



Prevalencia del carcinoma escamoso de orofaringe y su relación con los genotipos del VPH

Juárez-Nieto OJ¹, Gutiérrez-González J²

Resumen

ANTECEDENTES: el cáncer epidermoide de cabeza y cuello representa una causa significativa de morbilidad en todo el mundo; los subsitios anatómicos más comunes de este tipo de carcinoma suelen ser la laringe, la cavidad oral y la orofaringe. En los últimos años se ha evidenciado decremento relacionado con factores de riesgo tradicionales: alcohol y tabaco, e incremento en la incidencia relacionada con la presencia del virus del papiloma humano (VPH), lo que repercute en la forma biológica y clínica y en las estrategias de tratamiento y de prevención.

OBJETIVO: determinar la prevalencia de cáncer escamoso orofaríngeo en asociación con genotipos de VPH-AR (virus del papiloma humano de alto riesgo), especialmente el genotipo 16.

MATERIAL Y MÉTODO: estudio ambispectivo, observacional, transversal y descriptivo, con duración de cinco años (2011-2015), realizado en pacientes del Hospital Juárez de México, en los que se realizó determinación de ADN y microarreglos para la detección del VPH a partir de biopsias de tejido fresco en pacientes con lesiones clínicas sospechosas y biopsias embebidas en parafina en pacientes con diagnóstico de carcinoma escamoso de orofaringe.

RESULTADOS: se encontraron 10 hombres y 5 mujeres; la edad varió de 44 a 78 años; la distribución de las lesiones fue en 87% en la amígdala y 13% en la base de la lengua. El porcentaje de casos en los que se detectó ADN VPH16 fue de 13.3%.

CONCLUSIONES: la incidencia de virus del papiloma humano y de carcinoma escamoso de orofaringe es baja en nuestra población.

PALABRAS CLAVE: orofaringe, carcinoma escamoso, virus del papiloma humano.

An Orl Mex 2017 October;62(4):228-234.

Prevalence of squamous cell carcinoma in oropharynx and its relationship with HPV genotypes.

Juárez-Nieto OJ¹, Gutiérrez-González J²

Abstract

BACKGROUND: Head and neck epidermoid cancer represents a significant cause of worldwide morbidity, the most common ana-

¹ Médico adscrito.

² Médico residente de cuarto año. Servicio de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello, Hospital Juárez de México, Ciudad de México.

Recibido: 13 de noviembre 2017

Aceptado: 28 de noviembre 2017

Correspondencia

Dra. Jessica Gutiérrez González
drajess0501@gmail.com

Este artículo debe citarse como

Juárez-Nieto OJ, Gutiérrez-González J. Prevalencia del carcinoma escamoso de orofaringe y su relación con los genotipos del VPH. An Orl Mex. 2017 oct;62(4):228-234.



tomical subsites for this type of carcinoma are the larynx, oral cavity and oropharynx. In recent years there has been a decrease related to traditional risk factors: alcohol and tobacco, and an increase in the incidence related to the presence of HPV (human papilloma virus), causing an impact on the biological and clinical form, and on the management and prevention strategies.

OBJETIVE: To determine the prevalence in patients with diagnosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma in association with genotypes of HR-HPV (high risk human papilloma virus), especially genotype 16.

MATERIAL AND METHOD: An ambispective, observational, transverse and descriptive study of 5 years (2011-2015), carried out in patients from the Hospital Juárez de México, in which we performed determination of DNA and microarrays for detection of HPV, from fresh tissue biopsies of patients with suspicious clinical lesions and paraffin-embedded tissue in patients diagnosed with oropharyngeal squamous cell carcinoma.

RESULTS: There were 10 men and 5 women; the range age varied from 44 to 78 years, the distribution of lesions was 87% in tonsils and 13% in the base of tongue. The percentage of cases in which HPV16 DNA was detected was 13.3%.

CONCLUSIONS: The incidence of human papilloma virus and squamous cell carcinoma in oropharynx is low in our population.

KEYWORDS: oropharynx; neoplasms, squamous cell; human papilloma virus

¹ Médico adscrito.

² Médico residente de cuarto año. Servicio de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello, Hospital Juárez de México, Ciudad de México.

Correspondence

Dra. Jessica Gutiérrez González
drajess0501@gmail.com

ANTECEDENTES

El cáncer epidermoide de cabeza y cuello representa una causa significativa de morbilidad en todo el mundo, causa 16.6 y 3.4% de las muertes por cáncer en Europa y Estados Unidos, respectivamente. Los subsitios anatómicos más comunes de este tipo de carcinoma suelen ser la laringe, la cavidad oral y la orofaringe.¹ En México, en 2002 la incidencia de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello fue de 5%, de los que 1% correspondió a la orofaringe.² La edad de aparición es entre 55 y 65 años con incidencia incrementada en 11.1 por cada 100,000 hombres (10.0-12.1 con IC95%) y en 3.9 por cada 100,000 mujeres (3.3-4.6 con IC95%).^{3,4} En la actualidad es más frecuente encontrar casos de aparición entre la

cuarta y quinta décadas de la vida. El carcinoma escamoso de amígdalas es el tipo más común de cáncer orofaríngeo, representa 15 y 20% de los carcinomas orofaríngeos en países como Suecia, Finlandia y Estados Unidos, en los que se ha evidenciado decremento relacionado con factores de riesgo, como alcohol y tabaco, a diferencia del aumento en la incidencia de cáncer escamoso de orofaringe relacionado con el VPH, cuya prevalencia aumentó en 225% de 1988 a 2004.⁵ Nuevos estudios epidemiológicos, patológicos y moleculares sugieren una creciente de 45-70% de nuevos casos asociados con el factor VPH, lo que repercute considerablemente en la forma biológica y clínica y en las posibles estrategias de tratamiento y prevención. De los numerosos subtipos de VPH, los genotipos 16 y 18 se re-

lacionan con cáncer orofaríngeo escamoso de mucosas, con asociación para el primero de 90% con la aparición de esta enfermedad.^{6,7}

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio ambispectivo, observacional, transversal y descriptivo, con duración de cinco años (2011-2015), realizado en pacientes del servicio de Otorrinolaringología, en conjunto con la Unidad de Investigación del Hospital Juárez de México.

Se incluyeron pacientes de uno y otro sexo, con diagnóstico de cáncer epidermoide de orofaringe (tumor primario de amígdalas y base de la lengua), con antecedentes de factores de riesgo; reporte histopatológico y de inmunohistoquímica positivos a carcinoma epidermoide, independientemente del estadio clínico al momento del diagnóstico y si previamente recibieron tratamiento quirúrgico, quimio-radioterapia o ambos.

Para el estudio retrospectivo se realizaron cortes histológicos de 5 mm de espesor de tejido fijado en parafina provenientes de biopsias de orofaringe correspondientes a los casos de positividad, posteriormente se desparafinaron a través de un tratamiento con xilol/xilol-alcohol/alcoholes graduales para luego obtener el tejido pulverizado a través de un raspado con navaja del tejido desparafinado en la laminilla.

Para los nuevos casos detectados en los pacientes con factor de riesgo y lesión clínica evidente en la orofaringe se realizó la toma de biopsia de tejido fresco en consultorio, que fue depositada y transportada en un vial (RNA Lateral) para mantener la muestra en fresco y sometida a 4°C durante 24 horas, para después realizar la amplificación y determinación de ADN.

La extracción del ADN se realizó con el paquete CLART®HPV2, que detecta 35 genotipos del

VPH; los genotipos de alto riesgo que detecta son: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68B; de riesgo moderado (o probable alto riesgo): 26, 53, 73 y 82, y de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 70, 71, 72, 81, 83, 84, 85 y 89. Se realizan los microarreglos en caso de haber material genético positivo a VPH.

El análisis de los microarreglos se realizó de forma totalmente automatizada en un lector (SAICLART®), y el programa de procesamiento de microarreglos desarrollado por GENOMICA.

RESULTADOS

Se encontraron 20 casos de cáncer de orofaringe en pacientes del Hospital Juárez de México diagnosticados de 2011 a 2015, de los que se obtuvieron 15 biopsias para determinación del ADN; los 5 pacientes restantes no se incluyeron debido a que no contábamos con expediente completo o biopsia disponible para obtener la información requerida para este estudio. La información demográfica se muestra en el **Cuadro 1**. Se encontraron 10 hombres y 5 mujeres, la edad varió de 44 a 78 años, con media de 62 y 49 años, respectivamente.

La mayoría de los tumores se localizaron en la amígdala palatina (n = 13), como se muestra en el **Cuadro 2**, seguida de dos casos en la base de la lengua; los pacientes con cáncer en la base de la lengua fueron más jóvenes (edad promedio: 51 años) que los de amígdala.

Respecto a los factores de riesgo asociados (**Cuadro 1**), se encontró el consumo de tabaco en la mayoría de los pacientes (73.3%), con consumo promedio de 5 a 10 cigarrillos por día (33.3%), en un periodo de aproximadamente 10 años. El hábito y consumo de alcohol se encontró en 66.6%, de los que 40% lo consumía diario; ambos hábitos se encontraron usualmente en el género masculino.



Cuadro 1. Características sociodemográficas de los pacientes

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

Cuadro 2. Localización de lesiones en la orofaringe y su relación con positividad del virus del papiloma humano

Características tumorales	Total de pacientes, n = 15 (%)	VPH positivos, n = 2 (%)	VPH negativos, n = 13 (%)
Subsitio			
Amígdala palatina	13 (86.6)	2 (100)	11 (84.6)
Base de la lengua	2 (13.3)	0	2 (15.3)

Las muestras de los 15 pacientes con purificación del ADN y aplicación de microarreglo para VPH se obtuvieron de la forma siguiente: 10 muestras

a partir de cortes embebidos en parafina y 5 de tejido fresco y depositado en RNA later.

De los 13 casos de cáncer escamoso de orofaringe en amígdala, uno se reportó positivo para proteína p16 por inmunohistoquímica (mujer), pero negativo para microarreglo, por lo que no pudo determinarse el genotipo de VPH, y otro fue positivo para VPH, por microarreglo con positividad para genotipo 16 (hombre); los 11 casos restantes, junto con los de la base de la lengua, al realizar la aplicación de mi-

croarreglo, resultaron negativos. El porcentaje de cáncer de orofaringe en el que se detectó ADN VPH 16 fue de 13.3% (**Cuadro 1**). De los pacientes mencionados, en el primer caso la paciente negó todo tipo de antecedente de consumo de tabaco, alcohol o práctica orosexual; en el otro paciente no fue posible recolectar la información respecto a antecedentes de práctica orosexual debido a que éstos no estaban reportados en el expediente.

DISCUSIÓN

Se ha sugerido que el aumento del carcinoma epidermoide orofaríngeo VPH-positivo depende del cambio en los comportamientos sexuales: inicio temprano de vida sexual, el número de compañeros orales o vaginales, así como el aumento en el número de parejas sexuales. Recientemente se demostró una fuerte asociación estadísticamente significativa entre las prácticas orosexuales con el cáncer orofaríngeo de células escamosas positivas a VPH 16.^{3,8} Numerosos estudios han demostrado que el pronóstico de los pacientes con carcinoma escamoso de orofaringe VPH-positivo es mucho mejor que el VPH-negativo, independientemente del estadio clínico y TNM, porque tras el tratamiento, se observa supervivencia a cinco años de 70-80% en el primero contra 25-40% en el segundo; lo que demuestra una característica biológica y clínica asociada con la transcripción activa del virus.^{6,7} En términos genéticos, este tipo de carcinoma es menos complejo que el no causado por VPH. En un número importante de casos las lesiones generadas por VPH pueden remitir espontáneamente, aunque en algunos casos pueden progresar hacia lesión intraepitelial escamosa de alto grado.^{9,10}

Existe asociación alta entre la aparición de cáncer de orofaringe en relación con la actividad transcripcional del VPH16 de las células tumorales. Los métodos de detección se basan en el

diagnóstico morfológico al observar alteraciones citopáticas producidas por el VPH (coilocitosis) en las células escamosas; inmunohistoquímica con detección de proteínas del VPH, en específico proteína p16, sensible para evidenciar la tasa transcripcional activa del oncogén E7 del VPH, y métodos de biología molecular para la detección de este virus, este último es el patrón de referencia.^{7,10-12}

Este estudio epidemiológico muestra que los pacientes evaluados estaban en los límites de edad señalados en estudios como el de Näsman y Hammarstedt,^{13,14} mismos que establecen una edad de aparición entre la quinta y sexta décadas de la vida; además, se encontró que el mayor número de pacientes diagnosticados con cáncer de orofaringe fueron de género masculino.

De los casos evaluados, dos fueron positivos para la existencia de VPH, uno se determinó positivo para VPH genotipo 16; en este paciente la cantidad de consumo de alcohol y tabaco fue poco relevante, por lo que no se encontró evidencia de sinergización entre ellos. En contraste, los pacientes con cáncer escamoso de orofaringe y determinación negativa a VPH resultaron ser grandes consumidores en cantidad y frecuencia de alcohol y tabaco; lo que corrobora la bibliografía respecto a que el consumo elevado de alguno de ambos se vuelve un factor de riesgo importante.

En cuanto a los factores de riesgo como tabaco y alcohol en asociación con la aparición de cáncer de orofaringe, el consumo de ambos incrementa de manera significativa la posibilidad de padecerlo; sin embargo, su consumo y la frecuencia no predisponen a tener infección por VPH. En múltiples estudios se ha encontrado que los factores consumo de tabaco y alcohol han ido en decremento y que uno de los factores significativamente asociados y determinantes del crecimiento exponencial es la infección por el



virus del papiloma humano de alto riesgo para la aparición del cáncer. Por tanto, el tabaco y alcohol representan factores de riesgo importantes para la aparición de cáncer de orofaringe, mas no actúan como cofactores en el cáncer mediado por infección por el VPH.

Durante el desarrollo del estudio llamó la atención la sobreexpresión de la proteína p16 según inmunohistoquímica de uno de los casos, sin antecedentes de factores de riesgo, como tabaco, alcohol y prácticas orosexuales; sin embargo, al realizar la prueba de microarreglo ésta resultó negativa. Según múltiples estudios, las maneras de diagnóstico son principalmente con la identificación de proteínas E6 y E7 por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otra alternativa es por medio de inmunohistoquímica, por lo que en nuestro caso no hubo forma de corroborar la asociación entre el cáncer escamoso de orofaringe determinado por inmunohistoquímica y la infección por VPH y su genotipo correspondiente.

Los estudios realizados por D'Souza y su grupo¹⁵ refieren que existen dos mecanismos en la aparición del cáncer de orofaringe, el primero está dado por los efectos carcinógenos del tabaco, alcohol o ambos y el segundo por la inestabilidad genómica indicada por la infección por el VPH. Además, ser positivos para VPH confiere mejor pronóstico porque la morfología histopatológica se conoce como no queratinizante, pero con mejor diferenciación, a comparación de la originada por otros factores de riesgo en los que la morfología es menos diferenciada, lo que confiere peor pronóstico.

Las limitaciones de este estudio incluyen un número limitado de muestras debido a que no se encontraron los cortes de biopsia embebida en parafina, así como ausencia de datos reportados en los expedientes, como el número de parejas sexuales y el tipo de prácticas sexuales.

CONCLUSIÓN

A pesar de que la relación causa-efecto no puede inferirse a partir de un solo estudio, nuestros hallazgos complementan la bibliografía conocida respecto a la aparición de cáncer escamoso de orofaringe. En nuestro medio la práctica del consumo de tabaco y alcohol aún sigue siendo elevada y, por tanto, estos factores se consideran de gran importancia; respecto de la relación de esta enfermedad con la infección de VPH, pese a que se haya encontrado sólo en dos casos, no podemos descartar por completo su participación, por lo que consideramos que este trabajo debe continuar desarrollándose a largo plazo a fin de obtener una muestra más representativa; así como hacer un estudio comparativo con los casos de otros sitios de manifestación, como la laringe y la cavidad oral, porque son los subsitios más comunes de cabeza y cuello de aparición de cáncer escamoso y, de esa manera, poder conocer la prevalencia del virus del papiloma humano en pacientes con cáncer de orofaringe en nuestro medio.

REFERENCIAS

1. GLOBOCAN 2012.
2. Dirección General de Epidemiología. Registro histopatológico de cáncer. México: Secretaría de Salud; 2002.
3. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2009 May 1;199(9):1263-1269.
4. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2016*. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2016.
5. Ramqvist T, Dalianis T. An epidemic of oropharyngeal squamous cell carcinoma due to human papillomavirus infection and aspects of treatment and prevention. *Anticancer Res* 2011 May;31(5):1515-1520.
6. Azúa-Romero J. El papel modulador de p16ink4a en la infección por el virus del papiloma humano. *Rev Clin Esp* 2005;205(5):250-1.
7. Lewis JS Jr, Ukpo OC, Ma XJ, Flanagan J, et al. Transcriptionally-active high-risk human papillomavirus is rare in oral cavity and laryngeal/hypopharyngeal squamous cell carcinomas a tissue microarray study utilizing E6/E7 mRNA in situ hybridization. *Histopathology* 2012 May;60(6):982-991.

8. Auluck A, Hislop G, Bajdik C, Poh C, et al. Trends in oropharyngeal and oral cavity cancer incidence of human papillomavirus related and HPV-unrelated sites in a multi-cultural population. *Cancer* 2010 Jun 1;116(11):2635-2644.
9. Tsai TC, Chen SL. The biochemical and biological functions of human papillomavirus type 16 E5 protein. *Arch Virol* 2003 Aug;148(8):1445-53.
10. De Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology* 2013;445(1-2):2-10.
11. McIntosh PB, Martin SR, Jackson DJ, Khan J, et al. Structural analysis reveals an amyloid form of the human papillomavirus type 16 E1--E4 protein and provides a molecular basis for its accumulation. *J Virol* 2008;82(16):8196-8203.
12. Torrente MC, Rodrigo JP, Haigentz M Jr, Dikkers FG, et al. Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck* 2011 Apr;33(4):581-6.
13. Näsman A, Attner P, Hammarstedt L, Du J, et al. Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int J Cancer* 2009 Jul 15;125(2):362-366.
14. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, et al. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Cancer* 2006 Dec 1;119(11):2620-3.
15. D'Souza G, Kreimer RA, Viscidi R, Pawlita M, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007 May;356(19):1994-56.