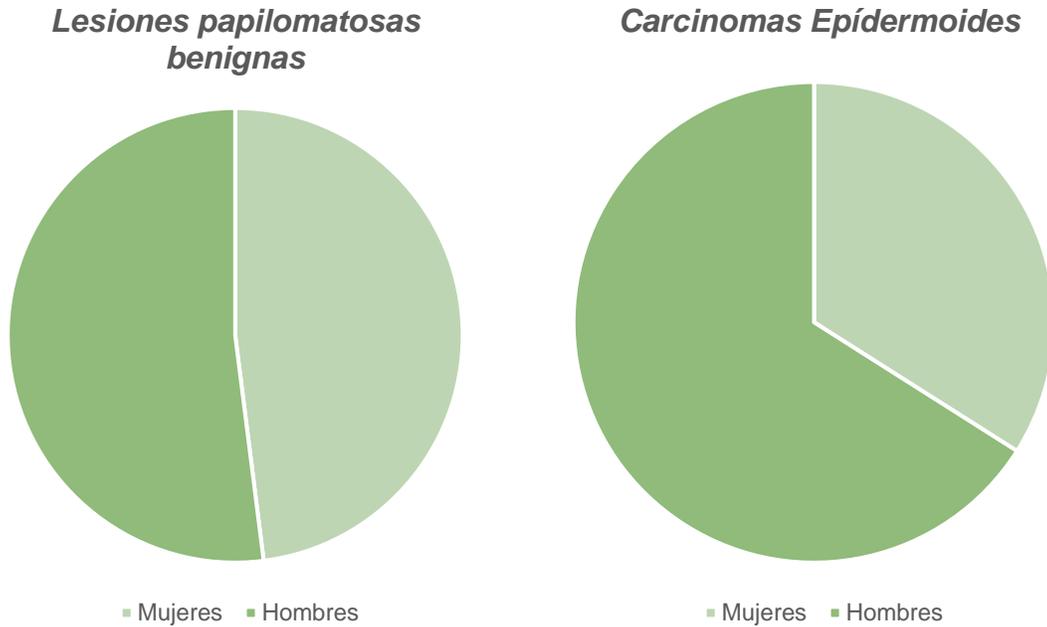
Distribución total de las biopsias registradas en el Centro de Diagnóstico de Patología Bucal y Maxilofacial con diagnóstico de CE, PE y CA



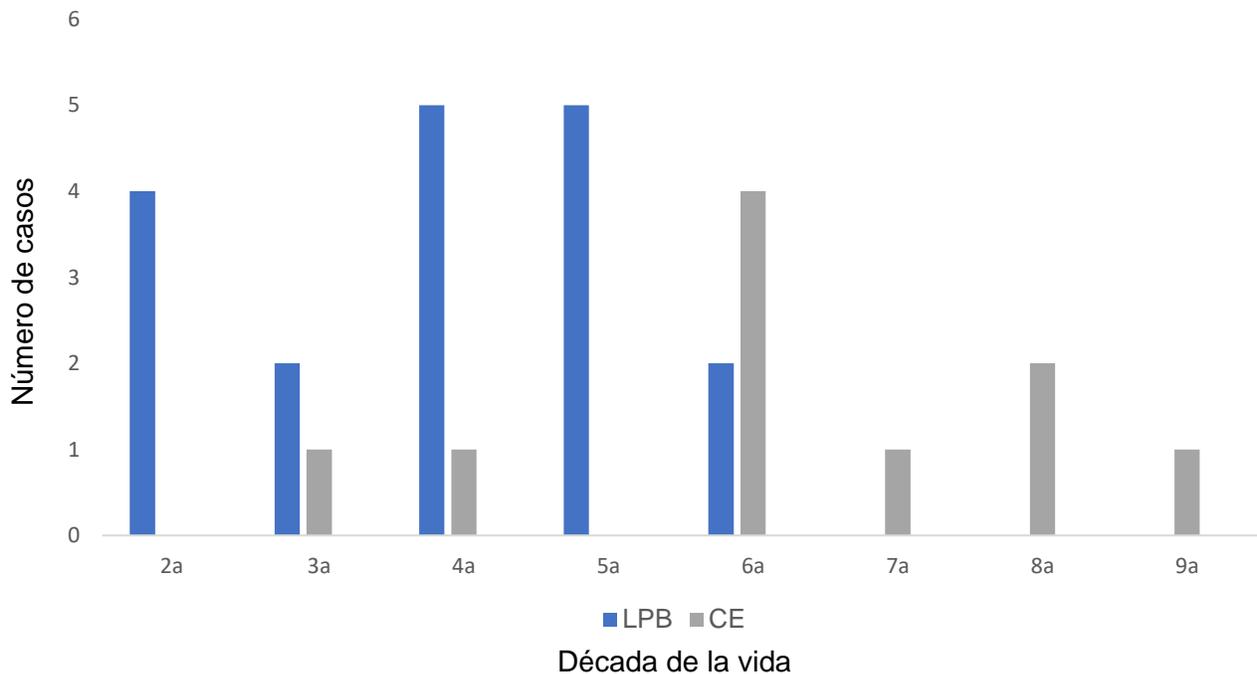
Gráfica 1. Distribución total de biopsias registradas en el CDPBM con los diagnósticos de CE, PE y CA.

De acuerdo con la distribución de las muestras por género, las lesiones papilomatosas benignas, incluyendo los PE y los CA, mostraron una ligera tendencia a desarrollarse en el sexo masculino (52%) con respecto al sexo femenino. De la misma manera con los carcinomas epidermoides que mostraron una mayor tendencia a desarrollarse en el sexo masculino (66%) en comparación con el sexo femenino. Con respecto a la distribución por edad de presentación de las lesiones papilomatosas benignas, se observó que estas

oscilan desde la segunda década de la vida hasta la sexta, con una media de edad de 42 años. En comparación con los CE que la edad de presentación oscila entre la tercera década de la vida hasta la novena, con una medida de edad de 65 años.



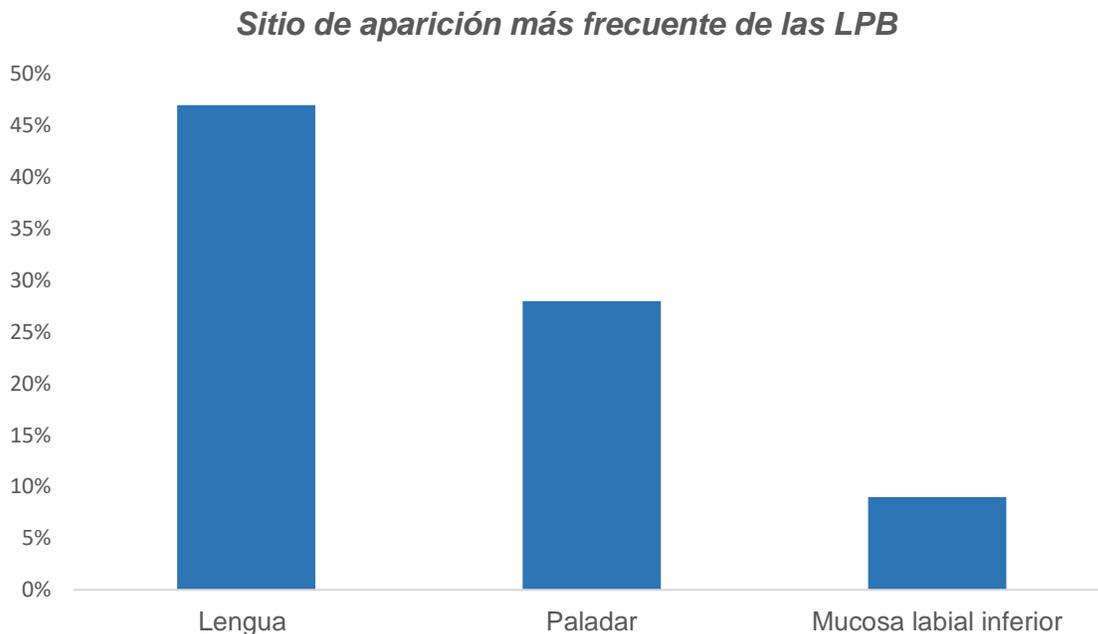
Gráfica 2. Distribución total de las lesiones papilomatosas benignas con base en el género de presentación. **3.** Distribución total de los carcinomas epidermoides con base en el género de presentación.



Gráfica 4. Distribución de las LPB y los CE con base en la década de vida en la que se presentan.

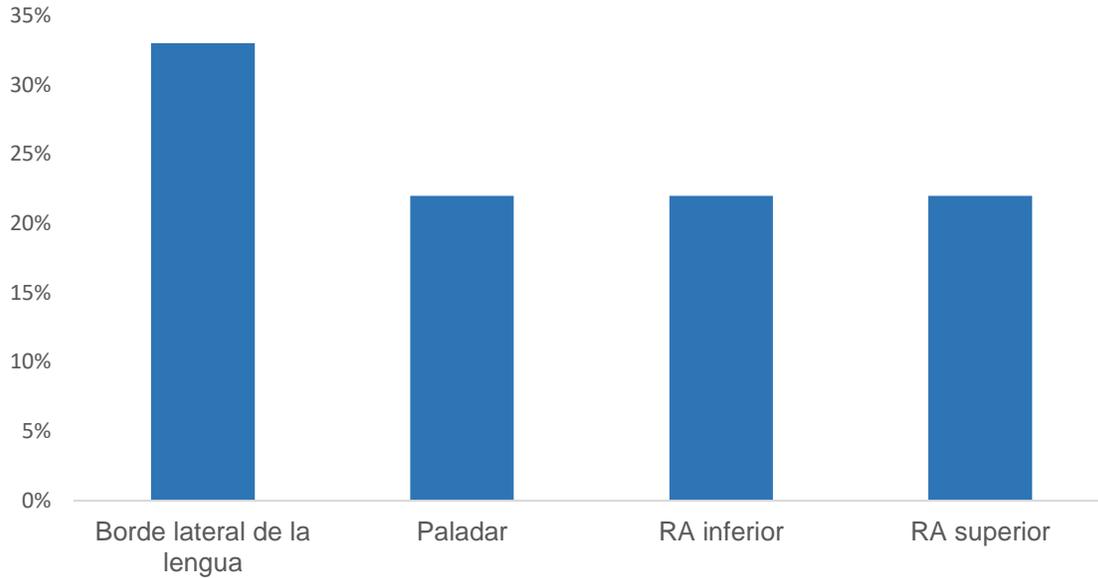
Del total de los casos seleccionados de las lesiones papilomatosas benignas se encontró que el sitio de predilección para la aparición de estas lesiones es la lengua (bordes laterales y dorso) con un 47% del total de los casos, seguido del paladar (incluyendo su subsitio anatómico blando y duro) con un 28% de los casos y finalizando con la mucosa labial inferior con un 9% de los casos. La presentación en el borde lateral de la lengua ya sea izquierdo o derecho es equivalente a la presentación en el dorso de la lengua. Se encontró que en área del paladar se presentan con mayor frecuencia en el subsitio blando a comparación del subsitio duro.

Con base en el subsitio anatómico de mayor frecuencia de aparición para los carcinomas epidermoides de la cavidad oral se encontró que es el borde lateral de la lengua con un 33% de la totalidad de los casos, tanto en el paladar (22%) así como el reborde alveolar inferior (22%) y el reborde alveolar superior (22%) se presenta en un porcentaje equivalente.



Gráfica 5. Distribución de las LPB de acuerdo con el sitio anatómico de presentación.

Sitio de aparición más frecuente de los CE



Gráfica 6. Distribución de los CE de acuerdo con el sitio anatómico de presentación.

Hallazgos morfológicos LPB y CE.

Los hallazgos morfológicos reportados en este estudio fueron obtenidos al utilizar la técnica de microscopía óptica y tinción de rutina de hematoxilina y eosina. Los datos se registraron con ayuda de las herramientas de recolección de datos de acuerdo con las características histológicas de interés.

FOLIO	DIAGNÓSTICO	PATRÓN DE CRECIMIENTO	COILOCITOSIS	INFLAMACIÓN	OTROS HALLAZGOS
A1 3421	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	AUSENTE	-
B1 5421	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	LINFOCITARIA LEVE	DISQUERATOSIS
C1 5921	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	LINFOCITARIA LEVE	DISPLASIA LEVE
D1 7221	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	LINFOCITARIA SEVERA	-
A2 9121	PAPILOMA ESCAMOSO	VERRUCOSO	PRESENTE	AUSENTE	-
B2 11821	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO PAPILAR	PROMINENTE	LINFOCITARIA LEVE	-

C2 12221	PAPILOMA ESCAMOSO	DIGITIFORME	PRESENTE	LINFOCITARIA LEVE	DISPLASIA LEVE
D2 13121	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO/ ENDOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	AUSENTE	-
A3 4822	PAPILOMA ESCAMOSO	VERRUCOSO	PRESENTE	AUSENTE	-
B3 8122	PAPILOMA ESCAMOSO	DIGITIFORME	PRESENTE	LINFOCITARIA LEVE	-
C3 10222	PAPILOMA ESCAMOSO	EXOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	AUSENTE	-
D3 11322	PAPILOMA ESCAMOSO	VERRUCOSO	PRESENTE	AUSENTE	-
A4 17622	PAPILOMA ESCAMOSO	VERRUCOSO	AUSENTE	AUSENTE	EDEMA

Tabla 3. Hallazgos morfológicos registrados de los papilomas escamosos.

FOLIO	DIAGNÓSTICO	PATRÓN DE CRECIMIENTO	COILOCITOSIS	INFLAMACIÓN	OTROS HALLAZGOS
A1 0222	CONDILOMA ACUMINADO	VERRUCOSO	PRESENTE	LINFOCITARIA LEVE	-
B1 4422	CONDILOMA ACUMINADO	VERRUCOSO	PRESENTE	LINFOCITARIA LEVE	DISQUERATOSIS Y DISPLASIA LEVE
C1 8922	CONDILOMA ACUMINADO	VERRUCOSO	PRESENTE	AUSENTE	
A2 11622	CONDILOMA ACUMINADO	VERRUCOSO ENDOFÍTICO	PRESENTE	AUSENTE	HIPERQUERATOSIS/ DISQUERATOSIS
B2 18922	CONDILOMA ACUMINADO	VERRUCOSO ENDOFÍTICO	PRESENTE	AUSENTE	-
C2 19022	CONDILOMA ACUMINADO	ENDOFITICO/ EXOFITICO VERRUCOSO	PRESENTE	AUSENTE	DISQUERATOSIS
A3 8422	CONDILOMA ACUMINADO	EXOFÍTICO/ ENDOFÍTICO PAPILAR	PRESENTE	AUSENTE	-
B3 18322	CONDILOMA ACUMINADO	ENDOFÍTICO NODULAR	PROMINENTE	LINFOCITARIA LEVE	-

Tabla 4. Hallazgos morfológicos registrados de los condilomas acuminados.

FOLIO	DIAGNÓSTICO	PATRÓN DE CRECIMIENTO	PATRÓN DE INFILTRACIÓN	COILOCITOSIS	PERMEACIÓN VASCULAR	DESMOPLASIA	INFLAMACIÓN PERITUMORAL
PBM 10722	CARCINOMA EPIDERMOIDE MD	SOLIDO TRAVECULAR/PAPILAR	NIDOS Y CÉLULAS SUELTAS	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE TIPO 1	LINFOCITARIA SEVERA
PBM 8021	CARCINOMA EPIDERMOIDE BD	PAPILAR	ISLAS	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE TIPO1	LINFOCITARIA SEVERA
PBM 8521	CARCINOMA EPIDERMOIDE MD	SOLIDO NODULAR/PAPILAR	NIDOS Y CÉLULAS SUELTAS	AUSENTE	PRESENTE	PRESENTE TIPO 2	LINFOCITARIA SEVERA
PBM 16621	CARCINOMA EPIDERMOIDE BD	PAPILAR	NIDOS, CORDONES Y CÉLULAS SUELTAS	PRESENTE	AUSENTE	AUSENTE	LINFOCITARIA LEVE
PBM 20621	CARCINOMA EPIDERMOIDE BD	SOLIDO NODULAR/PAPILAR	ISLAS	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE TIPO 2	LINFOCITARIA LEVE
PBM 9121	CARCINOMA EPIDERMOIDE MD	SOLIDO NODULAR/PAPILAR	NIDOS Y CÉLULAS SUELTAS	AUSENTE	PRESENTE	PRESENTE TIPO 1	LINFOCITARIA LEVE
PBM 01822	CARCINOMA EPIDERMOIDE PC	VERRUCOSO/PAPILAR	ISLAS Y NIDOS	PRESENTE	PRESENTE	AUSENTE	LINFOCITARIA LEVE
PBM 11522	CARCINOMA EPIDERMOIDE MF	ENDOFÍTICO PAPILAR	ISLAS Y CÉLULAS SUELTAS	AUSENTE	AUSENTE	AUSENTE	LINFOCITARIA SEVERA
PBM 16322	CARCINOMA EPIDERMOIDE BD	PAPILAR	ISLAS EMPUJANTES	PRESENTE	AUSENTE	PRESENTE TIPO 1	LINFOCITARIA SEVERA

Tabla 5. Hallazgos morfológicos registrados de las características de interés en los CE.

En el caso específico de los PE que integraban la muestra ($N_2 = 13$) los hallazgos morfológicos consistieron en lo siguiente: El patrón de crecimiento más frecuente fue exofítico papilar con un 53% de la totalidad de los casos ($n_2 = 7$) seguido del patrón verrucoso con un 30% de la totalidad de los casos. La coilocitosis estuvo presente en casi todos los casos con un porcentaje del 92% ($n_2 = 12$). La inflamación solo estuvo presente en el 38% de los casos y estuvo ausente en el 53% de los casos, solo el 7% de los casos totales presento una inflamación linfocitaria severa. En otros hallazgos histopatológicos encontramos que el 15% ($n_2 = 2$) presentaban displasia leve, la cual fue clasificada con base en los criterios publicados por Woo.

En el caso específico de los CA que integraban la muestra ($N_3 = 8$) los hallazgos morfológicos consistieron en lo siguiente: El patrón de crecimiento más frecuente fue el verrucoso con el 75% de los casos, seguido del endofítico papilar con un 62% de los casos que en comparación con los PE que en su mayoría presentaron un patrón de crecimiento exofítico papilar. La coilocitosis estuvo presente en el 100% de los casos ($n_3 = 8$) y la

inflamación linfocitaria estuvo únicamente en el 37 % de los casos, en el resto estuvo ausente. En otros hallazgos histopatológicos se encontró que se presentó disqueratosis en el 37% de los casos ($n_3 = 3$) seguido de la displasia leve con un 12% ($n_3 = 1$) de la totalidad de los casos que en comparación con los PE que se encontró en un porcentaje mayor.

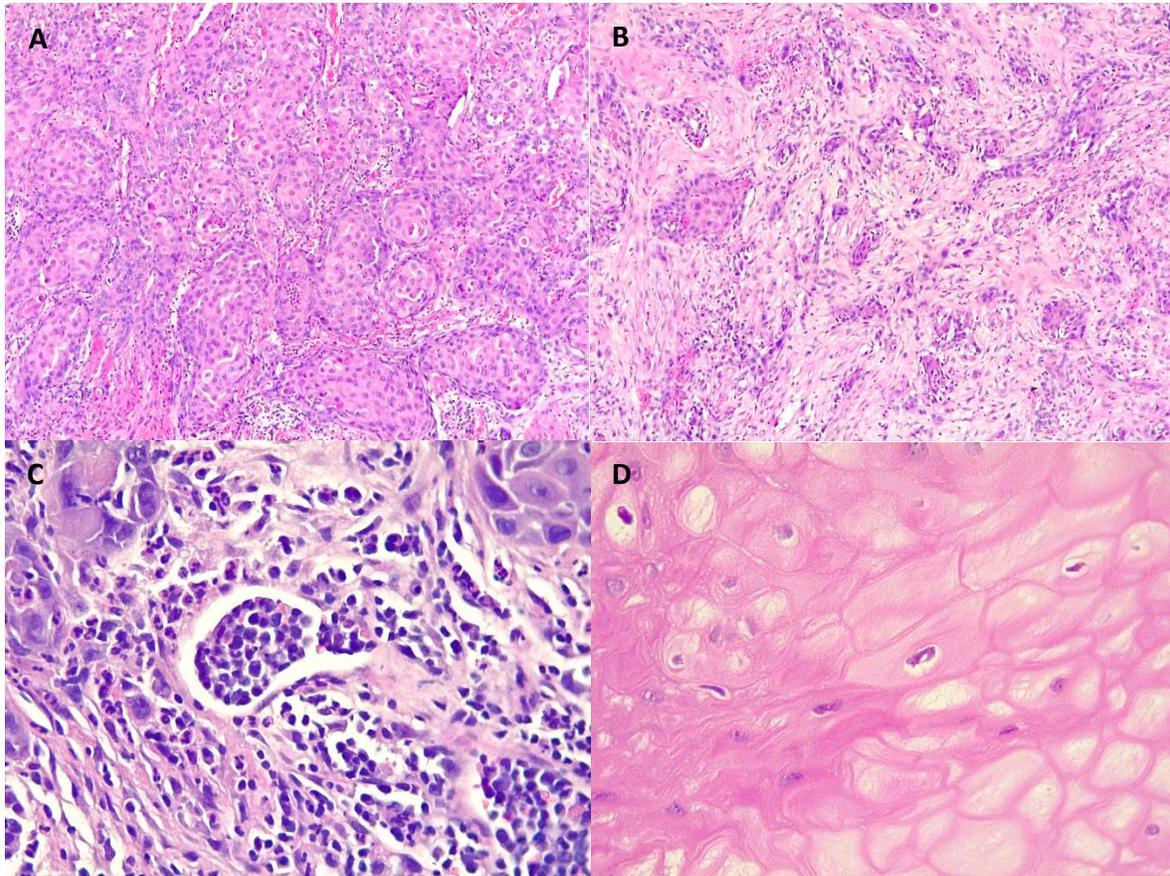
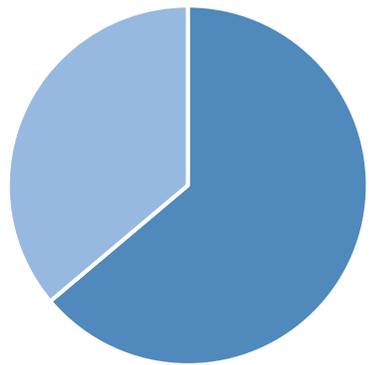


Figura 16. Fotomicrogrías con técnica de HyE para hallazgos morfológicos. A) Vista clásica de un CE moderadamente diferenciado con un patrón de infiltración en forma de nidos. B) Desmoplasia presente en CE. C) CE donde al centro se puede observar la ruptura del endotelio y las permeación de células epiteliales en la luz del vaso. D) Clásica presentación de la coilocitosis. (Fuente directa).

Para el caso específico de los CE que integraban la muestra ($N_1 = 9$) los hallazgos morfológicos consistieron en lo siguiente: El patrón de crecimiento predominante fue el papilar que se encontró en el 100% de los casos, seguido del sólido nodular que también se identificó en el 44% de la totalidad de los casos, y por último el patrón de crecimiento verrucoso con un 11% de la totalidad de los casos. La coilocitosis estuvo presente únicamente en el 33% de los casos, en el resto (67%) se encontró ausente. Con base en el patrón de infiltración, tanto el patrón de islas, nidos y células sueltas arroja el mismo porcentaje (ya que en algunos CE se podían observar 2 patrones de infiltración distintos) que fue del 55%; en uno de los casos también se pudo observar la variante de islas

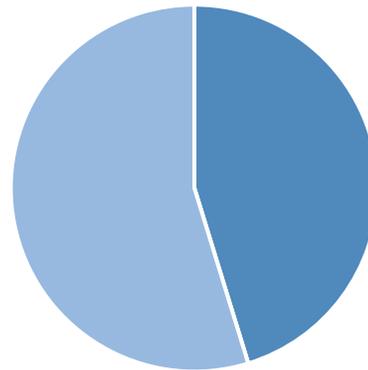
empujantes. Otra característica que se evaluó fue la desmoplasia, el subtipo 1 estuvo presente en el 55% de la totalidad de los casos y el subtipo 2 estuvo presente en el 11% de la totalidad de los casos. La permeación vascular estuvo presente en el 33% de los casos, en el restante se encontró ausente. La última característica morfológica que se analizó fue la inflamación peritumoral, en la que predominó la inflamación linfocitaria severa con un 55% de la totalidad de los casos seguido de la inflamación linfocitaria leve con 45% de la totalidad de los casos.

Patrón de crecimiento PE



■ Exofítico papilar ■ Verrucoso

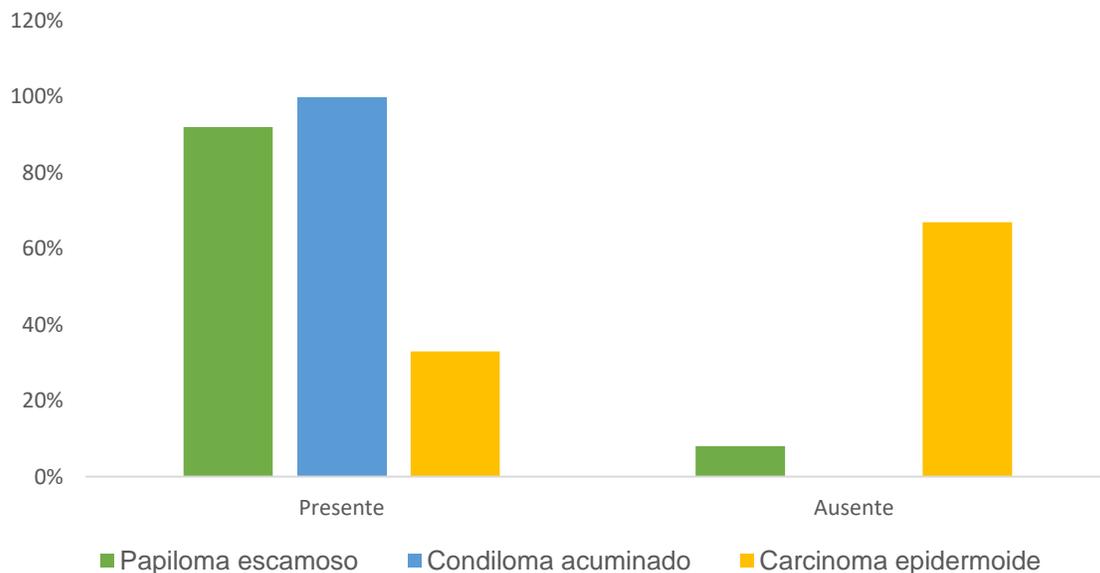
Patrón de crecimiento CA



■ Endofítico papilar ■ Verrucoso

Gráfica 7 y 8. Distribución de los casos de PE y CA con base en el patrón de crecimiento observado con técnica de microscopía óptica.

Coilocitosis en PE, CA y CE



■ Papiloma escamoso ■ Condiloma acuminado ■ Carcinoma epidermoide

Gráfica 9. distribución de los casos de PE, CA y CE con base en la presencia o ausencia de colilocitosis en los hallazgos morfológicos.

Análisis de la inmunotinción.

Los hallazgos obtenidos de la inmunoreacción en este estudio fueron a través la técnica de microscopía óptica y una técnica de inmunohistoquímica con 3 genes diferentes (p16, p53 y MDM2) que se realizó en todas las muestras seleccionadas. Los datos se registraron en la siguiente tabla de acuerdo con la localización de expresión (LOC), proporción de expresión (PROPORCIÓN)) y escala Allred (A).

FOLIO	DX	P16	P53	MDM2
A1 3421	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
B1 5421	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
C1 5921	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: C-N P: 10% A: 3	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
D1 7221	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: C-N P: 10% A: 3	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
A2 9021	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
B2 11821	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
C2 12221	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
D2 13121	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO P: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 30% A: 5	LOC: NEGATIVO P: - A: 0
A3 4822	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: C-N PROPORCIÓN: 30% A: 5	LOC: N PROPORCIÓN: 30% A: 6	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 4
B3 8122	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
C3 10222	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
D3 11322	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
A4 17622	PAPILOMA ESCAMOSO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
A1 0222	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: N, C PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
B1 4422	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: N, C PROPORCIÓN: 10% A: 2	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: N PROPORCIÓN: 20% A: 4

C1 8922	CONDILOMA ACUMINADO	L: N, C PROPORCIÓN: 20% A: 4	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
A2 11622	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
B2 18922	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
C2 19022	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
A3 8422	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: N- C PROPORCIÓN: 40% A: 6	LOC: N- M/PARABASAL PROPORCIÓN: 20% A: 4	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
B3 18322	CONDILOMA ACUMINADO	LOC: N, C PROPORCIÓN: 10% A: 3	LOC: N- M/PARABASAL PROPORCIÓN: 20% A: 4	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
PBM 10722	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 2	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
PBM 8021	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 20 % A: 1	LOC: N PROPORCIÓN: 20% A: 2	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
PBM 8521	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 20% A: 2	LOC: N PROPORCIÓN: 20% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
PBM 16621	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 30% A: 2	LOC: N PROPORCIÓN: 10 % A: 2	LOC: N PROPORCIÓN: 20 % A: 2
PBM 20621	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 20% A: 1	LOC: N PROPORCIÓN: 15% A: 2	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 2
PBM 9121	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 10% A: 1	LOC: N PROPORCIÓN: 0 A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 10% A: 2
PBM 01822	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 40% A: 1	LOC: N PROPORCIÓN: 0 A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: A:
PBM 11522	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 30% A: 1	LOC: N PROPORCIÓN: 25% A: 3	LOC: NEGATIVO PROPORCIÓN: - A: 0
PBM 16322	CARCINOMA EPIDERMOIDE	LOC: N-C PROPORCIÓN: 10% A: 2	LOC: N PROPORCIÓN: 5% A: 0	LOC: N PROPORCIÓN: 20% A: 3

Tabla 6. Registro de la inmunoreacción de p16, p53 y MDM2 en papiloma escamoso, condiloma acuminado y carcinoma epidermoide. (fuente directa).

En el caso de las LPB, para la expresión de la proteína de p16, el 38% de la totalidad de los casos dio positividad a la inmunoreacción (**tabla 6 y figura 16**), el otro 62% dio un resultado negativo. La localización de la expresión en el 100% de los casos positivos fue nuclear y citoplasmática. La proporción de la expresión en un 10% se presentó en el 62% de la totalidad de los casos positivos para p16 en LPB, seguido de una proporción de expresión del 20, 30 y 40%, con un porcentaje del 12% de la totalidad de los casos positivos para p16 en LPB. Con base en la escala Allred, el 50% de la totalidad de los casos positivos

tuvo una escala de 3, las demás escalas (2, 4, 5 y 6) tuvieron un porcentaje del 12% respectivamente. Para la expresión de la proteína de p53, el 85% de la totalidad de los casos dio un resultado positivo a la inmunoreacción, el otro 15% dio un resultado negativo. El 100% de la totalidad de los casos dio una localización de expresión nuclear (**figura 16**). Para la proporción de expresión en su mayoría fue del 10% con un porcentaje del 77% de la totalidad de los casos positivos y estos mismos se expresaban en las células de la membrana basal (como es común observar su expresión de p53), seguido de una proporción de expresión del 20 y 30%, con un porcentaje del 11% respectivamente para cada uno de estos.

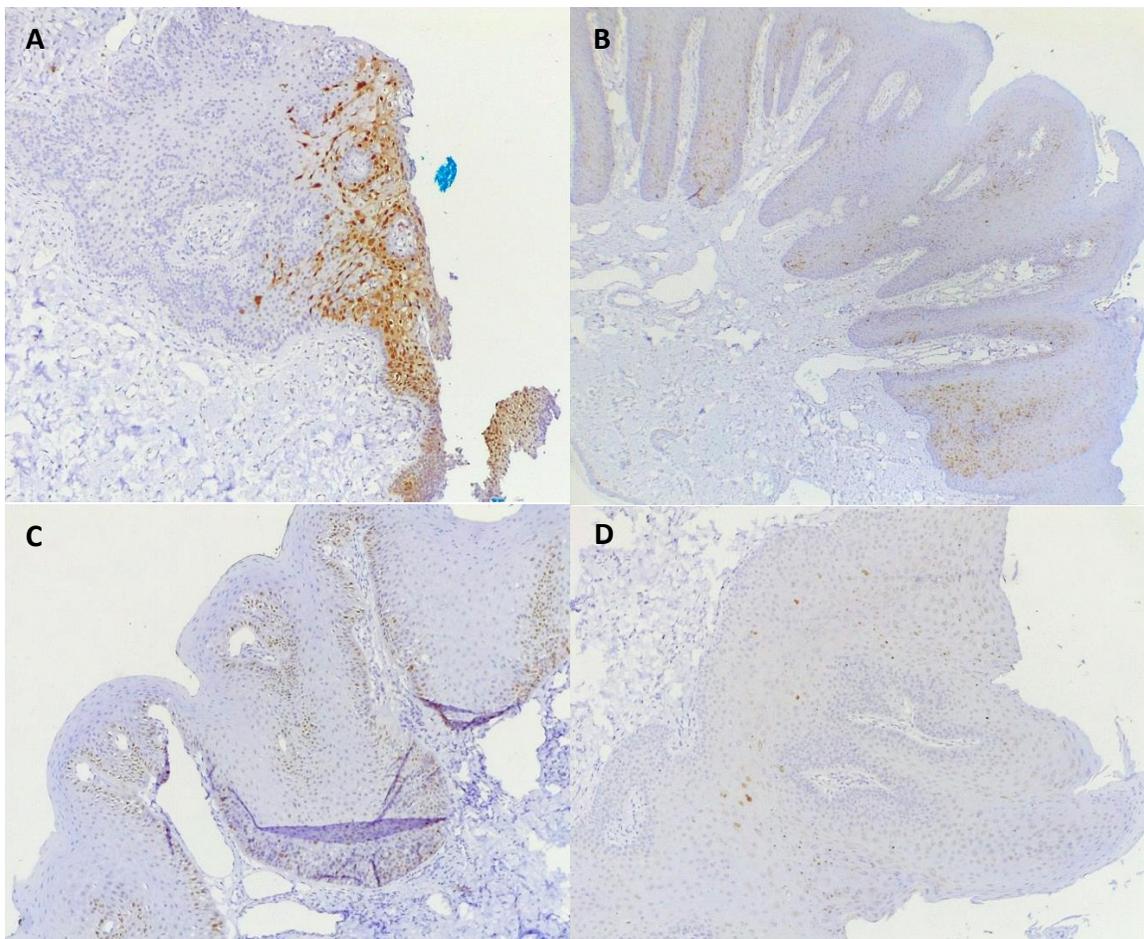


Figura 16. Fotomicrogrías de reacción inmunohistoquímica A) Inmunoexpresión de p16 en papiloma escamoso reportado en este trabajo. B) Inmunoreacción de p16 en CA. C) Inmunoreacción de p53 en CA. D) Inmunoreacción de MDM2 en PE reportado en este trabajo (fuente directa).

Para la expresión de la proteína MDM2 en LPB, solo el 9% dio un resultado positivo, el otro 91% dio un resultado negativo a la inmunoreacción (**tabla 6**). De la totalidad de los casos

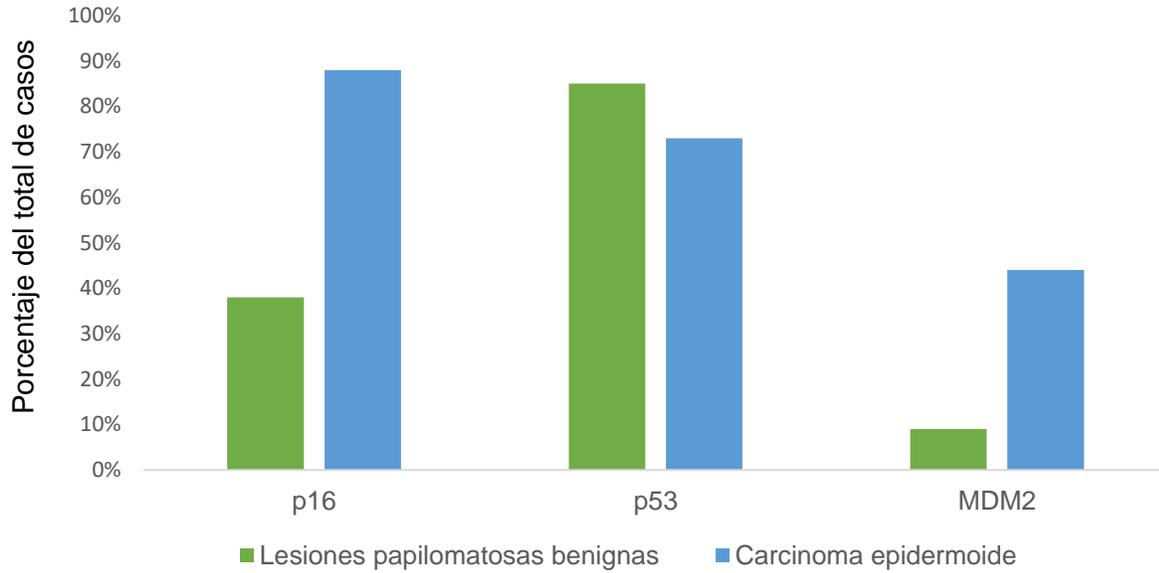
positivos para MDM2 el 100% dio una localización nuclear. Para la proporción de expresión solo hubo 2 resultados que fue del 10 y 20% con un porcentaje del 50% respectivamente de la totalidad de los casos. Con base en la escala Allred el 100 de la totalidad de los casos positivos para MDM2 tuvo una escala de 4.

En el caso de los CE, para la expresión de la proteína de p16, el 88% de la totalidad de los casos dio un resultado positivo a la inmunoreacción, el 12% restante dio un resultado negativo (**gráfica 10**). Para la localización de la expresión de p16, se encontró en un patrón nuclear y citoplasmático en el 100% de los casos. Para la proporción de la expresión se encontró que predominó una proporción del 20% con un porcentaje del 37% de la totalidad de los casos positivos para p16, seguido de una proporción del 10 y 30% con un porcentaje del 25% respectivamente y finalizando con una proporción de expresión del 40%, con un porcentaje del 12%. Con base en la escala Allred predominó una escala de 1 con un porcentaje del 62% del total de los casos positivos para p16, el otro 38% tuvo una escala de Allred de 2.

Para la expresión de la proteína p53 en CE, el 77 % de la totalidad de los casos tuvo un resultado positivo a la inmunoreacción, el otro 23% tuvo un resultado negativo. El 100% de los casos tuvo un patrón de expresión nuclear. En la proporción de la expresión los dos valores predominantes fueron 10 y 20% con un porcentaje del 22% cada uno de la totalidad de los casos positivos para p53 (**gráfica 11**), los valores restantes encontrados (5, 15 y 25%) tuvieron un porcentaje únicamente del 11%. Con base en la escala Allred, el 57% de la totalidad de los casos positivos para p53 obtuvo una escala 2, seguido de un 28% que obtuvo una escala de 3.

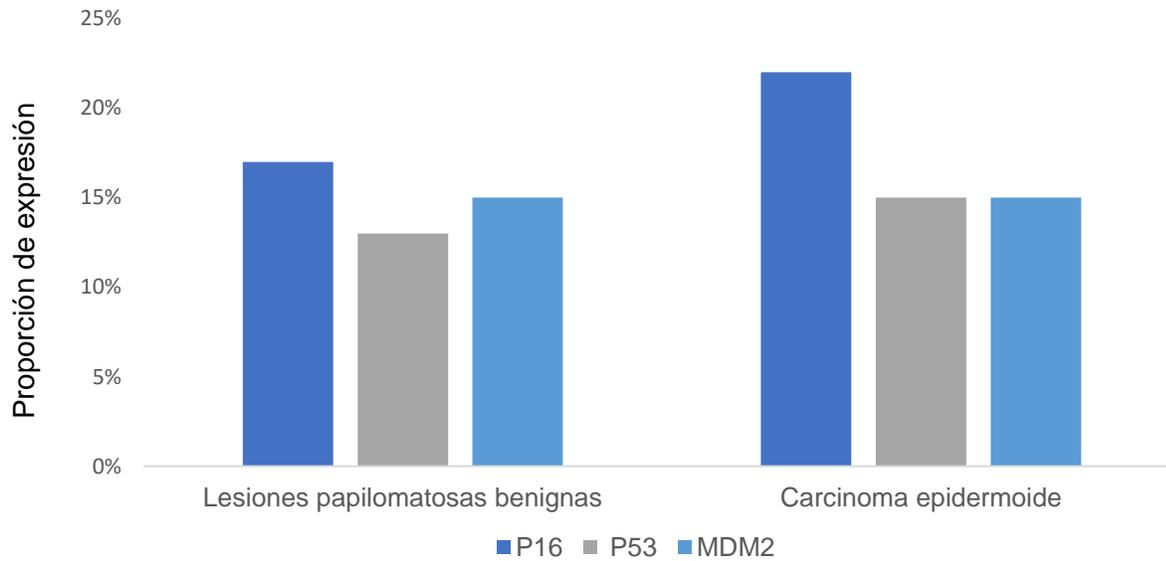
En la expresión de la proteína MDM2 en CE, solo el 44% del total de casos de CE dieron un resultado positivo a la inmunoreacción, dejando el 56% con un resultado negativo. De estos el 100% tuvo un patrón de expresión nuclear. En la proporción de expresión los valores de 10 y 20% tuvieron un porcentaje equivalente (50%) de la totalidad de los casos positivos para MDM2 en CE. Con base en la escala Allred para MDM2 en CE, el 75% de la totalidad obtuvo una escala de 2 y el 25% restante obtuvo una escala de 3.

Positividad a la inmunoreacción de P16, P53 y MDM2



Gráfica 10. Porcentaje de positividad del total de casos de LPB y CE para p16, p53 y MDM2.

Proporción de expresión de P16, P53 y MDM2 (promedio)



Gráfica 10. Porcentaje de expresión de p16, p53 y MDM2 en LPB y CE.

15. DISCUSIÓN:

El carcinoma epidermoide es la neoplasia maligna con mayor prevalencia dentro de la población mundial con una etiología de carácter multifactorial. Se han asociado tanto factores internos como factores externos. Entre los factores externos se encuentra la infección por el Virus del Papiloma Humano, especialmente los subtipos de alto riesgo (subtipo 16 y 16).

Yuhree y col. en el 2020 publicaron un estudio donde recopilaron las bases de datos para mostrar la predilección de los carcinomas epidermoides con base en el sexo. En este estudio comentaron que los CE tienen una mayor predilección por el sexo masculino en comparación con el sexo femenino. En nuestro tanto las lesiones papilares (52% de la totalidad de los casos con diagnóstico de LPB) como los carcinomas epidermoides (66% de la totalidad de casos de casos de CE) tuvieron una mayor aparición dentro del sexo masculino, por lo cual podemos confirmar lo anterior. ⁽²²⁾

En el 2013 Woo y col. describieron diversos casos con lesiones papilares a los que se les realizó pruebas de hibridación in situ para los subtipos de VPH de alto riesgo. Todos los casos en análisis en el morfológico presentaron displasia epitelial moderada convencional, con una media de edad de 59 años. Dos de estados pacientes fueron diagnosticados posteriormente con Carcinoma Epidermoide y uno más desarrolló la enfermedad meses después. Reportaron que estas lesiones papilares positivas para VPH-16 en su mayoría se encontraban en el vientre y bordes laterales de la lengua. ⁽¹⁷⁾

En nuestro estudio encontramos que la presentación tanto de lesiones papilares como de carcinoma epidermoide se presentaban dentro de la 4a y 6a década de la vida y que el 15% (n=2) del total de las lesiones papilares presentaba displasia leve. Asimismo, el sitio de predilección para la aparición de las lesiones papilares y carcinomas epidermoides fueron los bordes laterales de la lengua. Un número considerable de CE y LP presentaron un patrón de crecimiento exófitico papilar y coilocitosis en el análisis morfológico.

El presente estudio tuvo como objeto de observación las lesiones papilares y carcinomas epidermoides de la clínica de patología bucal DEPeI UNAM y del centro de diagnóstico de patología bucal y maxilofacial. El tamaño de la muestra que se obtuvo fue de 30 casos, de los cuales 9 fueron de Carcinomas Epidermoides y 21 de lesiones papilares.

En el 2005 Doobar y col. publicaron un estudio en el que describieron el papel de la infección de los subtipos de alto riesgo en el desarrollo de CE de la cavidad oral. Básicamente describieron que la afectación del gen CDKN2A comúnmente solo se ve reflejada en la pérdida de la función de la proteína de p16 que a su vez por hiperfosforilación crearía una inactivación de Rb causando una disregulación del ciclo celular, pero que en algunas ocasiones esta afectación no solo podría verse reflejada en p16 si no también en p14ARF, la cual forma complejos con la proteína MDM2 para la regulación de p53 (quien a su vez regula el ciclo celular), sugiriendo que en las ocasiones en las que CDKN2A afecte a ambas proteínas conlleve a una mitosis descontrolada del epitelio escamoso. ⁽²³⁾

En otro estudio realizado por Girod y col. en 1995, publicaron su experiencia sobre la correlación de las mutaciones p53 y MDM2 con el grado de displasia en lesiones papilares, desórdenes potencialmente malignos y carcinoma epidermoides. Encontraron que el aumento en el número de biopsias positivas para p53 y MDM2 se correlacionó con la pérdida de diferenciación de las células epiteliales observadas en las lesiones. También describieron que en las últimas etapas de la enfermedad (carcinomas poco diferenciados y con metástasis) aumentaba el número de biopsias positivas para MDM2 y p53. ⁽²⁴⁾

Uno de los objetivos del estudio fue analizar la correlación en la expresión de p16, p53 y MDM2 en lesiones papilares asociadas al VPH. El 38% de los casos con diagnóstico de LPB dio positividad a la inmunoreacción de p16 (lo cual era esperado encontrar en algunas de las biopsias), el 19% dio positividad a la inmunoreacción de p53 de forma anormal (estratos menores a la membrana basal) y el 9% para MDM2, lo cual fue relevante debido a que fueron biopsias diagnosticadas como lesiones papilares. Con lo anterior se podría sugerir que estas lesiones se encontraban en el comienzo de las mutaciones que comenzarían a afectar el ciclo de mitosis celular normal.

Creemos que debido a nuestro criterio de inclusión para los carcinomas epidermoides el cual fue de que deberían de presentar un patrón de crecimiento papilar fue que la inmunoreacción para p16 fue muy alta, con un 88% (n=8). Podríamos proponer una correlación con la positividad a p16 y la infección con VPH pueda modificar el patrón de crecimiento en el desarrollo de CE si es que este se presenta.

Por otra parte, Rautava y Syrjänen en el 2012 publicaron un estudio donde propusieron que la infección por los subtipos de VPH de alto riesgo no solamente afectaba directamente a p16 que posteriormente afectaría a Rb, si no que posiblemente también afectaba a p53, debido que p53 es un gen de susceptibilidad a mutaciones, por lo cual, se podía ver una positividad en estudios de inmunohistoquímica. En nuestro estudio pudimos confirmar lo anterior debido a que de forma simultánea un gran parte de nuestros casos seleccionados para CE tuvo positividad de la misma manera a p53 con un porcentaje del 77% (n=7) y a p16. Este mismo estudio de Rautava y Syrjänen comentan que los CE positivos para p16 presentan características morfológicas diferentes; en nuestro estudio el único caso en el que fue negativo la inmunoreacción para p16 presentó ausencia en coilocitosis, permeación vascular y desmoplasia. ⁽²⁵⁾

16. CONCLUSIONES:

- Los carcinomas epidermoides de la cavidad oral son neoplasias malignas de una etología multifactorial entre las que se encuentra la infección por VPH, específicamente los subtipos de alto riesgo. Estas neoplasias presentan características morfológicas muy variadas y grados de diferenciación totalmente diferentes.
- Epidemiológicamente el género masculino tiene una probabilidad más alta de presentar lesiones papilares, así como carcinomas epidermoides de la cavidad oral. De la misma manera la susceptibilidad a presentar este tipo de lesiones aumenta entre la cuarta y la sexta década de vida, aunque pueden presentarse desde la segunda década de la vida hasta la novena.
- La localización anatómica en donde con mayor frecuencia se presentan las lesiones papilares, así como los carcinomas epidermoides asociados o no a la infección por VPH es en el borde lateral de la lengua.
- Los resultados de este estudio nos orientan a apoyar la teoría de que la infección por los subtipos de alto riesgo de VPH no solo crea mutaciones en p16, sino también al afectar al gen codificante CDKN2A este mismo pueda afectar a MDM2 y por consecuente a p53 debido a su susceptibilidad a mutaciones genéticas.
- Las afectaciones a los genes mencionados anteriormente pueden presentarse en lesiones papilares de carácter benigno, aunque sea en un porcentaje bajo; sería importante que se siguiera una línea de investigación más amplia con el fin de analizar la tasa de incidencia de expresión con un porcentaje más concreto y criterios de inclusión más específicos.

17. REFERENCIAS:

- 1) Inchingolo F, Santacroce L, Ballini A, Topi S, Dipalma G, Haxhirexha K, Bottalico L, Charitos IA. Oral Cancer: A Historical Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 May 2;17(9):3168. doi: 10.3390/ijerph17093168.
- 2) Brad Neville, Douglas D. Damm, Carl Allen, Angela Chi. *Oral and Maxillofacial Pathology*. London, Reino Unido. Editorial Elsevier Health Sciences. Mayo 2015
- 3) Pires FR, Ramos AB, Oliveira JB, Tavares AS, Luz PS, Santos TC. Oral squamous cell carcinoma: clinicopathological features from 346 cases from a single oral pathology service during an 8-year period. *J Appl Oral Sci*. 2013 Sep-Oct;21(5):460-7. doi: 10.1590/1679-775720130317.
- 4) Johnson DE, Burtneess B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2020 Nov 26;6(1):92. doi: 10.1038/s41572-020-00224-3. PMID: 33243986
- 5) Angela Chi, Terry Day, Brad Neville. Oral Cavity and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma-An Update. *A Cancer Journal for Clinicians*. Septiembre-Octubre 2015. doi: 10.3322/caac.21293.
- 6) Denaro N, Lo Nigro C, Natoli G, Russi EG, Adamo V, Merlano MC. The Role of p53 and MDM2 in Head and Neck Cancer. *ISRN Otolaryngol*. 2011 Dec 7;2011:931813. doi: 10.5402/2011/931813. PMID: 23724261; PMCID: PMC3658475.
- 7) Coelho BA, Peterle GT, Santos M, Agostini LP, Maia LL, Stur E, Silva CV, Mendes SO, Almança CC, Freitas FV, Borçoi AR, Archanjo AB, Mercante AM, Nunes FD, Carvalho MB, Tajara EH, Louro ID, Silva-Conforti AM. Keratins 17 and 19 expression as prognostic markers in oral squamous cell carcinoma. *Genet Mol Res*. 2015 Nov 25;14(4):15123-32. doi: 10.4238/2015.November.24.21.
- 8) Paver EC, Currie AM, Gupta R, Dahlstrom JE. Human papilloma virus related squamous cell carcinomas of the head and neck: diagnosis, clinical implications and

detection of HPV. *Pathology*. 2020 Feb;52(2):179-191. doi: 10.1016/j.pathol.2019.10.008. Epub 2019 Dec 27. PMID: 31889547.

- 9) Gobierno de Salud del Estado de México. Virus del Papiloma Humano (VPH). Secretaria de Salud. 2018. URL: <https://salud.edomex.gob.mx/isem/vph>.
- 10) Orrù G, Mameli A, Demontis C, Rossi P, Ratto D, Occhinegro A, Piras V, Kuqi L, Berretta M, Taibi R, Scano A, Coni P. Oral human papilloma virus infection: an overview of clinical-laboratory diagnosis and treatment. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019 Sep;23(18):8148-8157. doi: 10.26355/eurrev_201909_19035. PMID: 31599444.
- 11) Dos Reis HL, Rabelo PC, de Santana MR, Ferreira DC, Filho AC. Oral squamous papilloma and condyloma acuminatum as manifestations of buccal-genital infection by human papillomavirus. *Indian J Sex Transm Dis AIDS*. 2009 Jan;30(1):40-2. doi: 10.4103/0253-7184.55484. PMID: 21938114
- 12) Jayasooriya PR, Abeyratne S, Ranasinghe AW, Tilakaratne WM. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease): report of two cases with PCR detection of human papillomavirus DNA. *Oral Dis*. 2004 Jul;10(4):240-3. doi: 10.1111/j.1601-0825.2004.01012.x. PMID: 15196147.
- 13) Elgart K, Faden DL. Sinonasal Squamous Cell Carcinoma: Etiology, Pathogenesis, and the Role of Human Papillomavirus. *Curr Otorhinolaryngol Rep*. 2020 Jun;8(2):111-119.
- 14) Sathish N, Wang X, Yuan Y. Human Papillomavirus (HPV)-Associated Oral Cancers and Treatment Strategies. *J Dent Res*. Julio 2004; 93(7):29S-36S. doi: 10.1177/0022034514527969. Epub 2014 Mar 24. PMID: 24663683.
- 15) Rowley H, Sherrington P, Helliwell TR, Kinsella A, Jones AS. p53 expression and p53 gene mutation in oral cancer and dysplasia. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998 Jan;118(1):115-23. doi: 10.1016/S0194-5998(98)70387-0. PMID: 9450841.

- 16) R. Corbalán-Vélez, I. Oviedo-Ramírez, J.A. Ruiz-Maciá, P. Conesa-Zamora, M. Sánchez-Hernández, E. Martínez-Barba, C. Brufau-Redondo, J.M. López-Lozano, Tinción inmunohistoquímica p16 en carcinomas epidermoides del área genital y extragenital, *Actas Dermo-Sifiliográficas*, Volume 102, Issue 6, 2011. doi: 10.1016/j.ad.2011.02.008.
- 17) Woo SB, Cashman EC, Lerman MA. Human papillomavirus-associated oral intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol*. 2013 Oct;26(10):1288-97. doi: 10.1038/modpathol.2013.70. Epub 2013 Apr 19. PMID: 23599160.
- 18) Heath S, Willis V, Allan K, Purdie K, Harwood C, Shields P, Simcock R, Williams T, Gilbert DC. Clinically significant human papilloma virus in squamous cell carcinoma of the head and neck in UK practice. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2012 Feb;24(1):e18-23. doi: 10.1016/j.clon.2011.05.007.
- 19) Dissanayake U. Malignancy grading of invasive fronts of oral squamous cell carcinomas: Correlation with overall survival. *Translational Research in Oral Oncology*. 2017;2. doi:10.1177/2057178X17708874
- 20) Bratu M, Salcianu I, Cristian D. CT characters versus morphopathological characters in pharyngeal squamous cell carcinoma. *Romain Journal of morphology and embryology*. 2015, 56(1):197-205.
- 21) College of American Pathologists. Protocol for the Examination of specimens from Patients with Cancers of the Oral Cavity. November 2021. 4(1).
- 22) Kim Y, Feng J, Su KA, Asgari MM. Sex-based differences in the anatomic distribution of cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Womens Dermatol*. 2020 May 27;6(4):286-289. doi: 10.1016/j.ijwd.2020.05.008.
- 23) Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*. 2005 Mar;32 Suppl 1:S7-15. doi: 10.1016/j.jcv.2004.12.006.

- 24) Girod SC, Cesarz D, Fischer U, Krueger GR. Detection of p53 and MDM2 protein expression in head and neck carcinogenesis. *Anticancer Res.* 1995 Jul-Aug;15(4):1453-7. PMID: 7654034.
- 25) Rautava J, Kuuskoski J, Syrjänen K, Grenman R, Syrjänen S. HPV genotypes and their prognostic significance in head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Virol.* 2012 Feb;53(2):116-20. doi: 10.1016/j.jcv.2011.11.005.

