



VIRUS PAPILOMA HUMANO EN EL CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO

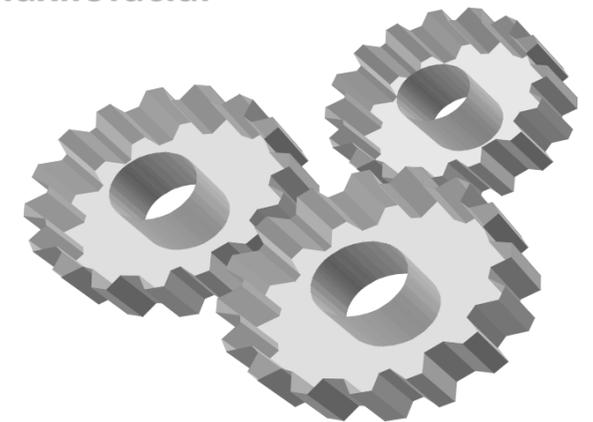
AUTORA: Dra. Adaia Valls

DIRECTORES: Dr. Guillermo Raspall, Dra. Coro Bescós

**COLABORADORES: Dra. Montserrat Munill, Dra.
Margarita Alberola, Dra. Magda Campins**

Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial

5-9-2010



	Página
INTRODUCCIÓN	- 1 -
CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO	
✓ Descripción	- 2 -
✓ Epidemiología	- 2 -
✓ Factores de riesgo	- 4 -
✓ Histopatología	- 7 -
✓ Clasificación	- 9 -
✓ Diagnóstico	- 10 -
✓ Estadiaje	- 11 -
✓ Tratamiento	- 14 -
VIRUS PAPILOMA HUMANO	
✓ Biología del VPH	- 15 -
✓ Infectología	- 16 -
✓ Mecanismos oncogénicos de la infección por VPH	- 17 -
✓ Factores de riesgo de transmisión	- 20 -
✓ Otros factores de riesgo	- 21 -
✓ Técnicas diagnósticas	- 22 -
✓ Prevención y vacunación	- 23 -
REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN BIBLIOGRÁFICA	
✓ Antecedentes	- 24 -
✓ Carcinoma escamoso de cabeza y cuello VPH+	- 24 -
▪ Datos epidemiológicos	- 24 -
▪ Tratamiento y pronóstico	- 25 -
▪ Monitorización de la infección por VPH	- 26 -

	Página
HIPÓTESIS	- 28 -
OBJETIVOS	- 29 -
MATERIAL Y MÉTODOS	- 30 -
RESULTADOS	- 33 -
DISCUSIÓN	- 37 -
CONCLUSIONES	- 42 -
BIBLIOGRAFÍA	- 43 -

INTRODUCCIÓN

La oncología de cabeza y cuello es la patología que representa mayor implicación en nuestro Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Vall d'Hebron de Barcelona.

Su pronóstico depende del estadiaje de la enfermedad tumoral y del estado general inicial del paciente, pero en la mayoría de los casos se trata de pacientes que requieren grandes resecciones y mayores reconstrucciones.

Además, en general presentan múltiples complicaciones secundarias al tratamiento, ya sea quirúrgico, radioterapéutico o quimioterapéutico.

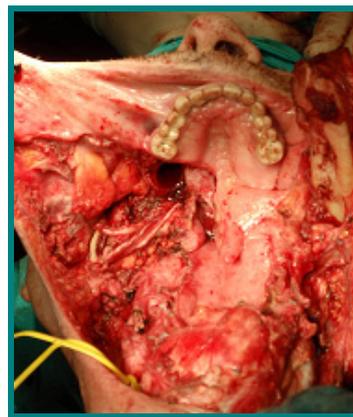


Imagen 1: resección de un carcinoma de mandíbula con invasión a tejidos blandos

La mayoría de estos pacientes son fumadores y/o bebedores, factores de riesgo que parece ser que empiezan a disminuir en los hombres y a aumentar en las mujeres de nuestra población.

Desde hace unos años nuestro centro cada vez recibe más pacientes oncológicos sin los típicos factores de riesgo (tabaco y alcohol) y más jóvenes que la norma habitual. Con lo que empezamos a sospechar de la existencia de otro factor implicado. La revisión de la literatura nos confirmó nuestra suposición. Afirmativamente, existía un factor cada vez más influyente en los carcinomas de cabeza y cuello: el Virus Papiloma Humano¹.

A raíz de esta observación, decidimos profundizar en el tema junto a algunos miembros del Comité de Oncología de Cabeza y Cuello y realizar un estudio en los pacientes de nuestro centro. De esta forma nació el estudio que hemos llevado a cabo y presentamos a continuación.

¹ Virus Papiloma Humano = VPH

DESCRIPCIÓN

Los tumores de cabeza y cuello son la quinta localización más común de enfermedad tumoral a nivel mundial [2].

En la región de cabeza y cuello, el Carcinoma de Células Escamosas² es el tipo de tumor maligno más frecuente. Se origina en el epitelio de revestimiento escamoso pluriestratificado de las líneas del trato aéreo-digestivo alto y es característica su etiopatogenia multifactorial.

Los pacientes afectados de Carcinoma de Cabeza y Cuello³ requieren una evaluación apurada y un abordaje por parte de un equipo multidisciplinar para determinar el tratamiento óptimo, formado por cirujanos, oncólogos, radioterapeutas, quimioterapeutas, radiólogos, anatomopatólogos, rehabilitadores, nutricionistas, logopedas,...

EPIDEMIOLOGÍA

El CCC es la quinta localización más frecuente de cáncer a nivel mundial y en Asia central representa la neoplasia más común. De hecho, se diagnostican aproximadamente medio millón de individuos anualmente a nivel mundial [2].

Los hombres están significativamente más afectados que las mujeres con un rango de 2:1 a 4:1, dependiendo del país. La incidencia en el sexo masculino excede de 20/100.000 en las regiones de Francia, Hong Kong, India, Este y Centro de Europa, España, Italia, Brasil y en la comunidad afro-americana de Estados Unidos [1].

Sin embargo, debemos destacar que en la India tienen la incidencia más elevada de tumores de cavidad oral y lengua y en Hong Kong de tumores nasofaríngeos [1].

² Carcinoma de Células Escamosas =CCE

³ Carcinoma de Cabeza y Cuello = CCC

En la siguiente tabla podemos observar la incidencia de carcinoma oral por cada 100.000 individuos, publicado por el National Institute of Dental and Craniofacial Research en marzo del 2010.

Race	Gender	All Ages	0 to 19	20 to 29	30 to 39	40 to 49	50 to 59	60 to 69	70 to 79	80+
All Races	All	10.5	0.2	0.8	2.4	8.7	21.7	33.9	40.2	40.0
	Male	15.5	0.2	0.8	2.8	12.7	33.8	51.9	58.9	59.4
	Female	6.1	0.2	0.9	1.9	4.7	10.2	17.9	26.0	29.4
White	All	10.6	0.2	0.8	2.1	8.5	21.8	34.7	41.7	41.2
	Male	15.7	0.2	0.7	2.5	12.5	33.8	52.7	60.7	62.0
	Female	6.1	0.2	0.8	1.7	4.4	10.1	18.4	27.0	30.0
Black	All	10.7	0.3	0.9	2.3	10.2	25.9	35.8	37.0	27.6
	Male	17.2	0.4	0.8	2.7	14.6	43.2	61.0	61.6	43.4
	Female	5.7	0.2	0.9	2.0	6.2	11.3	16.2	20.5	19.5
American Indian/ Alaska Native	All	7.4	0.1	0.5	2.1	6.6	17.5	28.9	22.6	16.6
	Male	9.7	0.0	0.3	3.1	8.8	24.7	39.5	29.0	15.2
	Female	5.3	0.1	0.6	1.0	4.6	10.9	19.7	17.4	18.5
Asian or Pacific Islander	All	7.9	0.2	1.3	3.7	8.1	15.0	23.4	25.1	31.2
	Male	10.9	0.2	1.2	4.2	11.5	21.8	34.4	36.0	35.6
	Female	5.5	0.2	1.3	3.2	5.1	9.1	14.2	17.2	28.2
Hispanic	All	6.1	0.2	0.5	1.3	4.4	11.4	20.1	25.4	27.8
	Male	9.2	0.2	0.5	1.5	6.1	17.3	32.9	38.7	39.7
	Female	3.6	0.2	0.6	1.0	2.7	5.9	9.2	15.6	20.9
White Hispanic	All	6.3	0.2	0.5	1.3	4.6	11.7	20.4	25.6	28.2
	Male	9.3	0.2	0.5	1.6	6.3	17.7	33.4	38.8	40.3
	Female	3.7	0.2	0.6	1.1	2.8	6.0	9.4	15.7	21.2
White Non-Hispanic	All	11.3	0.2	0.9	2.4	9.4	23.5	36.8	43.6	42.3
	Male	16.7	0.2	0.9	2.9	14.1	36.5	55.4	63.2	63.9
	Female	6.5	0.2	0.9	1.9	4.8	10.8	19.8	28.4	30.7

En Estados Unidos los CCC representan el 3'3% de todos los tumores malignos. Se estima que anualmente 48.010 americanos desarrollan CCC y que 11.260 mueren a causa de ello. La incidencia en hombres afro-americanos entre los años 1987-1991 fue aproximadamente un 50% mayor que en americanos blancos. Además, los hombres afro-americanos presentaban más probabilidad de debutar con metástasis a distancia y la enfermedad era de mayor mortalidad [3].

En estudios posteriores se ha visto que esta gran disparidad podría estar asociada a la mayor positividad a VPH en la población blanca estadounidense (34%) en comparación con la población afro-americana (4%). Pues si comparamos la población blanca y africana afectada de CCC no portadores de VPH, la supervivencia es la misma [5].

FACTORES DE RIESGO

Se estima que el tabaco y el alcohol son los principales factores de riesgo de CCC en el 80% de los casos [1]. Ambos tienen efectos de cancerización en el trato aéreo-digestivo superior produciendo alteraciones genéticas, como mutaciones en el supresor oncogénico p53.

Otros factores de riesgo son las infecciones virales, la exposición ocupacional, la radiación, los factores dietéticos,... y un factor muy importante que a veces obviamos: la propia susceptibilidad genética.

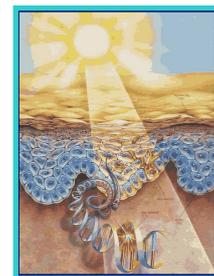
- Tabaco: los fumadores de cigarrillos y pipas tienen un riesgo de 5-25 veces mayor de padecer algún tipo de CCC. Parece haber una relación incremental con la dosis, la edad de inicio y el tiempo total de fumador. Además, los fumadores pasivos también presentan mayor riesgo de desarrollar CCC que los no expuestos al humo del tabaco [6, 7, 8, 9, 10].
- Alcohol: aunque a menudo es difícil separar los efectos del tabaco con los del alcohol, numerosos estudios han demostrado consistentemente que el consumo de alcohol incrementa, independientemente al consumo de tabaco, el riesgo de padecer CCC. Asimismo, el tabaco y el alcohol tienen efectos interactivos y multiplicativos [6, 9]. El efecto del alcohol es dosis dependiente [8]. También existe evidencia que la susceptibilidad genética juega un papel importante, en particular en los polimorfismos genéticos de la alcohol deshidrogenada (ADH) i la aldehído deshidrogenada (ALDH) [11].

- Mascar nuez de betel: es un hábito muy común en algunas regiones de Asia y es un factor de riesgo independiente para desarrollar CCECC⁴. Sus efectos son sinérgicos al del tabaco y el alcohol [18].



Imagen 2: nuez de betel

- Infecciones virales: las infecciones virales crónicas pueden asociarse a CCC, posiblemente interfiriendo con la función de los supresores tumorales. Los virus también pueden participar como cofactores facilitando la activación, la amplificación y la sobreexpresión de los oncogenes ya existentes en los tejidos neoplásicos [12, 13].
 - ☞ El Virus Epstein-Barr se ha asociado fuertemente con los tumores nasofaríngeos, sobretodo en el Sur de China. También es el agente etiológico primario de la leucoplasia oral vellosa.
 - ☞ El Virus Papiloma Humano como desarrollaremos más adelante, se relaciona con los tumores de oro-faringe.
 - ☞ La relación de los CCC con el Virus Herpes Simple es más discutida.
 - ☞ Los pacientes con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana presentan mayor prevalencia de CCC, como el linfoma no Hodgkin y algunos carcinomas de cavidad oral.
- Exposición ocupacional: se han nombrado algunos agentes de limpieza que contienen percloroetileno, el asbesto, algunos pesticidas,... entre muchos otros productos [14].
- Radiación: favorece la aparición de tumores malignos en glándulas salivares, carcinomas escamosos y sarcomas [15].
- Radiación actínica: importante en las lesiones malignas de piel y labio, sobretodo.



⁴ CCECC = Carcinoma de Células Escamosas de Cabeza y Cuello

- Déficit de hierro: el síndrome de Plummer-Vinson, un déficit de hierro crónico, se ha relacionado con el aumento de riesgo de CCE de base de lengua, oro-faringe y esófago.



Imagen 3: síndrome de Plummer-Vinson: lengua roja y a menudo asociado a queilitis angular

- Déficit de vitamina A: se cree que la vitamina A juega un papel protector en el desarrollo de enfermedades premalignas y malignas de cavidad oral.
- Dieta: varios estudios sugieren un aumento de CCC en altos consumidores de conservas que contienen nitritos, huevos y carne roja. En cambio, se sugieren algunos factores protectores como: leche, verduras, frutas, zinc y té verde.
- Factores genéticos: solamente una fracción de los pacientes expuestos al tabaco y al alcohol padecen CCC, lo que sugiere que la susceptibilidad genética juega un papel importante en la carcinogénesis. Varios estudios demuestran que:
 - ☞ Los familiares de pacientes con CCC tienen más probabilidad de desarrollar CCC [16].
 - ☞ Los pacientes con CCC tienen más probabilidad de desarrollar un segundo primario si alguno de sus familiares padece CCC o pulmonar [17].
 - ☞ Los pacientes portadores de enfermedades con alteraciones genéticas, como la anemia de Fanconi⁵, tienen más probabilidad de desarrollar un CCECC.
- Otros: escasa higiene oral, fumar marihuana, portadores de prótesis mal ajustadas,...

⁵ Anemia de Fanconi: enfermedad hereditaria que cursa con un descenso progresivo de las tres series celulares sanguíneas

HISTOPATOLOGÍA

El término cáncer incluye un conjunto de enfermedades en las cuales el organismo produce un exceso de células malignas con crecimiento y división descontrolados, con invasión del tejido circundante y en ocasiones originando metástasis a distancia.

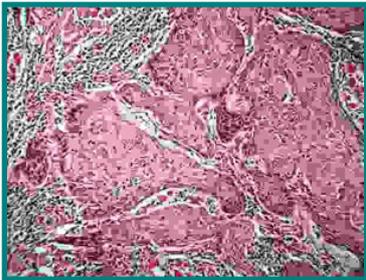


Imagen 4: histología CCECC

Cuando utilizamos el término carcinoma escamoso nos referimos a una neoplasia maligna que se origina en el epitelio escamoso pluriestratificado (epitelio que presenta la diferenciación de células escamosas)

Se diagnostica cuando las células malignas invaden y rompen la membrana basal.

Es característico observar:

- Desmosomas
- Queratina

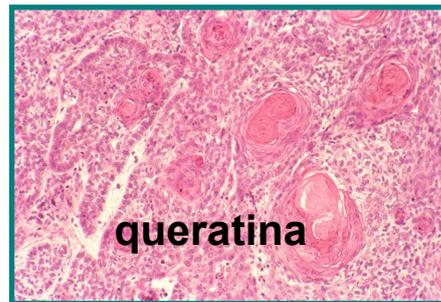


Imagen 5: presencia de queratina

Debemos destacar que existen una serie de cambios patológicos tipificados como lesiones premalignas:

- Leucoplasia: caracterizada por una hiperqueratosis y usualmente se asocia a una hiperplasia epitelial subyacente. En ausencia de cambios displásicos subyacentes, la probabilidad de malignizar es inferior al 5% [19].



Imagen 6: leucoplasia vientre lingual

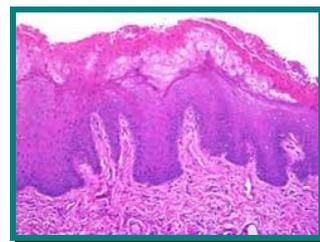


Imagen 7: histología leucoplasia

- **Eritroplasia:** caracterizada por manchas eritematosas superficiales adyacentes a mucosa sana. Normalmente se asocia a displasia epitelial subyacente con carcinoma in situ o tumor invasivo en al menos el 40% de los casos [19].



Imagen 8: eritroplasia paladar

- **Displasia:** histológicamente se caracteriza por la presencia de mitosis y núcleos prominentes. Cuando la lesión incluye todo el espesor mucoso hablamos de carcinoma in situ. La displasia progresa a cáncer invasivo en el 15-30% de los casos.

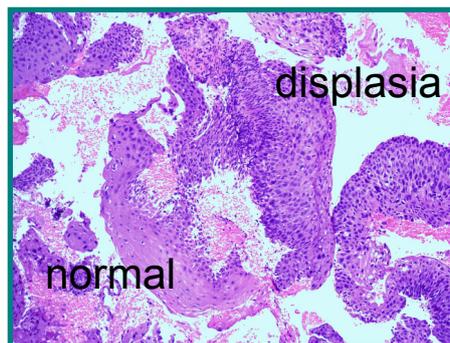


Imagen 9: comparación entre tejido normal y displásico

En la siguiente tabla recogemos el potencial de transformación maligna de las lesiones premalignas más relacionadas con el CCECC

Lesión	Potencial de transformación maligna
Leucoplasia verrugosa proliferativa	x x x x x x
Eritroplasia	x x x x x
Fibrosis oral submucosa	x x x x x
Eritroleucoplasia	x x x x
Leucoplasia granular	x x x x
Queratosis laríngea	x x x
Queilosis actínica	x x x
Leucoplasia gruesa plana	x x
Lengua roja del Síndrome de Plummer-Vinson	x x
Queratosis por tabaco sin humo	x
Liquen plano (formas erosivas)	x ?
Leucoplasia delgada plana	+/-

CLASIFICACIÓN

La afectación tumoral en la región de cabeza y cuello, excluyendo la piel, incluye 5 áreas básicas:

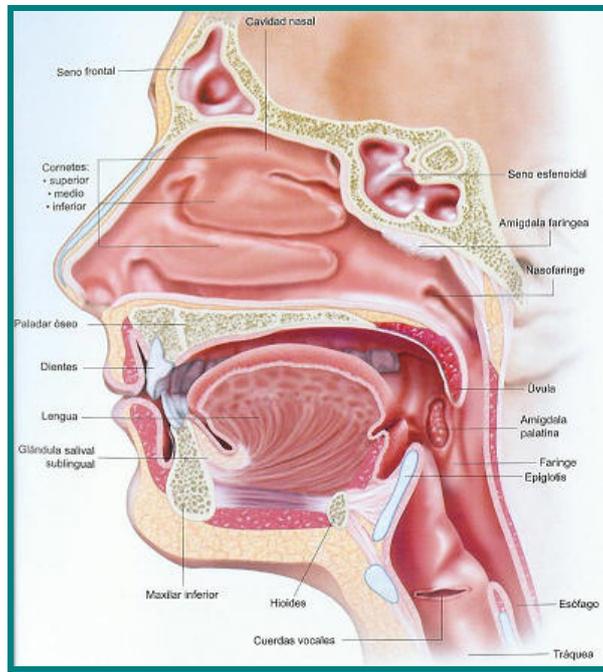


Imagen 10: regiones cabeza y cuello

- Cavity Oral: formada por labios, mucosa oral, lengua anterior, suelo de boca, paladar duro y encía.
- Faringe: está dividida en
 - ☞ Nasofaringe o cavum: yace detrás de la nariz y por encima del paladar blando.
 - ☞ Oro-faringe: incluye área amigdalal, base de lengua, paladar blando y pared faríngea posterior.
 - ☞ Hipofaringe: formada por senos piriformes, área postcricoidea, y paredes lateral, inferior y posterior de la faringe.
- Laringe: está dividida en 3 áreas
 - ☞ Supraglótica
 - ☞ Glótica
 - ☞ Subglótica
- Cavity nasal y senos paranasales: maxilares, etmoidales, esfenoidales y frontales.

- Glándulas salivares
 - ☞ Mayores: parótidas, submaxilares y sublinguales
 - ☞ Menores

DIAGNÓSTICO

Cada paciente debutará con una clínica distinta dependiendo de la localización y extensión del tumor. Así por ejemplo, los síntomas de presentación más habituales en tumoraciones de senos paranasales, son la epistaxis y la obstrucción nasal unilateral.

En cambio, los afectos de una tumoración nasofaríngea suelen debutar sobretodo con una masa cervical, además de otros síntomas como tinitus, pérdida de audición, dolor,...

Los pacientes con carcinoma oral suelen presentarse con una masa o úlcera oral, pérdida de dientes, sangrado, disfagia u odinofagia.



Imagen 11: CCE mucosa yugal

Estos pacientes requieren extensas anamnesis y exploración física con inspección y palpación. A veces la inspección debe ser indirecta mediante espejos o endoscopia.

Todas las sospechas diagnósticas serán confirmadas mediante:

- Estudio anatomopatológico para tipificar el tumor
 - ☞ Biopsia
 - ☞ PAAF⁶
- Estudio de imagen para el estadiaje de la enfermedad
 - ☞ Ortopantomografía, Rx convencional
 - ☞ RMN⁷

⁶ PAAF: Punción-Aspiración con Aguja Fina

⁷ RMN = Resonancia Magnética Nuclear

TC⁸

PET⁹

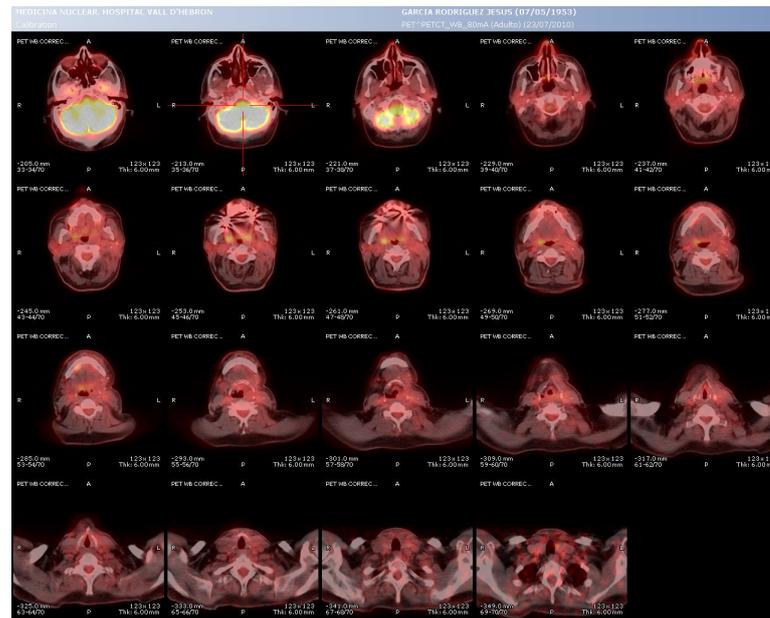


Imagen 12: PET de control en paciente con adenocarcinoma de parótida izquierda, al que se le realizó parotidectomía con linfadenectomía laterocervical y posteriormente QT y RT

ESTADIAJE

El estadiaje TNM propuesto por la UICC (Union Internationale Contre le Cancer) y la AJCC (American Joint Committee on Cancer) se basa en el diagnóstico de extensión de la enfermedad antes del tratamiento. También podemos estudiar la enfermedad con los resultados anatomopatológicos, con lo que obtenemos el estadiaje pTNM.

Se obtiene mediante la exploración física y las pruebas de imagen. Estudiaremos el tamaño de la lesión, la extensión a ganglios linfáticos cervicales y las metástasis a distancia.

⁸ TC = Tomografía Computerizada

⁹ PET: Tomografía por Emisión de Positrones

Tumor primario (T)

- Tx: no puede evaluarse el tumor primario
- T0: no hay prueba de tumor primario
- Tis: carcinoma in situ
- T1: tumor de ≤ 2 cm en diámetro mayor
- T2: tumor >2 cm pero ≤ 4 cm en diámetro mayor
- T3: Tumor >4 cm en dimensión mayor



Imagen 13: TC mostrando tumoración en maxilar superior izquierdo

- T4 (labio): tumor que invade a través del hueso cortical, nervio alveolar inferior, piso de la boca o piel facial.
- T4a: tumor que invade las estructuras adyacentes: hueso cortical, músculos profundos, seno maxilar o piel.
- T4b: tumor que invade espacio masticatorio, placas pterigoideas, base de cráneo o encierra la arteria carótida interna.

Ganglios linfáticos regionales (N)

- Nx: no se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales
- N0: no hay metástasis a ganglios linfáticos regionales
- N1: metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, de ≤ 3 cm de dimensión mayor
- N2: metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral >3 cm pero ≤ 6 cm de dimensión mayor; o en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales todos ≤ 6 cm de dimensión mayor; o en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales todos ≤ 6 cm
- N2a: metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral >3 cm pero ≤ 6 cm de dimensión mayor
- N2b: metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales todos ≤ 6 cm de dimensión mayor
- N2c: metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales todos ≤ 6 cm
- N3: metástasis en un ganglio linfático >6 cm de diámetro

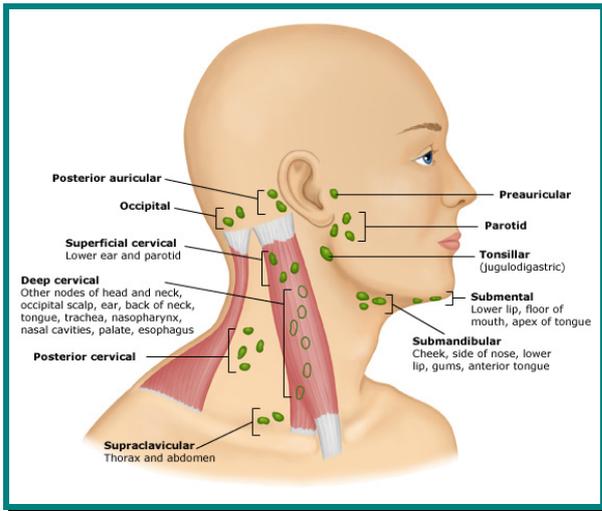


Imagen 14: grupos ganglionares cervicales



Imagen 15: Vaciamiento Ganglionar Cervical Supraomohioideo Izquierdo

Metástasis a distancia (M)

- Mx: no se pueden evaluar las metástasis a distancia
- M0: no hay metástasis a distancia
- M1: hay metástasis a distancia



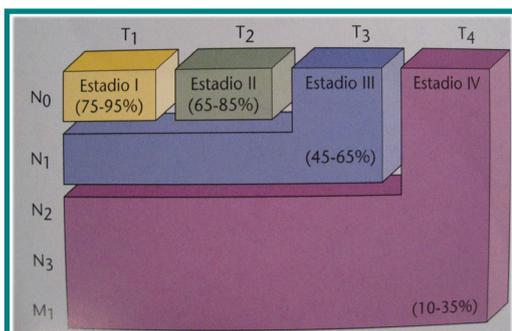
Imagen 16: recidiva traqueal, por traqueostomía



Imagen 17: letálide: metástasis cutánea

Estadaje TNM

A partir de las anteriores clasificaciones, obtenemos el estadaje TNM como muestran los siguientes esquemas.



- Estadio 0: TisN0M0
- Estadio I: T1N0M0
- Estadio II: T2N0M0
- Estadio III: T1-T2-T3 N1M0
- Estadio IVA: T1,T2,T3 N2M0
T4a -N0, N1, N2, M0
- IVB: Cualquier T, N3
T4b cualquier N
- IVC: Cualquier T, cualquier N, M1

TRATAMIENTO

La elección de la modalidad de tratamiento depende de la localización, el estadiaje y la resecabilidad del tumor. El tratamiento del CCC es extremadamente complejo, no solamente por la variabilidad regional, sino también por las limitaciones anatómicas y la importancia de mantener la funcionalidad de los órganos.

Debemos destacar que después de la terapia de estos tumores es igual de importante rehabilitar la capacidad del habla y la deglución para garantizar una aceptable calidad de vida para el paciente.

Para los CCECC el tratamiento con radioterapia y cirugía es la norma cuando la afectación es locoregional. Sin embargo, la quimioterapia suele asumir un rol en el tratamiento de pacientes con enfermedad locoregional avanzada, junto a la radioterapia y la cirugía.

Para facilitar la estrategia terapéutica de los pacientes afectados de CCC, es útil clasificar los CCECC en 3 grupos:

- Enfermedad de estadiaje precoz, sin afectación ganglionar: estadios I y II ⇒ generalmente son tratados con cirugía o radioterapia.
- Enfermedad avanzada loco-regionalmente, con afectación ganglionar: estadios III, IVa y IVb ⇒ deben abordarse con una terapia combinada de cirugía, radioterapia y quimioterapia, dependiendo de las características de la enfermedad.
- Enfermedad con metástasis a distancia: estadio IVc y enfermedad recurrente ⇒ en los casos de enfermedad intratable, puede aplicarse tratamiento paliativo con quimioterapia. Por otro lado, en los casos de recidiva, el tratamiento variará dependiendo de la terapia recibida anteriormente y de las características del tumor.

BIOLOGÍA DEL VPH

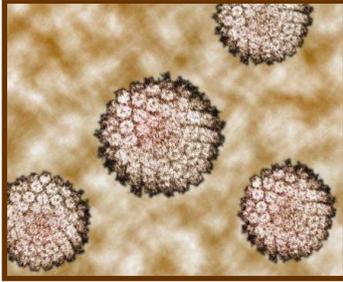


Imagen18: estructura VPH

El VPH es miembro de la familia *Papillomavirus*, unos pequeños virus extensamente distribuidos en los vertebrados. Junto a la familia *Polyomavirus* forman la especie *Papovaviridae*. Actualmente la infección por VPH encabeza las enfermedades de transmisión sexual en Estados Unidos.

El virión del VPH está formado por una doble cadena de ADN¹⁰ circular de aproximadamente 7'9 Kb, protegido por una pequeña cápsula. Esta protección, que consiste en dos proteínas estructurales, mide unos 55nm de diámetro.

El genoma del VPH comprende genes tempranos (E¹¹) y tardíos (L¹²) que codifican respectivamente proteínas tempranas (E1-E7) y tardías (L1-L2). Las tempranas, que se expresan al inicio de la infección, son proteínas no estructurales involucradas en la replicación y transcripción del genoma viral (E1-E5) y en la transformación tumoral de las células huésped (E6-E7). En cuanto a las tardías, L1 y L2, se activan en las fases finales del ciclo viral y son proteínas estructurales de la cápsula del virión [32].

¹⁰ ADN =Ácido DesoxirriboNucleico

¹¹ E= early

¹² L= late

INFECTOLOGÍA

El VPH es un virus epiteliotropo que en la mayoría de los casos produce una proliferación epitelial benigna. Sin embargo, algunos tipos virales pueden asociarse a una transformación epitelial maligna.

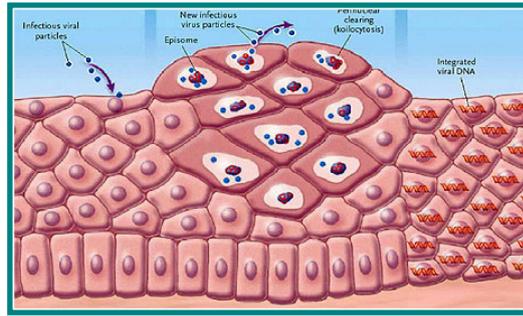


Imagen 19: proliferación celular producida por VPH

En el sexo femenino las infecciones por VPH representan más del 50% de tumores relacionados con infecciones. En cambio, en el sexo masculino apenas llega a representar el 5% [4,31].

Los genomas de varios tipos de VPH han sido aislados, secuenciados y comparados con los prototipos de referencia cantidad de veces y en distintos laboratorios a nivel mundial. Se ha hallado que cada tipo de VPH se presenta en forma de una “variante”, identificado por aproximadamente un 2% de diferencias de nucleótidos en la mayoría de los genes y en un 5% en las regiones menos conservadas. Casi 100 variantes de cada tipo de VPH han sido detectadas. Además, la población inmigrante contiene combinaciones de estas variantes, dependiendo de su respectivo origen étnico [58].

Actualmente más de 200 tipos de VPH son conocidos. La ausencia de genomas de VPH intermedios demuestra que todos los tipos de VPH ya existían cuando se originó la especie humana. Los estudios moleculares sugieren que las variantes del mismo tipo de VPH son biológicamente distintas y así pueden conferir diferente riesgo patogénico.

De acuerdo con su potencial oncogénico el VPH se puede clasificar como “de alto riesgo” y/o “de bajo riesgo” [33]. Ambos tipos de VPH pueden inducir el crecimiento celular anormal, pero solamente los de alto riesgo pueden conllevar malignidad, ya que únicamente la proteína E-7 codificada por los VPH de alto riesgo es capaz de inmortalizar las células epiteliales humanas [69, 70].

Los tipos de VPH de alto riesgo son los siguientes: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y 73 [34].



Imagen 20: lesión verrugosa producida por VPH de bajo grado



Imagen 21: lesión maligna relacionada con VPH de alto grado

Paralelamente, es importante destacar que en el trato genital la inmensa mayoría de infecciones por VPH de alto riesgo regresan por sí solas sin causar tumoraciones malignas [35].

MECANISMOS ONCOGÉNICOS DE LA INFECCIÓN POR VPH

Basándose en la evidencia epidemiológica y molecular, la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer (*International Agency for Research on Cancer*) en 1995 reconoció los tipos de VPH de alto riesgo 16 y 18 como carcinógenos humanos [36].

La relación del carcinoma cervical uterino con la infección de VPH está ampliamente aceptada. De hecho, las dos variantes VPH-16 y VPH-18 son responsables de aproximadamente el 90% de carcinomas cervicales uterinos. Además, los tipos de VPH de alto riesgo se han asociado a otros carcinomas ano-genitales (vulvar, vaginal, anal y peneano) e incluso con algunos CCECC [4, 37].

El genotipo más relacionado con el CCECC es el VPH-16, seguido del 18 [57].

La mayoría de carcinomas relacionados con VPH contienen ADN de VPH integrado en el genoma de las células huésped y expresan dos genes virales, E6 y E7, ambos codificadores de oncoproteínas.

A través de heridas o abrasiones muco-cutáneas el VPH infecta las células basales del epitelio, que son las únicas con capacidad de división del epitelio. Se ha observado que la maduración viral está íntimamente relacionada con el

grado de diferenciación epitelial. Así, la expresión de antígenos virales tempranos (E) se encuentra en las células del estrato basal, mientras que los antígenos virales tardíos (L) se forman en el estrato epitelial superficial queratinizado.

La pérdida de control de la apoptosis y el ciclo celular constituye un evento temprano en las carcinogénesis mediadas por VPH y se cree que la integración del VPH en el genoma del huésped es el punto clave. Sin embargo, estudios recientes sugieren que la transcripción del ARNm de E6 y E7 del VPH-16 en el carcinoma de amígdala no es necesariamente dependiente de la integración del ADN viral al de la célula infectada, pues éste puede encontrarse predominantemente de forma episomal y formar parte del proceso carcinogénico igualmente [38].

La proteína E6 del VPH de alto riesgo liga e induce la degradación del supresor tumoral p53. Además, la E6 inactiva la telomerasa, una enzima que mantiene la estabilidad telomérica del ADN. Esto conlleva gran inestabilidad celular y disfunción de la apoptosis celular.

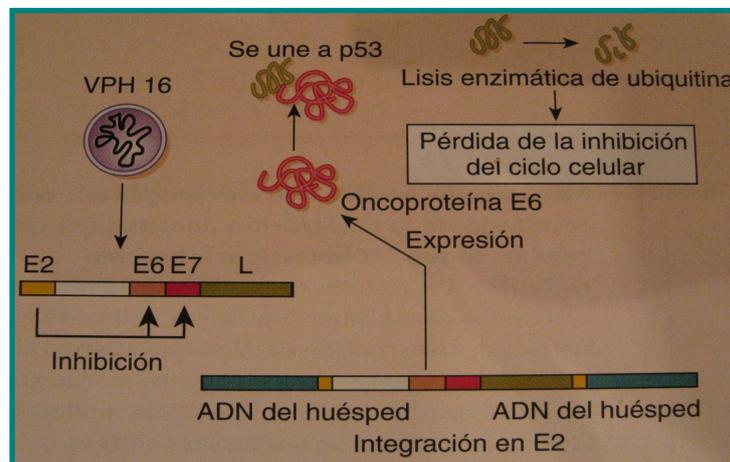


Imagen 22: esquema de la integración del ADN viral en el ADN huésped

Por otra parte, la proteína E7 juega un papel crucial en el ciclo vital del VPH, inhibiendo la proteína retinoblástica (pRB) y otras proteínas relacionadas, con lo que se liberan factores de transcripción que activan algunos genes que regulan el ciclo celular y se favorece la proliferación celular. Esto se traduce en una sobreproducción de p16, pues ésta en condiciones normales se une al complejo ciclina D1 para evitar la fosforilación de la pRB.

En el caso del VPH-6, de bajo riesgo, la proteína E7 se une a las pRB con menos afinidad que en el caso del VPH-16, con lo que no es capaz de inmortalizar el ciclo celular [62, 64].

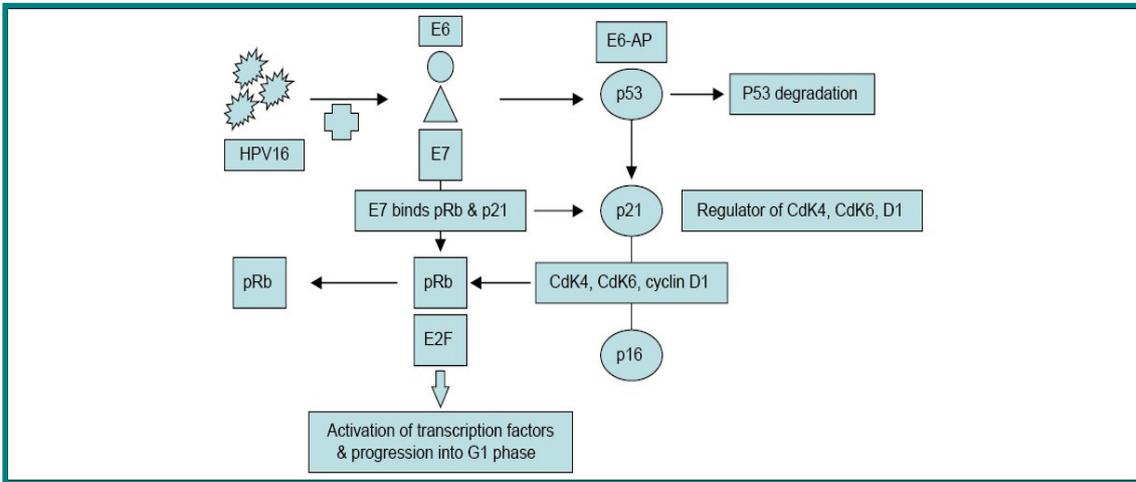


Imagen 23: cambios moleculares celulares secundarios a la infección por VPH

En los CCECC con positividad a VPH se encuentran distintas expresiones moleculares que en los que son negativos para VPH [63, 64, 67].

- VPH+: inhibición de p53, pRB y ciclina D1. Sobreexpresión de p16.
- VPH-: sobreexpresión de p53, pRB y ciclina D1. Inhibición de p16.

Estudios han evidenciado que del mismo modo que las proteínas E6-E7 tienen la capacidad de inhibir los supresores tumorales p53 y pRB, si reprimimos las proteínas E6-E7, los supresores tumorales reanudan su función normal e inician la apoptosis de las células dañadas [23]. Por esta razón se estima que se precisan un mínimo de 2 años de infección por VPH para producir cancerización.

Para finalizar con el tema de los mecanismos oncogénicos del VPH, destacar que el hecho que éste produzca inestabilidad genómica, no significa que degenera en un proceso maligno necesariamente. Sin embargo, los serotipos de VPH de alto riesgo se detectan 3 veces más en lesiones malignas que en las benignas o precancerosas [39, 65].

FACTORES DE RIESGO DE TRANSMISIÓN

Estudios epidemiológicos del carcinoma cervical uterino han demostrado claramente que los tipos de VPH de alto riesgo son transmitidos por contacto sexual [40]. Sin embargo, los medios por los cuales el VPH se transmite al trato aéreo-digestivo superior son poco claros.



La infección de VPH oral es infrecuente en niños que no se han iniciado en relaciones sexuales. En cambio, las infecciones aumentan después del inicio de la actividad sexual.

Se ha observado la transmisión al recién nacido en madres infectadas, por lo que se han propuesto mecanismos preventivos como el uso de la vacuna en estos casos [41,42].

Se asume que la infección del VPH precede el desarrollo del CCECC con positividad a VPH: la presencia de infección por VPH de alto riesgo en la mucosa oro-faríngea y su seropositividad incrementan significativamente el riesgo de desarrollar CCECC. Así mismo, los factores de riesgo para la infección oral de VPH son probablemente, por extensión, factores de riesgo para CCECC VPH+.

Varios estudios caso-control han reportado que ciertos tipos de conducta sexual incrementan el riesgo de CCECC. En ambos sexos el riesgo se ve incrementado con el número de compañeros sexuales y la práctica de sexo oral u oro-anal [45, 46]. En el sexo masculino se incluye además la edad de la primera relación sexual y la historia de verrugas genitales.

El riesgo incrementado en pacientes con historia de carcinoma ano-genital VPH+ y en los maridos de mujeres con carcinoma *in situ* o invasivo de cérvix, confirman la transmisión oro-genital [26]. La transmisión directa boca-boca no puede descartarse.

Se ha observado que los pacientes con CCECC VPH+ y VPH- presentan características diferentes [66, 68, 71]:

- CCECC VPH-:

- ☛ ♂>♀

- ☛ Edad más avanzada

- ☞ Localización: CCC
 - ☞ Asociado al tabaco y al alcohol
 - ☞ No relacionado con la conducta sexual
 - ☞ Peor respuesta al tratamiento y peor pronóstico
- CCECC asociado a VPH+:
 - ☞ ♂=♀
 - ☞ Edad menos avanzada [20, 21, 44]
 - ☞ Localización: oro-faringe más prevalente
 - ☞ Normalmente no fumadores ni bebedores [43]
 - ☞ Conducta sexual específica
 - ☞ Mejor respuesta al tratamiento y mejor pronóstico [28]

OTROS FACTORES DE RIESGO

Aunque la literatura evidencia que el VPH+ se asocia al CCECC en no fumadores ni bebedores, no se conoce el grado en que el riesgo carcinógeno de la infección por VPH puede combinarse con el riesgo carcinógeno del tabaco y el alcohol. Existen datos controvertidos sugiriendo una acción concurrente, una acción sinérgica o un efecto adicional [20, 24].

En algunos estudios se ha encontrado una relación significativa con la marihuana y la escasa higiene oral, aunque ambos factores son bastante controvertidos [47].

Recientemente también se ha evidenciado que las enfermedades relacionadas con VPH aumentan en la cavidad oral de los pacientes VIH+, y que éstas no mejoran con el tratamiento antirretroviral [62].

Los individuos con susceptibilidad genética, como los pacientes con anemia de Fanconi, también son más propensos a la cancerización en presencia del VPH oro-faríngeo [48].

TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

El diagnóstico anatomopatológico puede realizarse mediante una biopsia, una citología o una PAAF.

A partir de nuestra muestra, podemos detectar:

- ADN del VPH: detección del ADN mediante PCR¹³ e hibridación
- p16 ↑: presencia de p16 nuclear y citoplasmática mediante técnicas inmunohistoquímicas [27]
- Características histológicas de infección viral con tinción hematoxilina-eosina:
 - ☞ Estas lesiones presentan las características básicas de los CCE, pero suelen ser poco diferenciados, no queratinizados y con características basaloides.
 - ☞ Núcleos irregulares con binucleaciones y coilocitos

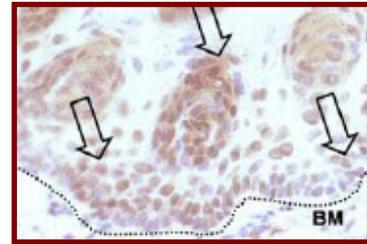


Imagen 24: corte histológico: detección inmunohistoquímica del aumento de p16

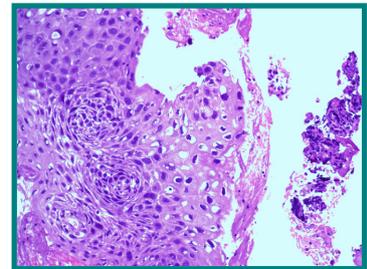


Imagen 21: corte histológico: características de CCE con invasión por VPH (coilocitos y núcleos binucleados)

En el caso de detectar metástasis cervical de origen desconocido con PAAF positiva a CCE VPH+, la primera opción a descartar es el origen amigdalario.

Pues en un estudio llevado a cabo por el equipo del Dr Zhang [30] hallaron en un 30% de los pacientes con metástasis cervical de origen desconocido con PAAF positiva a CCE VPH+, un primario de amígdala homolateral y en un 10% de los casos el primario se encontraba en la amígdala contralateral.

Las metástasis cervicales VPH+ han sido identificadas no solamente por la detección de VPH y la inmunoreactividad de p16, sino que además se ha correlacionado con una morfología histológica desqueratinizante distinta.

¹³ PCR= Polymerase Chain Reaction = Reacción en Cadena de la Polimerasa

PREVENCIÓN Y VACUNACIÓN

Aunque los anticonceptivos de barrera física son un método útil para la prevención de enfermedades de transmisión sexual, para evitar la infección de VPH es un método poco claro, con alta variabilidad según el estudio (0-80%) [58].

Alternativamente, el VPH podría ser prevenido mediante la vacuna contra el VPH. Las vacunas diseñadas para prevenir el carcinoma de cérvix y las verrugas genitales han sido introducidas recientemente. Hasta la fecha existen 2 vacunas comercializadas:

- Gardasil[®] quadrivalente: 6, 11, 16 y 18 (Merck, USA) (0, 2 y 6 meses). Prevención de carcinomas y condilomas.
- Cervarix[®] bivalente: 16 y 18 (GlaxoSmithKline, Australia) (0, 1 y 6 meses). Prevención de carcinomas.

Ambas vacunas tienen la capacidad de producir una gran respuesta humoral, mucho más efectiva que los niveles de anticuerpos adquiridos después de una infección natural [49]. Un seguimiento de 5 años ha demostrado un rango del 86-100% de efectividad en la prevención de HPV-16 y HPV-18 en lesiones de cuello de útero con estadíos CIN 2/3 en mujeres jóvenes¹⁴.

En cuanto al CCECC, podría ser útil la vacuna para prevenir e incluso tratar los tumores VPH+, pero actualmente esta hipótesis aun está en fase de estudio. Actualmente sólo se han hecho estudios en fase animal, que han demostrado un efecto protector y una disminución en el desarrollo de CCECC VPH+ [50, 56]. A nivel terapéutico, probablemente podría ser útil para las enfermedades de pequeño volumen. Así, estas vacunas podrían usarse como tratamiento adyuvante de la cirugía, la quimioterapia o la radioterapia, aumentando la respuesta inmune. También queda por estudiar si la misma vacuna utilizada para prevenir el carcinoma ano-genital, sería igualmente útil en estos pacientes.

Además, hay que destacar que si las suposiciones anteriormente citadas quedan demostradas definitivamente, la vacunación no debería quedar solamente restringida al sexo femenino.

¹⁴ La Conselleria de Salut de Catalunya inició en el último trimestre del 2008 la vacunación sistemática contra el virus del papiloma humano a todas las niñas de entre 11 y 12 años.

ANTECEDENTES

Hace 35 años aproximadamente, fue postulado el rol del VPH en el carcinoma cervical uterino. Actualmente está bien establecido cómo esta heterogénea familia de virus representa un carcinógeno humano, causando no solamente la inmensa mayoría de tumores cervicales uterinos y ano-genitales, sino también un número variable de tumores en otras localizaciones del cuerpo humano, incluyendo cabeza y cuello [20].

Syrjänen et al. fueron los primeros en describir la asociación entre el VPH y las lesiones celulares escamosas en distintas localizaciones del cuerpo humano, incluyendo la cavidad oral, en 1983 [29]. Los resultados sugirieron que el VPH estaba involucrado en el desarrollo de al menos algunos tipos de CCECC. En los años siguientes, se han publicado numerosos estudios con evidencia científica demostrando que las infecciones orales de VPH, sobretodo de los genotipos de alto riesgo, son un factor de riesgo independiente significativo para el CCECC.

Se ha evidenciado que actualmente el VPH es el responsable del 50% de CCE en el sexo femenino. En cambio, entre los hombres es el responsable de solamente el 5% de CCE [4,31].

CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEZA Y CUELLO VPH+

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

El carcinoma de células escamosas de cavidad oral y oro-faringe normalmente está relacionado con factores ambientales, sobretodo el tabaco y el alcohol. Sin embargo, el 15-20% de estos cánceres ocurren en pacientes sin estos factores de riesgo [37, 66].

La literatura revisada evidencia que el VPH puede ser la causa de algún subtipo de estos CCECC, particularmente en las afecciones del anillo de Waldeyer, sobretodo en amígdala y base de lengua.

En las poblaciones de Europa del Este y en Estados Unidos, la incidencia de la mayoría de CCECC ha disminuido últimamente, pero los tumores de oro-faringe han incrementado. Se supone que es debido al aumento de infección por VPH [21,22]. De hecho, actualmente está aceptado que el 50% de los carcinomas de oro-faringe en el mundo occidental están relacionados con el VPH [24, 25]. En el resto de localizaciones de cabeza y cuello la relación con VPH es mucho menor.

Se estima que es necesaria la continua expresión de los oncogenes virales, por lo menos durante 2 años, para la progresión histopatológica de la infección y la asociación del fenotipo maligno con el VPH.

La persistencia del virus se da claramente en el cuello uterino, pero no en la mucosa oral, donde parece ser que la saliva tiene un importante papel de aclarado, excepto en las criptas de amígdalas, glotis y base de lengua.

En un estudio de incidencia de VPH en carcinoma de cavidad oral y oro-faringe realizado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer, se detectó la presencia del VPH en un 70% de los casos. El VPH-16, el tipo más observado en el carcinoma genital, fue también el más común en este estudio. El estudio concluyó que el VPH parece jugar un papel etiológico importante en gran cantidad de carcinomas de oro-faringe y en un subgrupo menor de carcinomas de cavidad oral [51,61]. No obstante, otros estudios concluyen que la incidencia de la presencia de ADN viral varía entre el 18-50% dependiendo del área geográfica estudiada [59, 60].

TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO

Los estudios moleculares muestran aumento de la expresión de p16 en los CCECC VPH+. Asimismo, estos pacientes con sobreexpresión de p16 presentan mejor respuesta al tratamiento, independientemente del tratamiento aplicado, aunque actualmente no se conozca aún el porqué [52]. A pesar de que también se hayan obtenido mejores resultados con la quimioterapia en los pacientes

VPH+, en algunos estudios se ha observado que estos pacientes presentan mayor resistencia al cis-platino.

En cuanto a la mejor respuesta al tratamiento, algunas teorías han sido propuestas: algunos autores defienden que es debido a que las células tumorales VPH+ son capaces de inducir apoptosis celular cuando el ADN se lesiona. Otros lo atribuyen a la ausencia de cambios genéticos precoces inducidos por el carcinógeno en el epitelio y al desarrollo de tumores multifocales [62].

De hecho, la represión de la expresión de E6 y E7 en los carcinomas VPH+ conlleva la restauración de los niveles de pRb y p53, que suele ser suficiente para detener el crecimiento celular y/o recuperar la apoptosis celular [54]. Además, las vacunas que estimulan una respuesta inmune citolítica de las células que expresan proteínas virales pueden jugar un importante papel terapéutico, incluso en estadios avanzados de la enfermedad [54].

Los estudios concluyen que los pacientes con CCECC VPH+ tienen un riesgo de morir por causa tumoral un 60-80% menor que los pacientes VPH- [72].

En conclusión, la posible diferencia de pronóstico y de respuesta al tratamiento de los tumores VPH+ implica un estudio para aplicar un tratamiento mínimamente lesivo y óptimo pues posiblemente sea suficiente un tratamiento menos agresivo y así sea posible disminuir la morbilidad del paciente.

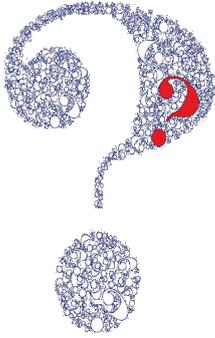
MONITORIZACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH

Actualmente se están investigando otros marcadores tumorales útiles para el diagnóstico precoz, para la monitorización del curso de la enfermedad, y para la detección precoz de recurrencia de la enfermedad.

La presencia de anticuerpos contra el VPH podría ser un marcador de detección viral fácilmente accesible. El sistema inmune produce anticuerpos contra las proteínas de la cápsula viral y contra las proteínas virales tempranas, incluyendo las oncoproteínas E6 y E7. La relación entre los niveles de anticuerpos y la presencia de células tumorales VPH+ podría utilizarse para el diagnóstico precoz, para la monitorización del curso de la enfermedad, y para la detección precoz de recurrencia de la enfermedad [53].

Aproximadamente el 10% de los individuos sanos con infección por VPH desarrollan una infección persistente, y quizás estos pacientes serían los que más se beneficiarían de la monitorización de los niveles de anticuerpos contra el VPH [55]. Por otro lado, en los estudios realizados, los tumores VPH+ presentan menor tasa de recurrencia que los VPH- [60, 62].

HIPÓTESIS



Las infecciones orales y oro-faríngeas de VPH pueden ser asintomáticas o bien manifestarse en forma de lesiones hiperplásicas benignas o malignas.

- El VPH, sobretodo los genotipos de alto riesgo oncogénico 16 y 18, es un factor de riesgo independiente significativo para el CCECC, pues puede presentarse asociado a otros factores de riesgo o bien de forma aislada.
- Los pacientes con CCECC VPH presentan distintas características que aquellos VPH-

OBJETIVOS

1. El objetivo principal del presente estudio consiste en probar la relación existente entre el CCECC y el VPH en nuestra serie de pacientes oncológicos.
2. A raíz de esta comprobación, estudiar las características epidemiológicas, los factores de riesgo y la presentación clínica oncológica de nuestra serie de pacientes VPH+.
3. Comparar los pacientes con CCECC y portadores de VPH con otro grupo de pacientes fumadores y/o bebedores y VPH-.
4. Analizar los resultados epidemiológicos e histo-químicos obtenidos para obtener unas conclusiones.
5. Comparar nuestros resultados con los publicados en la literatura.
6. Valorar la posibilidad de ampliar el estudio con una muestra más representativa para obtener resultados más significativos y además añadir otras variables importantes a estudiar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Nuestro estudio consiste en la evaluación de una serie de 35 pacientes asistidos en el Hospital Vall d'Hebron por presentar alguna lesión en la región de cabeza y cuello diagnosticada de carcinoma escamoso tratada o no previamente durante los meses de Noviembre y Diciembre de 2009.

Los pacientes llegan a nuestra consulta por las siguientes vías:

- Remitidos directamente del servicio de urgencias de nuestro hospital, tras ser valorados por el especialista de guardia.
- Remitidos por especialistas de otros centros.
- Remitidos por médicos de otras especialidades a las consultas externas como pacientes de diagnóstico rápido.

A todos los pacientes que acuden a las Consultas Externas con alguna lesión sospechosa de malignidad, se les realiza el diagnóstico mediante la anamnesis, la exploración física y las pruebas complementarias necesarias.

Los pacientes suelen consultar cuando presentan una lesión de larga evolución, dolorosa o no, o bien alguna disfunción orofaríngea o laríngea.

En la **anamnesis** se recogen la edad del paciente, sus antecedentes y si toma medicación, alergias, los factores de riesgo, posible consumo de tabaco y alcohol, exposición laboral, así como la evolución clínica de la lesión.

Seguidamente, se realiza la **exploración** de toda la región y de forma específica la lesión, así como también se constata la existencia de posibles adenopatías cervicales.



Imagen 22: CCE de suelo de boca

Valoramos el estado general del paciente y si existe otra sintomatología acompañante que nos pueda hacer sospechar de extensión tumoral a distancia.

A todos nuestros pacientes les realizamos también **pruebas complementarias** de imagen para valorar el estadiaje de la lesión tumoral, normalmente una RMN o una TC.

En la mayoría de pacientes también se les realiza una ortopantomografía para valorar si existe afectación maxilar o si se quiere valorar el estado dental del paciente. En no pocas ocasiones, los pacientes acuden con una salud dental muy pobre. En estos casos es importante restablecer la higiene oral, ya que tanto con la cirugía, la quimioterapia como con la radioterapia acontecen sobreinfecciones y/u osteoradionecrosis.

En algunas ocasiones es preciso realizar una PET si existen dudas de proceso proliferativo o de extensión.

El **diagnóstico histológico** lo realizaremos mediante una biopsia o una PAAF. Si se palpan adenopatías cervicales, se realiza una PAAF de éstas.

El Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Vall d'Hebron analiza histológicamente las muestras, ya sea biopsia o pieza quirúrgica y realiza:

- detección de VPH mediante PCR e hibridación, que es un método que extrae y purifica el ADN viral, lo amplifica e identifica su genotipo. Se detectan los siguientes VPH:
 - ☞ Alto riesgo: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82 y 85.
 - ☞ Bajo riesgo: 6, 11, 32, 40, 42, 44, 54, 55, 61, 62, 64, 71, 72, 74, 81, 83, 84, 87, 89 y 91.
- analiza el aumento de p16 mediante técnicas inmunohistoquímicas.

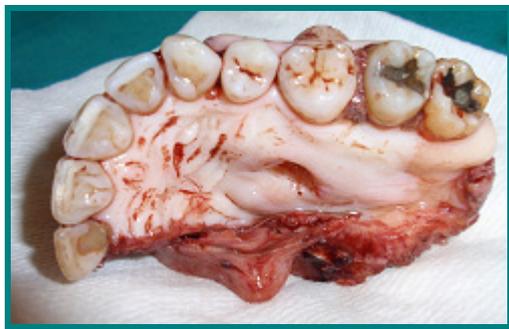


Imagen 23: maxilectomía superior

Los pacientes diagnosticados de una lesión maligna se presentan ante el Comité Oncológico de Cirugía Maxilofacial y Otorrinolaringología del Hospital Vall d'Hebron, para decidir el tratamiento óptimo para cada caso concreto.

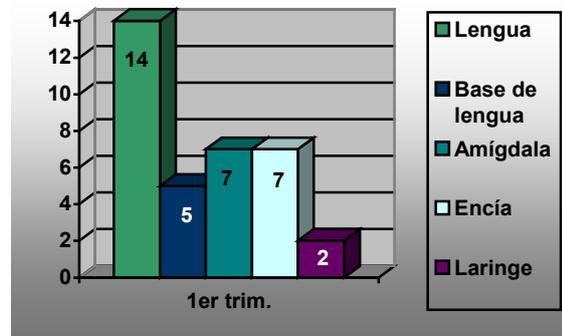
Los pacientes son informados debidamente del plan terapéutico que se les va aplicar y del estudio que formaran parte y entonces firman su consentimiento informado.

Los 35 pacientes seleccionados han sido clasificados según el resultado de VPH positivo o negativo. A partir de estos dos grupos, con todos los datos recogidos, se ha realizado el estudio comparativo.

RESULTADOS

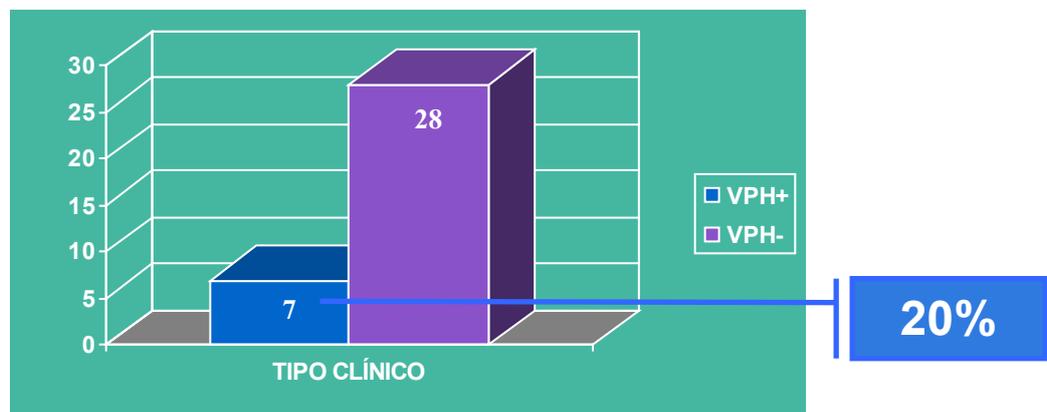
En el estudio hemos incluido 35 pacientes con CCECC, de los cuales:

- lengua (14 pacientes)
- amígdala y encía (7 pacientes cada una)
- base de lengua (5 pacientes)
- laringe (2 pacientes)



IDENTIFICACIÓN VPH

El primer paso ha sido clasificar los pacientes en función del resultado VPH. Obtenemos que 7 pacientes de los 35, el 20%, presentan positividad a infección por VPH en sus células neoplásicas.



LOCALIZACIÓN

Seguidamente hemos estudiado la localización tumoral en función del resultado VPH. Si observamos las tablas, observamos que los resultados positivos a VPH solamente se han obtenido en tumores de amígdala, base de lengua y laringe. En lengua, aunque es donde hemos observados más pacientes afectados

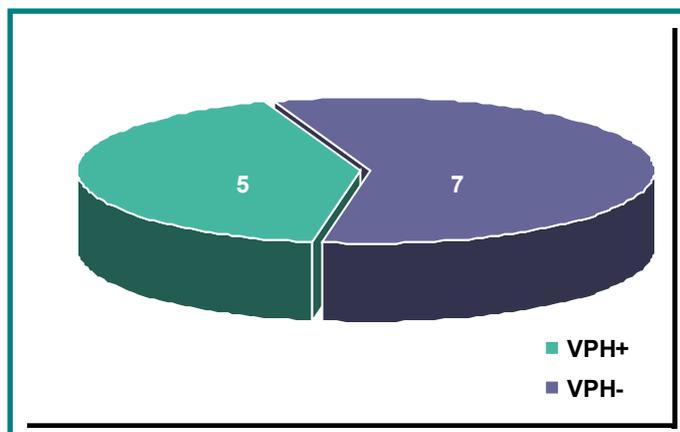
de CCECC, no hemos obtenido ningún resultado positivo para VPH. Lo mismo ocurre en los tumores de encía.

Así, en nuestro estudio podemos relacionar la infección VPH con pacientes afectados de CCE en oro-faringe y en laringe. Del mismo modo, podemos descartar su relación con CCE de lengua y encía.

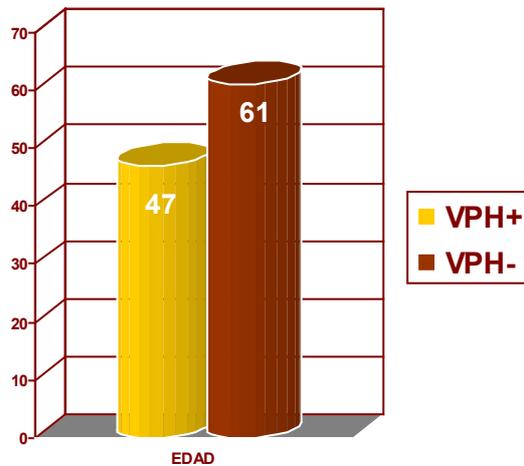
	Lengua	0	0%
	Base lengua	2	28'5%
VPH+	Encía	0	0%
	Amígdala	3	42'8%
	Laringe	2	28'5%

	Lengua	14	40%
	Base lengua	3	8'5%
VPH-	Encía	7	20%
	Amígdala	4	11'5%
	Laringe	0	0%

Si consideramos solamente la región oro-faríngea, obtenemos que el 41'6% de nuestros pacientes con CCE presentan células infectadas por VPH.



EDAD MEDIA



Al estudiar la edad media de los pacientes, resulta que los VPH+ son más jóvenes que los VPH-

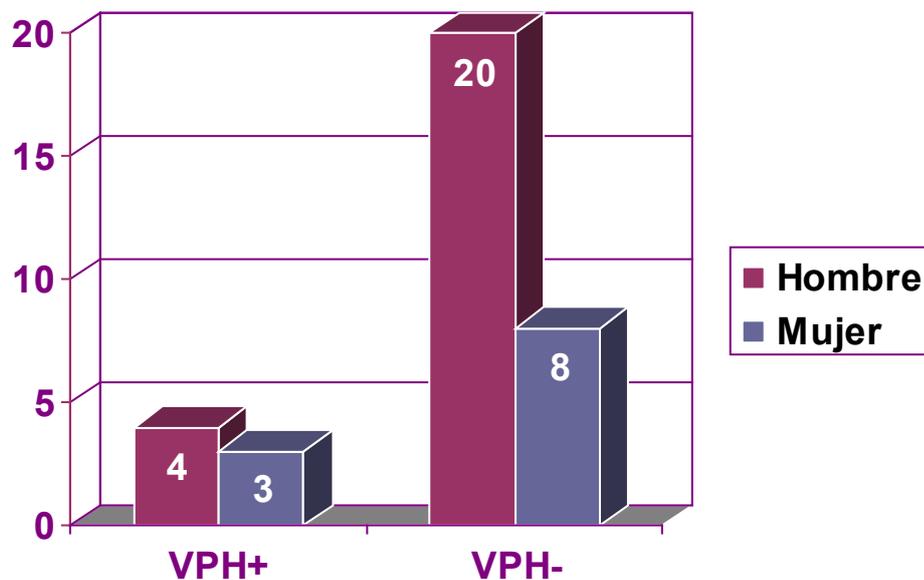
- VPH+: 47a (29a-66a)
- VPH-: 61a (37a-71a)

SEXO

En cuanto al sexo, de los 7 pacientes VPH+, 4 son hombres y 3 son mujeres. Se trata de un valor bastante equilibrado.

En cuanto a los pacientes con CCECC VPH-, la diferencia entre sexos es más del doble, habiendo 20 hombres y 8 mujeres.

Así pues, en pacientes con VPH+ y CCE de oro-faringe no hay diferencia de sexos como en los VPH-.



FACTORES DE RIESGO

Básicamente hemos estudiado los hábitos tabáquico y enólico. Una vez más hemos obtenido diferencias importantes:

los pacientes VPH- son más fumadores (el 75% de los pacientes VPH-) y/o bebedores (el 46'4% de los pacientes VPH-) que los VPH+ (28'5% y 0% respectivamente, de los pacientes VPH+)

	VPH-	VPH+
Tabaco	75%	28'5%
Alcohol	46'4%	0%

PAÍS DE ORIGEN Y RAZA

Todos los pacientes estudiados son de origen español de raza caucásica y todos han vivido la mayor parte de su vida en su país de origen. Así pues, no hemos podido obtener conclusiones satisfactorias en cuanto a diferencias raciales/país de origen.

ESTADÍO DE LA ENFERMEDAD

En nuestra serie de pacientes solamente hemos observado una diferencia en el tamaño tumoral al diagnóstico, que es ligeramente menor en los pacientes VPH+. En cuanto a la afectación ganglionar no ha habido diferencias y en cuanto a las metástasis a distancia, ningún paciente presentaba metástasis a distancia al diagnóstico.

	T (tamaño)	N (gg cervicales)	M (metástasis)
VPH+	T2	N1	M0
VPH-	T3	N1	M0

DISCUSIÓN

El CCC es la quinta localización más frecuente de cáncer a nivel mundial y en Asia central representa la neoplasia más común [2].

Se trata de una patología que evoluciona muy rápidamente y su tratamiento médico-quirúrgico conlleva en general alta morbilidad y disfunción estética.

El CCE es el tipo de tumor maligno más frecuente en la región de cabeza y cuello.

Se origina en el epitelio de revestimiento escamoso pluriestratificado de las líneas del trato aéreo-digestivo alto y es característica su etiopatogenia multifactorial. El mayor factor de riesgo es el tabaco, seguido del alcohol. La suma de ambos representa el factor etiopatogénico en el 80% de los casos de CCECC [1].

A partir de los estudios de Syrjänen en 1983, se relacionó la infección de VPH con el CCE de múltiples localizaciones, entre ellas la de cabeza y cuello [29].

A partir de aquí numerosos estudios se han llevado a cabo sobre su incidencia, epidemiología, genotipos de riesgo, transmisión del virus y su prevención, afectación celular y tisular, métodos diagnósticos,... entre muchos otros.

El VPH es un virus ADN epiteliotropo, extensamente distribuido entre los vertebrados. De hecho, actualmente el VPH encabeza las enfermedades de transmisión sexual en Estados Unidos. Se cree que la transmisión ocurre en el contacto oro-genital [26, 45, 46]. También se sospecha la transmisión por el canal del parto, por lo que en las parturientas VPH+ se recomiendan medidas preventivas, como la vacunación [41, 42]. En cambio, la transmisión boca-boca es dudosa [58].

En el sexo femenino las infecciones por VPH representan más del 50% de tumores relacionados con infecciones. En cambio, en el sexo masculino apenas llega a representar el 5% [4,31]. En cuanto a la región de cabeza y



cuello, se estima que un 15-20% de los CCECC son VPH+ y específicamente, el 50% de los tumores de oro-faringe [24, 25, 37, 66].

La incidencia de CCECC relacionado con VPH es parecida para ambos sexos. A fecha de hoy se han estudiado más de 200 tipos de VPH. De todos los genotipos de alto riesgo, el 16 es el más relacionado con el CCECC, seguido por el 18 [34, 57].

A través de heridas o abrasiones muco-cutáneas, el VPH infecta las células basales del epitelio. El genoma del VPH se introduce en la cadena de ADN de la célula huésped, lo que produce su inestabilidad genómica. Ésta, a veces se traduce en una lesión maligna, aunque no es obligado [38]. Se estima que la infección debe perdurar al menos 2 años para producir cancerización en el tejido.

Los mecanismos oncogénicos de los VPH de alto riesgo consisten en la inhibición de las proteínas antioncogénicas p53 y pRB mediante las proteínas virales E₆ y E₇. Estos cambios se traducen en un aumento de la proteína p16. Lo más curioso es que estos marcadores se encuentran justo a la inversa en los pacientes con CCECC VPH-.

- VPH+: inhibición de p53, pRB y ciclina D1. Sobreexpresión de p16.
- VPH-: sobreexpresión de p53, pRB y ciclina D1. Inhibición de p16.

Sin embargo, numerosos estudios sobre marcadores tumorales se están llevando a cabo para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad oncológica. Otro buen marcador son los niveles de anticuerpos en sangre contra las proteínas E₆ y E₇ del VPH [53, 55].

La infección se detecta mediante una biopsia, una citología o una PAAF. Actualmente el aumento de p16 se usa comúnmente para el diagnóstico de infección de VPH concomitante a los CCECC [27]. Otra opción diagnóstica es detectar el ADN viral mediante PCR.

Como hemos comentado anteriormente, la relación entre carcinoma de oro-faringe y VPH es importante (50% de los casos). Así pues, en el caso de detectar metástasis cervical de origen desconocido con PAAF positiva a CCE y VPH+, la primera opción a descartar es el origen amigdalario. En un estudio llevado a cabo por el equipo del Dr Zhang [30] hallaron en un 30% de los pacientes con metástasis cervical de origen desconocido con PAAF positiva a

CCE VPH+, un primario de amígdala homolateral y en un 10% el primario se encontraba en la amígdala contralateral. Las metástasis cervicales VPH+ han sido identificadas no solamente por la detección de VPH y la inmunoreactividad de p16, sino que además se ha correlacionado con una morfología histológica desqueratinizante distinta.

Los estudios han demostrado que los pacientes VPH+ difieren de los VPH- [66, 68, 71]:

- CCECC VPH-:

- ♂ > ♀
- Edad más avanzada
- Localización: CCC
- Asociado al tabaco y al alcohol
- No relacionado con conducta sexual
- Peor respuesta al tratamiento y peor pronóstico

- CCECC asociado a VPH+:

- ♂ = ♀
- Edad menos avanzada [20, 21, 44]
- Localización: oro-faringe más prevalente
- Normalmente no fumadores ni bebedores [43]
- Conducta sexual específica
- Mejor respuesta al tratamiento y mejor pronóstico [28]

A parte de presentar mejor pronóstico, los pacientes VPH+ responden mejor al tratamiento, ya sea cirugía, radioterapia o quimioterapia y presentan menor tasa de recidiva [52, 60, 62]. De hecho, los estudios concluyen que los pacientes con CCECC VPH+ tienen un riesgo de morir por causa tumoral un 60-80% menor que los pacientes VPH- [57]. Si finalmente se demuestra tal afirmación, el siguiente paso sería proponer una nueva pauta terapéutica para los pacientes con CCECC VPH+ que implique menor morbi-mortalidad.

Existen dos vacunas contra el VPH en el mercado, ambas efectivas en la prevención de los carcinomas de cuello de útero. Pero su efecto en CCECC aún se encuentra en fase de estudio animal [50, 56]. Así pues, es importante estudiar profundamente el efecto de la vacuna contra el VPH, tanto para

prevenir y combatir la infección del VPH a nivel de oro-faringe, como de coadyuvante al tratamiento de los CCECC VPH+.

En el actual trabajo hemos estudiado la presencia de VPH en 35 pacientes que han sido diagnosticados y tratados en nuestro centro de CCECC durante los meses de Noviembre y Diciembre de 2009.

En nuestra muestra el 20% de los pacientes con CCECC presenta VPH+, resultado que se acerca a los valores publicados (15-20%) [21,22]. Si solamente estudiamos los pacientes con CCE de oro-faringe, el 41'6% de ellos es VPH+ [24,25]. Debemos destacar que hemos obtenido 2 resultados de VPH+ en CCE de laringe, localización que no se encuentra afectada mayoritariamente en la literatura.

En cuanto a la incidencia por sexo, en los casos con VPH+ existe casi la misma afectación de hombres y mujeres (4 y 3, respectivamente). En cambio, en los pacientes VPH- hay mayor incidencia en hombres (20 y 8, respectivamente), los mismos resultados que refleja la literatura.

También hemos confirmado que los pacientes VPH+ son más jóvenes que los VPH- (47a y 61a, respectivamente).

Los factores de riesgo tabaco y alcohol se encuentran en menor medida en los pacientes VPH+ (28'5% y 0%, respectivamente) que en los VPH- (75% y 46'4% respectivamente).

El estadiaje en el momento diagnóstico de los pacientes VPH+ presenta un valor de tamaño tumoral algo menor que en los VPH- (T2 y T3, respectivamente). No hemos encontrado diferencias en cuanto a la afectación ganglionar cervical ni en metástasis a distancia.

Debemos destacar que en nuestro estudio hemos aplicado el mismo tratamiento en todos los pacientes. No hemos tenido en cuenta la hipótesis que los pacientes VPH tienen un mejor pronóstico que los VPH-, y quizás puedan beneficiarse de un tratamiento menos agresivo, ya que por el momento no hay ninguna pauta de tratamiento aprobada.

Los resultados obtenidos son una mera representación de nuestra población, pero no son concluyentes debido al pequeño número de pacientes estudiados. Sin embargo, hemos logrado conseguir nuestros objetivos, ya que nuestros

resultados han sido compatibles con los publicados en la literatura. Esto significa que nuestras pruebas diagnósticas y estudios estadísticos son válidos. Así pues, podemos llevar a cabo nuestro siguiente reto, que consiste en realizar un estudio más amplio que incluya todos los pacientes tratados en nuestro centro de CCECC durante el año 2010, para estudiar una muestra representativa y poder obtener conclusiones significativas a nivel poblacional.

CONCLUSIONES

1. En nuestro estudio demostramos una relación epidemiológica entre VPH y CCECC, pero no una relación causal.
2. Aproximadamente el 75% de adultos han sido o estarán infectados por uno o más serotipos de VPH. Nuestro estudio relaciona una vez más el rol de la infección por VPH en la patogénesis de las lesiones malignas en la mucosa orofaríngea.
3. El perfil de paciente con CCECC portador de VPH difiere al del paciente con antecedentes de hábito tabáquico y/o alcohólico: son más jóvenes, afecta en igual grado a hombres y mujeres, y no suelen ser ni fumadores ni bebedores.
4. A nivel molecular también encontramos diferencias, hallándose inhibición de p53, pRB y ciclina D1 y sobreexpresión de p16.
5. Se están investigando otros marcadores tumorales útiles para el diagnóstico precoz, para la monitorización del curso de la enfermedad, y para la detección precoz de recurrencia de la enfermedad.
6. El pronóstico de los CCECC de pacientes con VPH+ parece ser mejor que el de los VPH-.
7. Puede ser preciso establecer una pauta de tratamiento menos intensa, y así disminuir la morbilidad.
8. El VPH es una infección de transmisión sexual. La incidencia aumenta con la promiscuidad, la precocidad sexual, y la práctica de sexo oral u oro-anal.
9. La vacunación para el VPH se ha demostrado eficaz para prevenir el carcinoma de cuello uterino, pero aún faltan estudios para evidenciar su efecto en la prevención del CCECC.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sankaranarayanan, R, Masuyer, E, Swaminathan, R, et al. Head and neck cancer: A global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer Res* 1998; 18:4779.
2. Parkin, DM, Pisani, P, Ferlay, J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49:33.
3. Jemal, A, Siegel, R, Ward, E, et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59:225.
4. Andrew G. Sikora, Luc G. Morris, and Erich M. Sturgis. Bidirectional Association of Anogenital and Oral Cavity/Pharyngeal Carcinomas in Men. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, Apr 2009; 135: 402 - 405.
5. Settle, K, Posner, MR, Schumaker, LM, et al. Racial Survival Disparity in Head and Neck Cancer Results from Low Prevalence of Human Papillomavirus Infection in Black Oropharyngeal Cancer Patients. *Cancer Prev Res (Phila Pa)* 2009; 2:776.
6. Blot, WJ, McLaughlin, JK, Winn, DM, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988; 48:3282.
7. Spitz, MR. Epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin Oncol* 1994; 21:281.
8. Lewin, F, Norell, SE, Johansson, H, et al. Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck: a population-based case-referent study in Sweden. *Cancer* 1998; 82:1367.
9. Andre, K, Schraub, S, Mercier, M, et al. Role of alcohol and tobacco in the aetiology of head and neck cancer: A case-control study in the Doubs region of France. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1995; 31B:301.

10. Tan, EH, Adelstein, DJ, Droughton, ML, et al. Squamous cell head and neck cancer in nonsmokers. *Am J Clin Oncol* 1997; 20:146.
11. Druesne-Pecollo, N, Tehard, B, Mallet, Y, et al. Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. *Lancet Oncol* 2009; 10:173.
12. Flaitz, CM, Hicks, MJ. Molecular piracy: The viral link to carcinogenesis. *Oral Oncol* 1998; 34:448.
13. Cattani, P, Hohaus, S, Bellacos, A, et al. Association between cyclin D1 (CCND1) gene amplification and human papillomavirus infection in human laryngeal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1998; 4:2585.
14. Becher, H, Ramroth, H, Ahrens, W, et al. Occupation, exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and laryngeal cancer risk. *Int J Cancer* 2005; 116:451.
15. van der, Laan BF, Baris, G, Gregor, RT, et al. Radiation-induced tumours of the head and neck. *J Laryngol Otol* 1995; 109:346.
16. Copper, MP, Jovanovic, A, Nauta, JP, et al. Role of genetic factors in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 121:157.
17. Bongers, V, Braakhuis, BJ, Tobi, H, et al. The relation between cancer incidence among relatives and the occurrence of multiple primary carcinomas following head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5:595.
18. Jeng, JH, Chang, MC, Hahn, LJ. Role of areca nut in betel quid-associated chemical carcinogenesis: current awareness and future perspectives. *Oral Oncol* 2001; 37:477.
19. Silverman, S Jr, Gorsky, M, Lozada, F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer* 1984; 53:563.

20. Gillison, ML, D'Souza, G, Westra, W, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:407.v
21. Attner, P, Du, J, Nasman, A, et al. The role of human papillomavirus in the increased incidence of base of tongue cancer. *Int J Cancer* 2010; 126:2879.
22. Chaturvedi, AK, Engels, EA, Anderson, WF, Gillison, ML. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26:612.
23. Rampias, T, Sasaki, C, Weinberger, P, Psyrri, A. E6 and e7 gene silencing and transformed phenotype of human papillomavirus 16-positive oropharyngeal cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:412.
24. Dahlstrand, H, Nasman, A, Romanitan, M, et al. Human papillomavirus accounts both for increased incidence and better prognosis in tonsillar cancer. *Anticancer Res* 2008; 28:1133.
25. Kreimer, AR, Clifford, GM, Boyle, P, Franceschi, S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14:467.
26. Sikora, AG, Morris, LG, Sturgis, EM. Bidirectional association of anogenital and oral cavity/pharyngeal carcinomas in men. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135:402.
27. Shi, W, Kato, H, Perez-Ordóñez, B, et al. Comparative prognostic value of HPV16 E6 mRNA compared with in situ hybridization for human oropharyngeal squamous carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27:6213.
28. Gillison, M, Harris, J, Westra, W, et al. Survival outcomes by tumor human papillomavirus (HPV) status in stage III-IV oropharyngeal cancer (OPC) in RTOG 0129. *J Clin Oncol* 2009; 27:15s (abstr 6003).

29. K J Syrjänen HPV infections and lung cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:885-891
30. Megan Q. Zhang, Samir K. El-Mofty, Rosa M. Davila, Detection of Human Papillomavirus-related Squamous Cell Carcinoma Cytologically and by In Situ Hybridization in Fine-needle Aspiration Biopsies of Cervical Metastasis. American Cancer Society 2008
31. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology* 2009.
32. Seedorf K, Krammer G, Durst M, Suhai S, Rowekamp WG. Human papillomavirus type 16 DNA sequence. *Virology* 1985;
33. Bernard HU, Calleja-Macias IE, Dunn ST. Genome variation of human papillomavirus types: phylogenetic and medical implications *Int J Cancer*. 2006
34. Syrjänen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol* 2005
35. Munoz N, Bosch FX, Castellsague X. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer* 2004
36. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human papillomaviruses. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1995
37. Gillison ML, Koch WM, Capone RB. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000
38. Mellin H, Dahlgren L, Munck-Wikland E, Lindholm J, Rabbani H, Kalantari M, et al. Human papillomavirus type 16 is episomal and a high viral load may be correlated to better prognosis in tonsillar cancer. *Int J Cancer* 2002

39. Pyeon D, Newton MA, Lambert PF, den Boon JA, Sengupta S, Marsit CJ, et al. Fundamental differences in cell cycle deregulation in human papillomavirus-positive and human papillomavirus-negative head/neck and cervical cancers. *Cancer Res* 2007
40. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human papillomaviruses. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1995
41. Smith EM, Parker MA, Rubenstein LM, Haugen TH, Hamsikova E, Turek LP. Evidence for vertical transmission of HPV from mothers to infants. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2010
42. Rombaldi RL, Serafini EP, Mandelli J, Zimmermann E, Losquiavo KP. Perinatal transmission of human papillomavirus DNA. *Virology* 2009 Jun
43. Weinberger PM. Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancers with favourable prognosis. *J Clin Oncol* 2006
44. Lindel K, Beer KT, Laissue J. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer* 2001
45. Rosenquist K, Wennerberg J, Schildt EB. Oral status, oral infections and some lifestyle factors as risk factors for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. A population-based case-control study in southern Sweden. *Acta Otolaryngol* 2005
46. Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Madeleine MM, et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst* 1998
47. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2008

48. Van Zeeburg H.J.T., Snijders P.J.F., Wu T., Gluckman E., Soulier J., Surralles J., Castella M., Brakenhoff R.H. Clinical and molecular characteristics of squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008; 100 (22), pp. 1649-1653.
49. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet* 2006
50. Johnston KB, Monteiro JM, Schultz LD. Protection of beagle dogs from mucosal challenge with canine oral papillomavirus by immunization with recombinant adenoviruses expressing codon-optimized early genes. *Virology* 2005
51. D'Souza G. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007;356:1944-56
52. Weinberger PM. Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancers with favourable prognosis. *J Clin Oncol* 2006
53. Smith EM, Ritchie JM, Pawlita M, Rubenstein LM, Haugen TH, Turek LP, et al. Human papillomavirus seropositivity and risks of head and neck cancer. *Int J Cancer* 2007;120:825-32.
54. Goodwin EC, Dimaio D. Repression of human papillomavirus oncogenes in HeLa cervical carcinoma cells causes the orderly reactivation of dormant tumor suppressor pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:12513-8
55. Stanley MA, Pett MR, Coleman N, Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans* 2007;35:1456-60
56. Bipin N. Savani, Stacey Goodman, A. John Barrett. Can Routine Posttransplant HPV Vaccination Prevent Commonly Occurring Epithelial Cancers after Allogeneic Stem Cell Transplantation? *Clinical Cancer Research*. Jan 2009

- 57.** Soares Rosilene Calazans, Oliveira Márcio Campos, Souza Lélia Batista de, Costa Antônio de Lisboa Lopes, Pinto Leão Pereira. Detection of HPV DNA and immunohistochemical expression of cell cycle proteins in oral carcinoma in a population of Brazilian patients. *J. Appl. Oral Sci.* [serial on the Internet]. 2008 Oct
- 58.** Campisi G, Giovannelli L. Controversies surrounding human papilloma virus infection, head & neck vs oral cancer, implications for prophylaxis and treatment. *Head Neck Oncol* 2009, 1:8
- 59.** Goon PK, Stanley MA, Ebmeyer J, Steinsträsser L, Upile T, Jerjes W, Bernal-Sprekelsen M, Görner M, Sudhoff HH. HPV & head and neck cancer: a descriptive update. *Head Neck Oncol.* 2009 Oct 14;1(1):36.
- 60.** Carole Fakhry and Maura L. Gillison. Clinical Implications of Human Papillomavirus in Head and Neck Cancers *Journal of Clinical Oncology.* June 2006
- 61.** Jerry Machado, Patricia P Reis, Tong Zhang, Colleen Simpson, Wei Xu, Bayardo Perez-Ordonez, David P Goldstein, Dale H Brown, Ralph W Gilbert, Patrick J Gullane, Jonathan C Irish³, Suzanne Kamel-Reid. Low prevalence of Human Papillomavirus in oral cavity carcinomas. *Head & Neck Oncology* 2010; 2:6
- 62.** L Mannarini, V Kratochvil,¹ L Calabrese,² L Gomes Silva, P Morbini, J Betka,¹ and M Benazzo. Human Papilloma Virus (HPV) in head and neck region: review of literature. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2009 June
- 63.** Katerina Strati, Henry C. Pitot, and Paul F. Lambert. Identification of biomarkers that distinguish human papillomavirus (HPV)-positive versus HPV-negative head and neck cancers in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 September 19; 103(38): 14152–14157.
- 64.** Ujjal K. Bhawal, Masaru Sugiyama, Yuji Nomura, Hiroki Kuniyasu, and Keiichi Tsukinoki. Loss of 14-3-3 Sigma Protein Expression and Presence of Human Papillomavirus Type 16 E6 in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg,* Oct 2008; 134: 1055 - 1059.

- 65.** Yuri Agrawal, Wayne M. Koch, Weihong Xiao, William H. Westra, Anna L. Trivett, David E. Symer, Maura L. Gillison. Oral Human Papillomavirus Infection Before and After Treatment for Human Papillomavirus 16–Positive and Human Papillomavirus 16–Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. June 2008.
- 66.** Ajay Kumar Chaudhary, Mamta Singh, Shanthi Sundaram, and Ravi Mehrotra. Role of human papillomavirus and its detection in potentially malignant and malignant head and neck lesions: updated review. *Head Neck Oncol*. 2009; 1: 22.
- 67.** Maura L. Gillison , Gypsyamber D'Souza , William Westra , Elizabeth Sugar , Weihong Xiao , Shahnaz Begum , and Raphael Viscidi. Distinct Risk Factor Profiles for Human Papillomavirus Type 16–Positive and Human Papillomavirus Type 16–Negative Head and Neck Cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. March 2008, 100: 407-420.
- 68.** Xuemei Ji , Ana S. Neumann , Erich M. Sturgis , Karen Adler-Storthz , Kristina R. Dahlstrom , John T. Schiller , Qingyi Wei , and Guojun Li. p53 codon 72 polymorphism associated with risk of human papillomavirus-associated squamous cell carcinoma of the oropharynx in never-smokers. *Carcinogenesis*. April 2008, 29: 875-879.
- 69.** Rodolfo Ocadiz-Delgado, Alberto Marroquin-Chavira, Ruth Hernandez-Mote, Concepción Valencia, M. Eugenia Manjarrez-Zavala, Luis Covarrubias, Patricio Gariglio. Induction of focal epithelial hyperplasia in tongue of young bk6-E6/E7 HPV16 transgenic mice. *Springer Science* 2009.
- 70.** William M. Mendenhall, Henrietta L. C. Logan. Human Papillomavirus and Head and Neck Cancer: review article. *Am J Clin Oncol* 2009;XX
- 71.** Solomon Jo, Agnes Juhasz, Keqiang Zhang, Christopher Ruel, Sofia Loera, Sharon P. wilczynski, Yun Yen, Xiyong Liu, Joshua Ellenhorn, Dean Lim, Benjamin Paz, George Somlo, Nayana Vora and Stephen Shibata. Human Papillomavirus Infection as a Prognostic Factor in

Oropharyngeal Squamous Cell Carcinomas Treated in a Prospective Phase II Clinical Trial. *Anticancer Reseach* 2009. 29: 1467-1474