

DETECCIÓN DE VPH Y EXPRESIÓN DE p53 EN CARCINOMA DE CABEZA Y CUELLO

DAYAHINDARA VEITÍA, ZORAYA DE GUGLIELMO, MAIRA ÁVILA, JUAN LIUZZI, MARÍA CORRENTI

INSTITUTO DE ONCOLOGÍA Y HEMATOLOGÍA. UCV CARACAS, VENEZUELA

TRABAJO GANADOR PREMIO "DR. GUSTAVO ROJAS MARTÍNEZ"

RESUMEN

El cáncer de cabeza y cuello ha sido frecuentemente asociado al abuso en el consumo de alcohol y tabaco, aunque existe un bajo porcentaje de casos que no presenta una historia de alcohol y/o tabaco conocida. Esto ha llevado a considerar la exposición a otros factores de riesgo como por ejemplo el virus de papiloma humano. Actualmente los oncólogos evalúan distintos marcadores oncogénicos, entre ellos la proteína p53, lo cual les permite realizar el pronóstico y diagnóstico más preciso. El objetivo de este estudio fue evaluar la infección de virus de papiloma humano en pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello mediante reacción de cadena de polimerasa, así como la detección de p53 por inmunohistoquímica. De 30 muestras evaluadas, 12 (40 %) resultaron positivas para la detección viral, de éstas el 58 % correspondía virus de papiloma humano tipo 11 (de bajo riesgo oncogénico), siendo la cavidad bucal la localización anatómica más afectada por la presencia del genoma viral. El p53 fue encontrado en 50 %, siendo la orofaringe la localización anatómica con mayor positividad para dicho marcador.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, cabeza, cuello, PCR, VPH, Inmunohistoquímica, p53.

SUMMARY

The head and neck cancer has been frequently associated with the alcohol and tobacco abuse consume, although there are a low percents of cases that have not an alcohol and tobacco history know. This has made to consider another risks exposure factors how for example, the human papilloma virus. At present the oncologist evaluate different oncogenic markers inside them like the p53, this permit to them realize a better prediction and the prognostic. The objective of this study was evaluating the human papilloma virus infection in the patients with diagnostic of head and neck carcinoma using the polymerase reaction chain, such as the detection of the p53 by the immunohistochemistry procedure. Of the 30 evaluated samples 12 (40 %) of them result positive to the human papilloma viral detection, of these the 58 % correspond to the human papilloma virus type 11 (low oncogenic risk), been the oral cavity the anatomic localization most affected by the viral genome presence. The p53 has been finding in the 50 %, the orofaringe was the anatomic localization who has most positive to the marker.

KEY WORDS: Cancer, head, neck, PCR, HPV, immunohistochemistry, p53.

INTRODUCCIÓN

E

l cáncer es un crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos. Puede originarse a partir de cualquier

Recibido: 07/07/2008 Revisado: 16/09/2008

Aceptado para publicación: 02/12/2008

Correspondencia: Dra. Dayahindara Veitía.

Instituto de Hematología y Oncología. UCV.

Telf: 0424-1616365. E-mail: dayah_20@hotmail.com

tipo de células y en cualquier tejido corporal, es una enfermedad de causa multifactorial que se ha clasificado en función del tejido y célula de origen. Existe un gran número de presentaciones, siendo tres los principales subtipos: los sarcomas, carcinomas (de células escamosas y adenocarcinomas), leucemias y linfomas ⁽¹⁾. El término cáncer de cabeza y cuello (CCC) abarca muchos tipos diferentes de cáncer cuya conducta en particular depende de dónde surge. Los CCC constituyen aproximadamente el 7 % de todas las neoplasias, siendo la cuarta causa de muerte por cáncer en el varón. Una característica de estos tumores es su heterogeneidad, que no sólo es histológica, sino que comprende distintos aspectos epidemiológicos y etiológicos, diferentes formas clínicas de presentación y progresión, así como diversos enfoques terapéuticos y pronósticos. Estudios realizados en España reportan unos 5 000 casos nuevos de carcinoma de cabeza y cuello por año ⁽²⁾.

Las estadísticas de la Sociedad Americana de Cáncer, calcula que se diagnosticaron aproximadamente 11 300 nuevos casos de estos tipos de cáncer, y que de estos 3 660 personas murieron por esta enfermedad durante el año 2007 en EE.UU ⁽¹⁾.

El tipo de CCC más común es el carcinoma de células escamosas, que aparece en las células que revisten el interior de la nariz, la boca y la garganta. Este es el octavo cáncer más común en el mundo con aproximadamente 620 000 pacientes diagnosticados con cáncer en la cavidad oral, nasofaringe, orofaringe y laringe por año ⁽³⁾. Otra característica de estos tumores, es la posibilidad elevada de curación cuando se encuentran en estadios precoces (estadios I y II), con cifras de curación próximas al 80 % ⁽²⁾.

Con respecto a la progresión de esta patogénesis, únicamente un 30 % - 35 % de los pacientes con CCC son diagnosticados en estadios precoces de la enfermedad. Cuando la enfermedad se diagnostica en fase avanzada localmente (estadios III y IV), la supervivencia

a los 5 años de progresión no alcanza al 30 % de los pacientes. Si la enfermedad se encuentra ya en fase metastásica, la supervivencia más allá de los dos años es excepcional. A pesar de lo crítico de la calidad de vida de estos pacientes, no existe en la actualidad ninguna prueba estandarizada para el diagnóstico precoz de estos tumores ⁽²⁾. Se ha demostrado que el abuso del consumo de tabaco y alcohol juega un papel fundamental en la carcinogénesis de todos los CCC, a excepción de los carcinomas de nasofaringe, registrándose un 90 % de prevalencia de estas prácticas de riesgo entre los pacientes con CCC. Sin embargo, los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello también han sido identificados en personas no fumadoras y no consumidoras de alcohol. En este sentido, recientes datos epidemiológicos y de laboratorio sugieren que la infección por virus papiloma humano (VPH) de la orofaringe puede predisponer a la génesis tumoral ⁽⁴⁾.

El VPH, pertenece a la familia *Papillomaviridae*, e infecta una gran variedad de vertebrados, incluyendo al hombre. Miden aproximadamente 50 nm, carecen de membrana y su cápside tiene forma icosaédrica compuesta por 72 capsómeros. El ADN de los VPH es circular, de doble cadena, y contiene aproximadamente 8 000 pb. Su genoma consta de secuencias codificadoras ORF's que codifican para proteínas estructurales (ensamblaje viral y producción de partículas infecciosas) y no estructurales (regulación de las funciones virales) ⁽⁵⁾, (Figura 1).

Los VPH se clasifican en dos grandes grupos dependiendo del potencial que tienen para provocar lesiones cancerígenas: alto (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52 y 56) y bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 53, 54 y 57). Sólo una pequeña parte de las infecciones crónicas por VPH evolucionan a neoplasia y cáncer. Se han encontrado algunos factores de riesgo asociados al VPH que son determinantes para que ocurra tal evolución, siendo las más importantes la conducta sexual, el sistema inmunológico deprimido, el uso prolongado de anticonceptivos, el consumo de

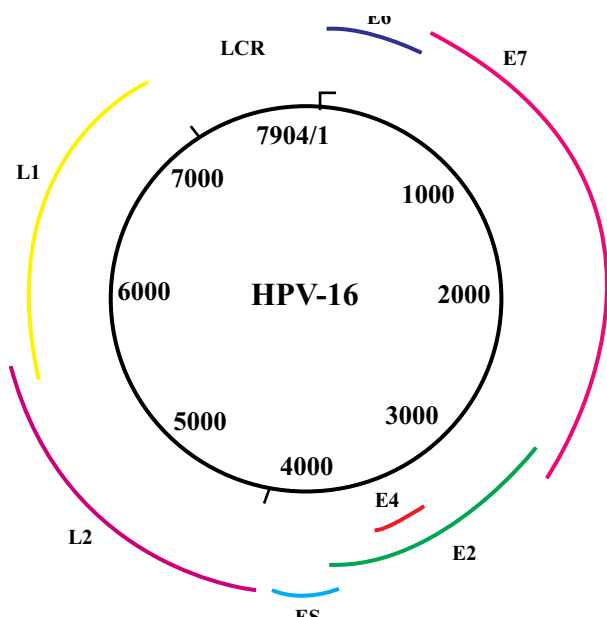


Figura 1. Genoma del VPH.

tabaco y la coinfección con otros patógenos como VH1 (Virus herpes 1) y VH2 (Virus herpes 2) y *Chlamydia trachomatis* ⁽⁵⁾.

El VPH tiene la capacidad de infectar el epitelio escamoso de la piel y la mucosa, por lo que puede estar involucrado en casos de neoplasmas malignos, así como en importantes cánceres humanos, particularmente en tumores de cérvix, región ano genital, piel, y en tumores de cabeza y cuello ⁽⁶⁾.

Ha sido reportado que un 50 % de los pacientes diagnosticados con carcinomas de la cavidad oral eran VPH positivos, presentándose una mayor proporción en la población femenina; y aunque una asociación entre el cáncer oral y el VPH no ha sido comprobada, las evidencias acumuladas apuntan a que la infección con VPH puede jugar un papel importante en la carcinogénesis oral ⁽⁷⁾.

También se ha demostrado que la lesión más frecuente detectada en la cavidad bucal es el papiloma de células escamosas, encontrándose con mayor frecuencia los tipos 6 y 13, de bajo

riesgo oncogénico, en lesiones benignas, aunque también al tipo 16, de alto riesgo, en una de las pacientes ⁽⁸⁾.

Actualmente los oncólogos cuentan con herramientas importantes que les sirven de apoyo en el diagnóstico y pronóstico sobre la evolución de este tipo de cánceres y, además, contribuyen a un mejor enfoque del tratamiento. Éstas se basan en la detección de sustancias producidas o inducidas por las células neoplásicas que reflejan el crecimiento y/o actividad de las mismas, conocidas como marcadores de pronóstico y entre los cuales se encuentran la proteína p53.

El gen p53, también llamado el “guardián del genoma”, se ubican en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13) y codifica una fosfoproteína nuclear de 53 KDa, esencial para inducir la respuesta de la célula ante el daño del ADN, deteniendo el ciclo celular en caso de mutación ⁽¹⁾. La proteína p53 está formada por 393 aminoácidos y 3 dominios

- Dominio de activación de factores de transcripción.
- Dominio que reconoce la secuencia específica del ADN (dominio central para el reconocimiento de las secuencias específicas del ADN).
- Dominio carboxilo terminal.

La proteína p53 cumple tres funciones importantes:

- Detención del ciclo celular en el punto de control G1/S si reconoce el daño en el ADN para evitar su replicación.
- Activación de proteínas de reparación del ADN cuando reconoce daño o mutación en el ADN.
- Iniciación de la apoptosis si el daño en el ADN es irreparable para evitar así la proliferación de las células que contienen ADN anormal.

Se han realizado diferentes estudios en los que se reportan distintos valores de expresión

para p53. En carcinoma y laríngeo se registran porcentajes de positividad de 70 % y 50,1 %, respectivamente ^(9,10). En un estudio donde se analizó p53 como factor de pronóstico, el 68 % de los casos resultó positivo para el marcador ⁽¹¹⁾. Otros autores encontraron una positividad de 54 8.% en pacientes diagnosticados con carcinoma epidermoide de laringe e hipofaringe ⁽¹²⁾. A pesar de la heterogeneidad de estos datos, los métodos inmunohistoquímicos son considerados en la actualidad como altamente sensibles para la detección de p53 ⁽¹³⁾.

Considerando el papel que el VPH puede tener en el CCC y el valor diagnóstico y pronóstico de la proteína p53, este trabajo tuvo como objetivo detectar la infección por VPH y evaluar la expresión de p53 en muestras de CCC, asociando los resultados obtenidos con el grado de diferenciación y el estadio del tumor.

MÉTODOS

La muestra analizada está constituida por 30 biopsias de tumores de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, recolectadas por el Dr. Juan F. Liuzzi en el Hospital Oncológico "Padre Machado".

Estas biopsias, fueron cortadas en dos secciones, una de ellas fue congelada para análisis por biología molecular (detección y tipificación del VPH y la otra sección fue embebida en parafina para el diagnóstico histopatológico y la evaluación inmunohistoquímica en el laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología UCV.

ENSAYOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EXTRACCIÓN DE ADN

Se incubaron las biopsias en baño de María a 45° C con proteinasa k (100ml/mL) y buffer de lisis (100mM de TRIS HCL, pH8+0,1 % de sarcosina), durante 8 horas; posteriormente se

centrifugaron las muestras con cloroformo: fenol isoamílico, se tomó la fase acuosa y se centrifugó con cloroformo. El ADN se precipitó con etanol (100 %) y buffer acetato de amonio 3M, a - 20° C durante 1 hora. Luego, se sedimentó por centrifugación, y se re suspendió en 50 mL de agua libre de nucleasas y se cuantificó espectrofotométricamente.

DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN VIRAL MEDIANTE REACCIÓN DE CADENA DE POLIMERASA (PCR)

Se agregaron 5 μ L del ADN blanco a la mezcla de RCP, consistente en: buffer, enzimas, dntps, etc. Los iniciadores MY09/MY11 permiten amplificar una región conservada del gen L1 que codifica para una proteína de la cápside viral, generando un fragmento de 450 pb. Esta prueba incluía la amplificación del gen de la b- globina, obteniéndose un producto de 268 pb, el cual fue utilizado como control interno. Los casos que resultaron positivos fueron tipificados utilizando el Kit Multiplex PCR de Maxim Biotech, Inc[®] el cual detecta simultáneamente 5 genotipos virales (tipos 6 y 11 de bajo riesgo oncogénico, 16,18 y 33, de alto riesgo oncogénico). Los amplificados fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % en buffer TBE 1X, teñido con bromuro de etidio y expuesto a la luz UV. Por último se fotografiaron para su registro permanente.

ENSAYO INMUNOHISTOQUÍMICO

Para realizar el estudio inmunohistoquímico, los cortes fueron desparafinados y rehidratados siguiendo los procedimientos histológicos habituales. Se realizó exposición del antígeno con buffer citrato, luego se bloqueó la peroxidasa endógena utilizando peróxido de hidrógeno al 3 % en metanol (estuche HRP Sistem DAKO Cytomation)[®].

Las secciones se incubaron con el anticuerpo primario monoclonal dirigido contra p53. La dilución empleada para el anticuerpo primario fue 1:25. Se realizaron incubaciones con un anticuerpo secundario biotilado (BHAM horse anti-mouse) con una dilución de 1:30. Se incubaron posteriormente con el complejo ABC elite VECTASTAIN. Se reveló utilizando AEC y las secciones fueron coloreadas con hematoxilina de Meyer y diferenciado con agua corriente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar la asociación de la presencia del VPH, así como la expresión de p53 con el estadio y grado de diferenciación del tumor, en las muestras estudiadas, se aplicó una prueba de Chi cuadrado (X^2), utilizando como criterio para el rechazo de la hipótesis nula un P valor $< 0,05$. Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SPSS de Windows versión 13.0®.

RESULTADOS

En este estudio, se evaluaron 30 pacientes, de los cuales 80 % correspondió al género masculino y 20 % al género femenino, con un promedio de edad de $61,43 \pm 13,71$ años; todos los pacientes tenían un diagnóstico histológico confirmado de carcinoma de células escamosas, cuya distribución reflejó que las localizaciones anatómicas más frecuentes del tumor fueron la laringe y la orofaringe (33,33 % cada una), seguidas de los senos paranasales y la cavidad bucal (16,66 % cada una). El 40 % de los pacientes se encontraba en grado 2 y el 43,3 % en estadio IVa. De todos estos casos estudiados un 76,66 % poseían el hábito de fumar mientras que un promedio de 66,66 % consumían alcohol.

EVALUACIÓN MOLECULAR MEDIANTE PCR

En la serie estudiada, se consideraron como positivas aquellas muestras en las que se

observó la banda de 450 pb correspondiente a la amplificación del gen L1 de la cápside viral. En todas las muestras se observó la banda de 268 pb correspondiente a la amplificación del gen de la B- globina, lo que indica la buena calidad del ADN (Figura 2). El ADN viral fue detectado en 40 % de los casos analizados, presentándose con más frecuencia el genotipo 11, de bajo riesgo oncogénico, detectado en 58,3 % de los pacientes positivos en la detección. En cuanto a la localización anatómica del CCC y la detección del genoma viral se obtuvo que el 40 % de los carcinomas de laringe y el 80 % de los carcinomas de la cavidad bucal presentaron infección por VPH. Al aplicar el contraste de independencia, no se encontraron evidencias suficientes que permitan concluir que existe asociación lineal entre la presencia de VPH y el estadio del tumor en el conjunto de datos analizados ($0,734 > 0,005$).

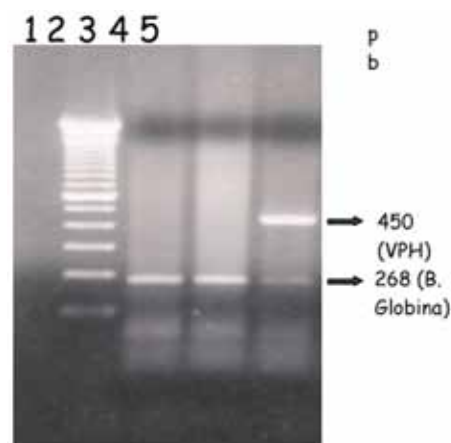


Figura 2. Detección del VPH: línea 1: control negativo; línea 2: PM; línea 3 y 4: pacientes negativos; línea 5: paciente positivo para VPH.

EVALUACIÓN POR INMUNOHISTOQUÍMICA

El 50 % de los pacientes con CCC evaluados resultó positivo para la detección de p53,

encontrándose que la localización anatómica que presentó mayor frecuencia fue la orofaringe con un 40 %, seguido por la laringe con un 26 %, el seno paranasal con 20 % y la cavidad bucal con 13 %. Además, es importante destacar que el 60 % los tumores inmunopositivos se encontraban en grado 3, 53 % en el estadio IVA y 66 % en estadio IVB (Cuadro 1). La mutación sólo se evidenció en células tumorales y no se observó en células epiteliales ni en células normales. Al aplicar el contraste de independencia, no se encontraron evidencias suficientes que permitan concluir que existe asociación lineal entre la expresión de p53 y el grado de diferenciación del tumor en el conjunto de datos evaluados ($0,717 > 0,05$).

Cuadro 1. Inmunopositividad para cada uno de los marcadores tumorales evaluados en pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello según el grado de diferenciación y el estadio del tumor

Todos los tumores	p53 (%)	VPH (%)		p53 (%)	VPH (%)
Grado			Estadio		
1	3/7 (42)	5/7	1	2/2(100)	1/2 (50)
n= 7		(71,4)	n= 2		
2	5/12	5/12	2	0	1/2 (50)
n= 12	(41,6)	(41,6)	n= 2		
3	6/10 (60)	2/10	3	4/10	4/10
n= 10		(20)	n= 10	(40)	(40)
			4a		6/13
			n= 13	7/13 (53)	(46)
			4b	2/3	0
			n= 3	(66,6)	

DISCUSIÓN

En un estudio realizado en pacientes con carcinomas de cabeza y cuello ⁽⁶⁾ se indicó que la incidencia de esta malignidad se encuentra

fuertemente ligada al abuso en el consumo de alcohol y/o tabaco. Sin embargo, entre el 15 % - 20 % de los pacientes con CCC no tienen una historia de alcohol o tabaco conocida; este grupo puede incluir una gran porción de adultos jóvenes y mujeres, con posible exposición a otros factores contribuyentes como, por ejemplo, algunos virus, entre los cuales se puede destacar al VPH, el cual ha sido asociado recientemente con el cáncer de cabeza y cuello ^(14,15).

El VPH está presente en diferentes cánceres humanos, particularmente en tumores de cérvix, región ano genital, piel y tumores de la cabeza y el cuello ^(16,17), lo que hace que se relacione cada vez más con la etiología del carcinoma epidermoide originado en las mucosas de cabeza y cuello. Aunque el mecanismo de transmisión y la relación causa efecto en esta localización no están aún esclarecido ^(18,19), diversos autores han sugerido que estos virus pueden comportarse como un factor de riesgo en el desarrollo de estos cánceres y, considerando además que la infección por VPH es causada principalmente por contacto sexual, no sería difícil que llegara a la cavidad bucal a través de sexo oral, entre otras vías. En un estudio realizado donde se evaluaron 60 pacientes femeninas con lesiones en la región cérvico uterina, se detectó ADN de VPH en 55 % ⁽²⁰⁾. De estos pacientes positivos, el 45 % presentaba infección por VPH de alto riesgo, mientras que un 12 % tenía infección con tipos de bajo riesgo oncogénico. Otros autores ⁽²¹⁾ realizaron la detección de VPH en lesiones intraepiteliales escamosas de alto (LIEag) y bajo (LIEbg) grado, correspondientes a 16 % y 83 % respectivamente, y detectaron el genoma viral en 23 % de los pacientes, donde los tipos 16, 11 y 6 fueron encontrados en los LIEbg y los tipos 16 y 6 en los LIEag. Por otro lado, en estudios en carcinomas de células escamosas de la cavidad bucal, se reportó 50 % de positividad para la presencia del genoma de VPH de intermedio y alto riesgo oncogénico ⁽²²⁾.

En este trabajo se evaluaron 30 pacientes,

de los cuales 80 % correspondió al género masculino y 20 % al género femenino, con un promedio de edad de $61,43 \pm 13,71$ años, estos datos son similares a los reportados por otros autores, quienes diagnosticaron unos 5000 casos de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello por año, donde la gran mayoría se presentó en varones, aunque hay una proyección a futuro que estima un aumento en el número de casos en el género femenino, debido a la más reciente incorporación de las mujeres a prácticas de riesgo como el consumo de alcohol y tabaco⁽²⁾. En relación con la edad, los mismos autores reportaron que la incidencia de CCC es mayor a partir de los 50 años, aunque también puede encontrarse a partir de la tercera década de vida.

Se detectó la presencia del genoma de VPH en un 40 %, presentándose el tipo 11 con más frecuencia, en un 58,3 % (7/12) de los pacientes infectados; al comparar esta cifra con la reportada en la literatura, puede considerarse como un valor intermedio, diversos autores han reportado que dependiendo de las variaciones geográficas, el ADN del VPH se encuentra en CCC con un rango de 11 % a 83 % y que probablemente la población menos afectada por la infección con el virus sea aquella con cáncer de laringe, siendo los sitios más afectados la orofaringe y la cavidad bucal^(23,24).

En el presente trabajo, se obtuvieron resultados similares, en cuanto a la localización del CCC y la detección del genoma viral, donde el 40 % de los carcinomas de laringe y el 80 % de los carcinomas de la cavidad bucal presentaron infección con VPH.

Estudios previos han reportado que el VPH tipo 16 es el que se encuentra con más frecuencia en tumores de carcinoma de cabeza y cuello (en 84 % de los VPH positivos). Sin embargo, un estudio realizado recientemente en CCC, reportó la presencia de VPH tipo 6, el cual se encontraba en forma episomal e integrada en el carcinoma de amígdala⁽²⁵⁾. A pesar de que los VPH de bajo riesgo (tipos 6 y 11) se

encuentran raramente en tumores malignos, han sido detectados ocasionalmente en carcinoma vulvar, carcinoma cervical y papilomas laríngeos implicados en transformaciones malignas⁽²²⁻²⁴⁾. Otros investigadores han reportado que el carcinoma laríngeo en particular, el VPH-6 se encontraba integrado al cromosoma 10q24, y que la integración del VPH-6 en este sitio, podría crear “brechas o rupturas” que interrumpirían la integridad del genoma de la célula, afectando a ciertos protoncogenes y a genes relacionados con la división celular⁽¹⁴⁾.

Por otra parte, también se ha reportado la detección de VPH tipo 11 en dos carcinomas laríngeos, aunque en su mayoría estas lesiones se asocian a VPH de alto riesgo⁽¹⁷⁾. Igualmente, se ha encontrado VPH tipo 6 y 11 en carcinoma bucal y laríngeo⁽¹⁵⁾. En otro donde se evaluaron lesiones epiteliales escamosas benignas de la cavidad oral se detectó el genoma viral de bajo riesgo oncogénico en 90 % de la muestra y sólo un paciente presentó infección mixta con tipos de alto y bajo riesgo oncogénico; los autores explican que la infección mixta con VPH de bajo riesgo pudiera darle características de persistencia a la infección, creando la condición propicia para que las células pudieran ser afectadas por otros factores de riesgo, incluyendo la infección por otros virus con potencial oncogénico, desencadenando cambios en las células que inicien un proceso de transformación que con el transcurrir del tiempo avancen hacia una lesión premaligna y posteriormente, con la recurrencia del uso del cigarro y el alcohol, culmine en un cáncer⁽⁸⁾.

Con respecto a p53, existen reportes donde se le menciona como la mutación más frecuentemente encontrada en tumores humanos, en los tipos de cáncer más estudiados como, por ejemplo, el cáncer cervical, la presencia de p53 en el núcleo de las células es frecuente y los resultados son heterogéneos, ya que la expresión varía entre los diferentes estudios de un porcentaje bajo, hasta un 62 %⁽²⁰⁻²⁵⁾. Estos resultados

concuerdan con los reportados en CCC, donde algunos investigadores han encontrado 70 % de positividad para p53 en carcinoma epidermoide de laringe ⁽⁹⁾. En otros estudios ⁽¹⁰⁾, se encontró un 68 % de pacientes p53 positivo, mientras otros autores ⁽¹²⁾, observaron un 54,8 % de positividad para la misma mutación en pacientes diagnosticados con carcinoma epidermoide de laringe e hipofaringe.

En relación con la evaluación de p53 respecto a la localización anatómica y grado del tumor, es importante resaltar que de los 13 tumores que se encontraban en estadio IVa, el 46 % fue positivo para el genoma del virus de papiloma humano, seguido por 4 de 10 (40 %) en estadio III, lo que pudiera sugerir una mayor presencia del genoma viral en lesiones que han progresado y que presentan un peor pronóstico. También hay que destacar que en estos estadios la infección por VPH coincide con una mayor expresión de p53. Aunque no se encontró una relación estadísticamente significativa entre la detección de VPH y/o p53 con la patología en estudio, los resultados obtenidos sugieren que la presencia del virus pudiera relacionarse con el desarrollo o la progresión de la malignidad, considerando que fue hallado principalmente en estadios avanzados, coincidiendo además, con la mayor expresión de p53.

Este trabajo de investigación puede considerarse como pionero en Venezuela, sentando las bases para que en un futuro no muy lejano pueda continuarse esta misma línea con un mayor número de muestras, así como con la evaluación de otros marcadores moleculares, abriendo las puertas para un mejor entendimiento de la progresión de estos tumores.

Los resultados obtenidos en este trabajo, nos permiten concluir que el género masculino presentó una mayor incidencia de CCC, el grupo con mayor incidencia fue aquel que presentaba el hábito de fumar y/o consumo de alcohol. Donde las localizaciones anatómicas más frecuentes del CCC fueron la laringe y la orofaringe.

Por su parte, el VPH fue detectado en 40 % de los casos evaluados, encontrándose mayormente en la cavidad bucal y laringe, siendo el genotipo 11, de bajo riesgo oncogénico, el más frecuentemente encontrado, aunque también se detectaron infecciones mixtas con virus de bajo y alto riesgo oncogénico.

Con respecto al marcador oncogénico p53, este se encontró mutado en un alto porcentaje de los tejidos evaluados y fue mayormente expresado en orofaringe y laringe, y en grados avanzados del tumor.

REFERENCIAS

1. Li W, Thompson CH, O'Brien CJ, McNeil EB, Scolyer RA, Cossart YE, et al. Human papillomavirus positive predicts favorable outcome for squamous carcinoma of the tonsil. Elsevier. 2003;1606:553-558.
2. Gillison ML, Kosh WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wul H, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and subset of head and neck cancers. J Nat Cancer Inst. 2000;92:709-720.
3. De Petrini M, Ritta M, Schena M, Chiusa L, Campisi P, Giordano C, et al. Head and neck squamous cell carcinoma: Role of the human papillomavirus in tumor progression. The New Microbiol. 2006;29:25-33.
4. Correnti M, Rievera H, Cavazza ME. Detection of human papillomavirus of high oncogenic potential in oral squamous cell carcinoma in a Venezuelan population. Oral Diseases. 2004;10:163-166.
5. Golusinski W, Szmaja Z, Olofsson, Biczysko W,

- Kryngier-Stojalozowzka A, Majewski P. Retrospective analysis of selected tumor markers (p53, PCNA, Ki-67, DNA ploidy) and ultra structured in patients with larynx carcinomas. *HNO*. 1998;46:233-240.
6. Pruneri G, Pignataro L, Carboni N, Ronchetti D, Cesana BM, Ottaviani A, et al. Clinical relevance of p53 and bcl-2 protein over-expression in laryngeal squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer*. 1998;79:263-268.
 7. Kouvidou Ch, Kanavaros P, Papaioannou D, Stathopoulos E, Sotsiou F, Datsiris G, et al. Expression of bcl-2 and p53 proteins in nasopharyngeal carcinoma. Absence of correlation with the presence of EBV encoded EBER1-2 transcripts and latent membrane protein-1. *J Clin Pathol Mol Pathol*. 1995;48:M17-M22.
 8. Xie M, Xiao J, Tao Z, Luo JA. Preliminary study on p53 gene expression and infection of human papillomavirus in laryngeal squamous cell carcinoma. *Human I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao*. 1997;22:209-211.
 9. Ringstrom E, Peters E, Hasegawa, Posner M, Liu M, Kelsey KT. Human Papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res*. 2002;8:3187-3192.
 10. Brandsma J, Abramson A. Association of papillomavirus with cancer of head and neck. *Arch Otolaringol Head Neck*. 1989;115:621-625.
 11. Tyan Yeu-San, Liu Shih-Tung, Ong Wen-Rou, Chen Mong-Liang, Shu Chih-Hung, Chang Yu-Sun. Detection of Epstein Barr virus and human papillomavirus in head and neck tumors. *J Clin Microbiol*. 1993;31:53-56.
 12. Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, et al. Human papillomavirus and oral cancer. The international agency for research on cancer multicenter study. *J Nat Cancer Inst*. 2003;1772-1783.
 13. Gallegos-Hernández J, Paredes-Hernández E, Flores Díaz R, Minauro- Muñoz G, Apresa-García T, Hernández-Hernández DM. Virus de papiloma humano asociado con cáncer de cabeza y cuello. *Cir Ciruj*. 2007;75:151-155.
 14. Correnti M, Cavazza ME, Alfonso B, Lozada C. La infección por el virus de papiloma humano. Un problema de salud pública en Venezuela. Disponible en: URL: <http://www.vitae.ucv.ve/>.
 15. Graterol I, Finol H, Correnti M. Virus de papiloma humano en lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) de cuello uterino. Tipificación y ultraestructura. *Rev Venez Microbiol*. 2006;26:89-94.
 16. Do Sacramento PR, Babeto E, Colombo J, Cabral Ruback MJ, Bonilha JL, Fernandes AM, et al. The prevalence of human papillomavirus in the oropharynx in healthy individuals in a Brazilian population. *J Med Virol*. 2006;78:614-618.
 17. Mineta H, Ogino T, Amano HM, Ohkawa Y, Araki K, Takebayashi S, et al. Human papillomavirus (HPV) type 16 and 18 detected in head and neck squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*. 1998;18:4765-4768.
 18. Snijders PJ, Steenbergen RD, Top B, Scott SD, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Analysis of p53 status in tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus. *J Gen Virol*. 1994(75);2769- 2775.
 19. Turazza E, Lapeña A, Sprovieri O, Torres CP, Gurucharri C, Maciel A, et al. Low-risk human papillomavirus types 6 and 11 associated with carcinomas of the genital and upper aero digestive tract. *Act Obstet Gynecol Escand*. 1997;76:271-276.
 20. Lane DP, Crawford LV. T Antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cell. *Nature*. 1979;279:261-263.
 21. Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell*. 1992;70:523-526.
 22. Tjalma W, Weyler J, Bogers J, Pollefiel C, Bay Marc, Goovaerts G, et al. The importance of biological factors (bcl-2, bax, p53, PCNA, MI, HPV and angiogenesis) in invasive cervical cancer. *J Obstet Gynecol*. 2001;223-230.
 23. Crawford RA, Caldwell C, Iles RK, Lowe D, Shepherd JH, Chard T. Prognostic significance of the bcl-2 apoptotic family of proteins in primary and recurrent cervical cancer. *Br J Cancer*. 1998;78:210-214.
 24. Borresen AL, Helland A, Nesland J, Holm R, Trope C, Kaern J. Papillomavirus, p53, and cervical cancer. *Lancet*. 1992;339:1350-1351.
 25. Benjamin I, Saigo P, Finstad C, Takahashi H, Federici M, Rubin SC, et al. Expression and mutational analysis of p53 in stage IB and IIA cervical cancers. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175:1266-1271.