

# CARCINOMA ESCAMOSO Y VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO. ACTUALIZACIÓN

SQUAMOUS CELL CARCINOMA AND HUMAN PAPILLOMAVIRUS. UPDATING

por

JOSÉ LÓPEZ LÓPEZ \*

XAVIER ROSELLÓ LLABRÉS \* ENRIC JANÉ SALAS \*

ANDRÉS BLANCO CARRIÓN \*\* EDUARDO CHIMENOS KÜSTNER \*\*\*

BARCELONA

**RESUMEN:** Se realiza una revisión sobre el estado actual del carcinoma escamoso oral y su relación con el virus del papiloma humano. Se repasan los diferentes métodos de detección del virus y las diferentes enfermedades orales en las que se implica. Finalmente se actualizan los diferentes aspectos genéticos que lo implican en la etiopatogenia de las lesiones premalignas y malignas.

**PALABRAS CLAVE:** Papilomavirus humano, cáncer oral, carcinoma escamoso, cavidad oral.

**SUMMARY:** A review on current status of squamous carcinoma cell and its relationship with the human papilloma-virus is done. We review the different methods of virus detection and the different oral diseases that it is involved with. Finally, we update the different genetic aspects that involve it in the etiopatogenia of the pre-malign and malign lesions.

**KEY WORDS:** Human papillomavirus, oral cancer, squamous carcinoma cell, oral cavity.

## CARCINOMA EPIDERMOIDE

El cáncer bucal representa el 3% del total de nuevos casos de cáncer, afectando a más de 200.000 personas en el mundo <sup>(1)</sup>. La forma más prevalente corresponde al carcinoma de células escamosas, con una prevalencia del 80 al 95% de todos los cánceres que se encuentran en la cavidad oral <sup>(2)</sup>. En la mayoría de los casos comienza como una lesión superficial de la mucosa oral pero el diagnóstico suele retrasarse por diferentes motivos <sup>(3,4)</sup>.

La incidencia del carcinoma epidermoide es variable dependiendo de las diferentes áreas geográficas; países como Japón, Noruega o Gran Bretaña presentan las

cifras más bajas, frente a otros como Brasil, Puerto Rico, Francia, o la India que presentan las más altas <sup>(5)</sup>. En España la incidencia del cáncer de la cavidad oral (excluido el nasofaríngeo) se cifra en 12-15 por 100.000 habitantes/año en hombres y 2-4 en mujeres, representando el 2-3% de todas las muertes por cáncer en nuestro país <sup>(6)</sup>.

Los datos epidemiológicos aportan que el cáncer oral es más común en hombres que en mujeres con una prevalencia de 2:1 y que raramente aparece antes de los 40 años de edad <sup>(7,8)</sup>. Si bien la mayor parte de autores confirman que el acercamiento de incidencias entre hombre y mujeres es muy manifiesto, diferentes estudios de nuestro país cifran todavía una diferencia marcada, presentando proporciones desde 4,3:1 en estudios de la Comunidad Valenciana y Andaluza <sup>(9,10)</sup>, hasta el 9,8:1 obtenido en diversos estudios del País Vasco <sup>(11)</sup>.

(\*) Profesor Asociado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Barcelona.

(\*\*) Profesor Asociado de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela.

(\*\*\*) Profesor Titular de la Facultad de Odontología de la Universidad de Barcelona.

Los carcinomas desarrollados en personas jóvenes se han descrito como histológicamente menos diferenciados, comportándose más agresivamente, siendo más difícil su control y con tasas de supervivencia muy bajas. Por el contrario, en personas de más de 40-45 años el índice de supervivencia a los 5 años, para personas de raza blanca, oscila alrededor del 50%, mientras que en personas de raza negra ésta descende hasta el 33%<sup>(8,12)</sup>. En el tema de la aparición y desarrollo del cáncer, el carcinoma oral entre ellos, se han descrito diferentes factores carcinogénicos que van a influir en el inicio y/o promoción de las células tumorales. Dentro de los mecanismos globales de carcinogénesis se reconocen dos fases o periodos; un periodo de inicio, en el que actuarían los factores de transformación neoplásica, y un periodo de promoción, en el que se posibilitaría que el tipo celular transformado entrara en una situación de crecimiento celular tolerado. En ocasiones existen factores de inicio y de promoción distintos, si bien en otras un mismo agente carcinógeno actúa como iniciador y promotor a la vez<sup>(13,14)</sup>.

En el caso particular de la cavidad oral se conocen algunos de los factores relacionados con la aparición del carcinoma epidermoide. De estos factores los más importantes son el tabaco y el alcohol<sup>(8,15-18)</sup>. Está demostrado que el riesgo de padecer cáncer oral en personas fumadoras y/o bebedoras se incrementa teniendo en cuenta la cantidad consumida y el tiempo que lleva consumiéndola, debido al alto número de agentes car-

cinógenos que presentan en su composición<sup>(19-21)</sup>. Si bien el tabaco ocupa un lugar fundamental, sólo o en unión al alcohol<sup>(20)</sup>, (Tabla 1); todavía quedan aspectos sin resolver en lo que se refiere a la manera concreta de fumar<sup>(22)</sup>.

Otros factores que también se han relacionado con el cáncer bucal, presentando resultados dispares los distintos autores, son: la radiación solar<sup>(23)</sup>, los irritantes locales de la mucosa<sup>(24)</sup>, infecciones producidas por hongos<sup>(25)</sup>, diferentes grados de sepsis oral<sup>(14,20)</sup>, consumo de colutorios<sup>(26)</sup> y en los últimos años se viene estudiando ampliamente la relación existente entre diversos virus, entre los cuales se encuentra el virus del papiloma (HPV). La relación del HPV está clásicamente determinada para el cáncer de cérvix uterino<sup>(15,27-29)</sup> y algunos estudios lo implican en los carcinomas anales<sup>(29)</sup>.

En el campo genérico de la oncogénesis viral se ha determinado que la mayoría de virus DNA son capaces de inducir tumores animales, mientras que únicamente la familia de los Retroviridae, dentro de los que contienen RNA es capaz de hacerlo (Tabla 2). Aspectos estudiados recientemente por TEMIN y BALTIMORE, determinando que los retrovirus oncógenos precisan para su replicación, a diferencia de otros virus RNA, un intermediario que contiene DNA, sintetizado por un transcriptasa inversa (DNA polimerasa RNA-dependiente); así pues parece ser que la oncogénesis es un atributo del DNA vírico<sup>(39)</sup>.

## VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV)

El primer virus del papiloma fue descubierto por SHOPE en 1932 mediante la inoculación de extractos de verruga y la producción de las mismas entre diferentes especies de conejos<sup>(30)</sup>.

El papilomavirus humano es un pequeño virus, que pertenece al género Papilomavirus y que clásicamente se agrupaba en la familia de los Papoviridae<sup>(31-32)</sup>; hoy en día, estudios genéticos y moleculares apuntan que deberían considerarse una familia distinta y única<sup>(30,33)</sup>.

Presenta simetría icosaédrica con 72 capsómeros y una doble cadena de genoma ADN de 7904 pares de bases; no presenta envoltura externa y su tamaño oscila de 45 a 55nm, presentando aspecto esférico al microscopio electrónico<sup>(34,35)</sup>. El análisis de la cápside demuestra la existencia de dos familias de proteínas estructurales distintas, una mayor que representa el 80% y otra menor que es el 20% restante y que parece ser altamente tipoespecífica, pudiendo jugar un importante en la tipificación inmunohistoquímica de la infección por VPH<sup>(30)</sup>.

La estructura del genoma del virus del papiloma, que es igual para todos los tipos, se divide, desde el punto de vista de su función, en dos grandes zonas o dominios, la región temprana (*Early region*) que representa el 70% del genoma y la región tardía (*Late region*). De los diez marcos de lectura abiertos existentes en el genoma (*open-reading frames -ORFs-*), ocho (E1-E8), se encuentran en la región temprana y dos (L1,L2) en la

región tardía<sup>(30,36,37)</sup>. Cada uno de estos marcos tiene diferentes funciones<sup>(38)</sup> (Tabla 3). La transcripción tiene lugar sobre una sola cadena. En la infección productiva (verrugas del conejo de cola blanca, por ejemplo), se transcribe la totalidad del genoma; en la infección no productiva (verrugas del conejo doméstico), solo se transcribe la región temprana. El comienzo y la terminación de la transcripción están separados por un área de unas 1.000 pares de bases que contienen secuencias reguladoras de la transcripción y de las replications, recibe diferentes nombres, siendo los más utilizados NCR (*non coding region*) o LCR (*long control region*)<sup>(30,36,37)</sup>.

En la actualidad se reconocen hasta 75 tipos diferentes de papilomavirus, cifras que varían periódicamente si tenemos en cuenta las últimas revisiones<sup>(8,33,39)</sup>. Afectan diferentes zonas del cuerpo humano, pudiendo, en algún caso, encontrarse localizados en diferentes zonas<sup>(8,38-40)</sup> y son especie específicos, aspectos que han sido utilizados en ocasiones para su clasificación (Tabla 4)<sup>(38)</sup> (Tabla 5)<sup>(32,38)</sup>. Los virus del papiloma no se definen en función de su serología, como en otros virus, sino de la homología de DNA: los tipos diferentes tienen menos del 50% de homogeneidad, como ya hemos mencionado los genomas de los diferentes tipos tienen la misma organización general, pero pueden diferenciarse ampliamente en cuanto a la longitud, secuencias de DNA y tipo de enfermedades en las que están implicados<sup>(30)</sup>.

Revisando la literatura se han podido relacionar con lesiones orales sólo 16 tipos de HPV (1, 2, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 30, 31, 32, 33, 35 y 57)<sup>(8,41)</sup>, la mayoría son los denominados HPV de bajo riesgo (6, 11, 13, 32) los cuales se asocian a lesiones papilomatosas benignas de la cavidad oral (papiloma escamoso, condiloma acuminado, verruga vulgar e hiperplasia epitelial focal), que tienen un potencial de malignización muy bajo. Por el contrario, existen los denominados HPV de alto riesgo (31, 33, 35), y especialmente el 16 y 18<sup>(33,51,52)</sup> los cuales presentan un elevado potencial de malignización, siendo frecuentemente asociados a patologías como el carcinoma escamoso o la displasia epitelial en diferentes zonas de la economía, y entre ellas la boca<sup>(8,18,40,53-57)</sup>.

Es importante destacar la presencia de estos geno-

### Detección del HPV en las lesiones epiteliales

La detección del papilomavirus en los diferentes tejidos se puede determinar, tal y como indicaba SCULLI en 1985<sup>(61)</sup>, en base a cuatro elementos: microscopio óptico<sup>(62,63)</sup>, microscopio electrónico<sup>(62,63)</sup>, técnicas de inmunoensayo<sup>(64)</sup> (detectan antígenos) y técnicas de hibridación (detectan DNA viral)<sup>(65)</sup>.

La *microscopia óptica* presenta una proliferación epitelial caracterizada por gránulos de queratohialina de gran tamaño en el citoplasma de las células del estrato granuloso<sup>(62,63)</sup>; también se presenta acantosis, en ocasiones hiperqueratosis y/o papilomatosis. En ocasiones podemos apreciar colilocitosis (células con vacuolización, núcleo picnótico y halo perinuclear)<sup>(61,64)</sup>.

Grupo de factores de riesgo ligados al cáncer. (Weisburger, 1979)	
Factor de Riesgo	% total de cáncer
Fact. Alimentación	35
Tabaco	30
Fact. mal conocidos	16
Fact. genéticos	6
Virus	5
Fact. laborales	4
Radiación actínica	3
Alcohol	3
Contaminación ambiental	4
Aditivos alimenticios	1
Fármacos	1
(National Institute of Cancer 1984)	

TABLA 1

Tabla del Instituto Nacional del Cáncer que clasifica los principales factores de riesgo ligados al carcinoma oral. Tomada de García-Pola MJ, pág. 105<sup>(20)</sup>.

tipos de HPV en mucosa bucal sana, como demuestran numerosos autores en sus estudios. La prevalencia de aparición, dependerá, en parte, de la técnica utilizada para su detección<sup>(8,13,58,59)</sup>. Se puede decir que su presencia en mucosa bucal sana oscila del 7,2% utilizando técnicas de baja sensibilidad, como la hibridación in situ, al 13,5%, cuando se utilizan técnicas citológicas e histológicas, o al 25,4% cuando se utilizan técnicas de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), técnica de alta sensibilidad<sup>(60)</sup>. Este, es uno de los aspectos que crea una gran dificultad al comparar los datos de los diferentes autores.

En el *microscopio electrónico* se correlaciona la presencia de inclusiones basófilas intranucleares abundantes y agrupadas en forma paracristalina, situadas en el estrato granuloso, con la existencia de partículas de PV<sup>(62,63)</sup>. La replicación del DNA se produce en el estrato basal, pero la maduración viral precisa factores relacionados con la diferenciación de los queratinocitos, por ese motivo las partículas virales debidas a acúmulos capsulares las encontraremos en el estrato granuloso y córneo<sup>(66)</sup>.

Las pruebas *inmunohistoquímicas (inmunoensayo)* se basan en la capacidad antigénica de las proteínas

estructurales del virus. Al igual que en las técnicas anteriores, los antígenos virales se encontrarán en las capas superficiales del epitelio<sup>(67,68)</sup>. Estos antígenos pueden no expresarse en la muestra, o bien porque la partícula viral se encuentre en diferentes estados de replicación, porque haya pocas proteínas<sup>(68,69)</sup>, o bien porque haya habido anulación antigénica durante la manipulación biopsica<sup>(70)</sup>. Las técnicas a utilizar son variadas, las más frecuentes son las de inmunofluorescencia<sup>(62)</sup>, y posteriormente el método PAP (peroxidasa-antiperoxidasa)<sup>(64,66,71)</sup>.

**Las técnicas de hibridación** son las únicas que permiten diferenciar los diferentes tipos de VPH. Si bien es cierto que el grado de reacción cruzada es alto, se acepta que un serotipo es diferente cuando hibridiza en menos del 50% con los serotipos conocidos<sup>(38,61)</sup>. Las técnicas clásicas incluyen la hibridación con extractos tisulares (hibridación molecular) y la hibridación en cortes histológicos (hibridación *in-situ*)<sup>(65)</sup>. Actualmente si hablamos de hibridación *in-situ*, hemos de hablar de la asociación de este método a la técnica de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), la cual es capaz de detectar menos de 1 copia de DNA viral por célula. Ésta es, sin duda, la técnica de elección para detectar el genoma vírico en muestras pequeñas<sup>(8)</sup>.

Para realizar la prueba de la PCR se puede partir de muestras que contengan una sola molécula de DNA vírico<sup>(8)</sup>, pudiéndola amplificar hasta obtener un millón de copias. Dicho método permite amplificar porciones

de DNA comprendidas entre 100 y varios miles de pares de bases del genoma vírico. Se realiza produciendo ciclos repetidos de tres reacciones en un aparato denominado termociclador que permite reproducir estos ciclos hasta 35 veces con una gran precisión. El primer ciclo conduce a la desnaturalización de la doble cadena de DNA, incrementando la temperatura hasta romper los enlaces disulfuro; el segundo ciclo (enfriamiento) permite la unión de unas secuencias delimitadoras (llamadas *primers*, la elección de los cuales va a influir en el resultado obtenido con posterioridad) de la región que se quiera amplificar; el tercer ciclo eleva la temperatura hasta 72°C, donde es máxima la actividad de la *Taq-polimerasa* (enzima termoestable que promueve la síntesis de DNA, empezando por la región donde está unido el primer *primer*, decir, en el sentido 5'-3' y a una velocidad de síntesis de 120 nucleótidos/seg). El producto de la reacción es de nuevo calentado a 92°C, con lo que reiniciará el proceso<sup>(8,72-73)</sup>.

Antes de acabar este apartado merece la pena que resumamos los criterios de MILLER<sup>(8)</sup> al clasificar las pruebas de detección del VPH. Este autor sólo considera las pruebas de inmunoensayo e hibridación, y de ellas considera de utilización necesaria la de hibridación asociada a la técnica de PCR. No obstante otros muchos autores aún consideran útil la técnica de hibridación sin más<sup>(74-77)</sup>. Las clasifica en función de su sensibilidad: técnicas de baja sensibilidad, técnicas de moderada sensibilidad, técnicas de alta sensibilidad (Tabla 6).

## LESIONES ASOCIADAS CON EL PAPILOMAVIRUS HUMANO EN LA CAVIDAD ORAL

Como hemos mencionado anteriormente, el HPV se detecta en mucosa normal<sup>(1,12,18)</sup>, y de los más de 75 tipos de virus sólo 16 han sido relacionados con diferentes lesiones orales<sup>(8,78)</sup>. Los denominados virus de bajo riesgo se asocian a las lesiones benignas y los de alto riesgo (16,18,31,33 y 35)<sup>(8)</sup>, y de estos especialmente el 16 y 18<sup>(8,35)</sup>. La prevalencia en las diferentes lesiones orales es variable en función de los estudios y autores consultados. Las lesiones orales en las que se ha podido evidenciar su presencia son<sup>(39)</sup>: el papiloma escamoso, la verruga vulgar, el condiloma acuminado y la hiperplasia epitelial focal. También se le ha relacionado con diferentes lesiones premalignas (incluyendo la leucoplasia), liquen plano, queratoacantoma y carcinomas, tanto en animales como en humanos.

### Papiloma escamoso

Es una lesión tumoral benigna simple y ocasionalmente múltiple, pediculada o sésil que puede encontrarse en diferentes zonas de la cavidad bucal: lengua, labios, mucosa bucal y encía. Se presenta a modo de lesión exofítica y su aspecto será más o menos blanco en función del grado de queratinización. También puede tener el color de la mucosa y no suele ser mayor de 1 cm<sup>(79,80)</sup>.

Desde el punto de vista histológico el papiloma es-

camoso se va a caracterizar por presentar hiperplasia epitelial, cuya arquitectura presenta el aspecto de hojas con un núcleo delgado de tejido conectivo. La superficie del epitelio es paraqueratinizado, existiendo escasas mitosis en todo su espesor. El tejido conectivo se caracterizará por presentar una moderada vascularización con infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario. Ocasionalmente se pueden encontrar leves grados de displasia epitelial leve. Cabe desfacar que los clavos epiteliales no convergen<sup>(81)</sup>.

La etiología viral del proceso ha sido demostrada ampliamente en animales<sup>(82,83)</sup>, en el hombre los tipos 6,11 y 16 han sido implicados en las lesiones genitales y el tipo 2 y en raras ocasiones el 11, en las lesiones orales<sup>(13,38,79,84)</sup>. No todos los estudios son totalmente satisfactorios<sup>(85-87)</sup>, y en algunos de ellos no se discrimina correctamente entre condilomas, verrugas y papilomas<sup>(64,69)</sup>.

### Verruga vulgar

La verruga vulgar se describe como una lesión papilomatosa, sesil, exofítica y circunscrita, desde hace años se le reconoce una etiología viral<sup>(88,89)</sup> a pesar que algunos autores siguen hablando de la verruga seborreica y la vírica<sup>(90)</sup>. Suelen aparecer normalmente en el labio y las comisuras bucales.

Ácido nucleico	Grupo o familia	Virus oncógeno
RNA	Picornavirus	Ninguno
	Togavirus	Ninguno
	Ortomixovirus	Ninguno
	Paramixovirus	Ninguno
	Rabdovirus	Ninguno
	Coronavirus	Ninguno
	Arenavirus	Ninguno
	Retrovirus	Oncovirus: virus de las leucemias, virus de los sarcomas
	Reovirus	Ninguno
DNA	Adenovirus	Muchos tipos
	Papovavirus	Virus del polioma, SV40, virus humanos análogos al SV40, virus de los papilomas
	Herpesvirus	Virus de las linfomatosis de los pollos (enfermedad de Merek), virus de Lucke del adenocarcinoma renal de la rana, virus del herpes simple (transformación celular), virus de Epstein-Bar (linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo), citomegalovirus, virus del herpes de primates
	Hepadnavirus	Virus de la hepatitis B
	Poxvirus	Virus del fibroma
	Parvovirus	Ninguno

TABLA 2

Distribución de los virus oncógenos entre las familias de virus animales. Tomado de Ginsber H, pág. 1.052<sup>(30)</sup>.

Función	ORF <sup>(1)</sup>
Replicación del plasmido	E1
Regulador de la transcripción	E2
Transformación celular	E5, E6, E7
Codificación de las proteínas capsulares	L1, L2
Codifica las proteínas citoplasmáticas	E4
Desconocido	E3, E8
(1) ORF: <i>open-reading frames</i> "marcos de lectura".	

TABLA 3

Funciones asignadas a los diferentes marcos de lectura en el papiloma virus. Tomado de Shah K, pág. 1.653<sup>(36)</sup>.

Desde el punto de vista histológico en la verruga vulgar se observa una marcada hiperortoqueratosis, una capa de queratohialina bien estructurada y una convergencia de los clavos epiteliales hacia el centro de la lesión; estos aspectos se consideran básicos para diferenciarlas del papiloma escamoso y de la hiperplasia epitelial<sup>(84)</sup>.

Amplios estudios implican en su etiopatogenia al virus del papiloma, tanto en los animales como en el hombre<sup>(38,84,88,91,92)</sup>. En el hombre se relacionan las verrugas del labio con el HPV-2, pero es poco frecuente identificarlo cuando la lesión asienta en la mucosa oral<sup>(88)</sup>.

### Condiloma acuminado

El condiloma acuminado o verruga venérea es una lesión en forma de coliflor de una 5 mm. de diámetro y queratinizada en el centro. Se manifiesta predominantemente en zonas húmedas y de pliegues cutáneos y de forma predominante en el área genital<sup>(93)</sup>. Cuando aparece en la boca asienta básicamente en el labio inferior y en menor proporción en la lengua o mucosa bucal<sup>(90,93-95)</sup>.

La histología del condiloma acuminado se asemeja mucho a la del papiloma escamoso y las verrugas, pero los pliegues formados por los clavos epiteliales son mucho más profundos<sup>(93)</sup>.

En el condiloma acuminado se barajan varios papiloma virus, predominando el 6 y el 11<sup>(96,97)</sup>. En la mucosa oral el más relacionado es el 11<sup>(84,96,97)</sup>, y solo excepcionalmente el 2<sup>(97)</sup> y 16<sup>(98)</sup>.

### Hiperplasia epitelial focal

Es una entidad clínica que se presenta únicamente en la cavidad oral y que se conoce también como enfermedad de HECK. Es una afección familiar rara y benigna, que no parece tener predisposición sexual y que se manifiesta en forma de elevaciones papilares múltiples, circunscritas, sésiles y de consistencia blanca<sup>(61,79)</sup>, que predominan en el labio inferior y mucosa bucal<sup>(99,100)</sup>. Presenta una alta incidencia en las poblaciones indígenas de Sudamérica (con un índice de aparición del 3,5%, excepto en Venezuela donde en los niños indígenas la prevalencia aumenta hasta el 35%), Alaska y Groenlandia (36%)<sup>(38)</sup>. También ha sido descrita esta entidad en conejos y chimpances<sup>(101,102)</sup>.

Si bien algunos autores implican diferentes tipos de virus en la etiopatogenia<sup>(98,103)</sup>, la mayor parte de trabajos recientes implican únicamente el HPV-13 y el HPV-32<sup>(27,38,100,102)</sup>.

En la hiperplasia epitelial focal se presenta histológicamente, a diferencia del papiloma escamoso, una elongación más marcada de los clavos epiteliales, convergiendo entre ellos<sup>(84)</sup>.

### Queratoacantoma

Es un tumor benigno único o multifocal que se presenta sobre todo en cara y brazos, ocasionalmente en la boca<sup>(104)</sup>, se considera una lesión de rápida prolifera-

ción y que ocasionalmente puede remitir espontáneamente<sup>(93)</sup>.

Son varios los autores que implican una etiología viral en esta entidad, encontrando en las lesiones cutáneas los serotipos HPV-37 y HPV-25, no hemos podido evidenciar trabajos que indiquen lo mismo en las lesiones orales<sup>(67,105,106)</sup>.

### Liquen plano

El liquen plano es una afección cutánea que hasta en el 50% de los casos afecta a la cavidad bucal, siendo las lesiones orales frecuentemente previas a las cutáneas o únicas. No entraremos a detallar los múltiples aspectos que se apuntan en la etiopatogenia de esta entidad, únicamente mencionaremos que también han sido implicados por algunos autores el VPH-6, 11 y 16<sup>(61,107,108)</sup>.

### Lesiones premalignas

Algunos autores han podido observar la presencia de diferentes tipos de HPV en algunas lesiones premalignas, existiendo una prevalencia de un 40% de casos positivos en el caso del estudio realizado por NIELSEN y col. sobre 49 pacientes con lesiones premalignas bucales<sup>(57)</sup>. Según dicho estudio, la prevalencia de HPV en diferentes lesiones premalignas era de 62,5% para las leucoplasias verrucoides, 50% para las eritroplasias, 45,5% para las leucoplasias homogéneas, 33,3% para las eritroleucoplasias y de un 12,5% para las leucoplasias nodulares, lo que no demuestra que el HPV sea la etiología de estas lesiones, pero sí que puede participar en ellas. Ya hemos comentado antes que los papilomavirus relacionados con estas lesiones son los denominados de alto riesgo<sup>(8,53,55,57)</sup>.

PALEFSKY y col. en el 1995 relaciona la leucoplasia verrucoide con el HPV-16, en nueve lesiones y obtiene un porcentaje del 89% HPV positivos<sup>(109)</sup>. Finalmente, FORNATURA y col. en 1996, sobre 17 casos en los que se había diagnosticado previamente displasia coilocítica, obtiene una prevalencia del 80,6%<sup>(110)</sup>.

### Carcinoma

La implicación del HPV en el mecanismo de la carcinogénesis está bien determinada desde los estudios mediante experimentación animal con el virus del papiloma del conejo de cola blanca (CRPV). Los estudios experimentales en este animal demuestran que el virus ocasiona la producción de verrugas con abundantes copias de DNA del virus. Los papilomas, sean o no inducidos, presentan una transformación maligna del 25%. El CRPV también induce papilomas de células escamosas en el conejo doméstico, estos papilomas una vez producidos se malignizan tres veces más que en el huésped original<sup>(111)</sup>.

El BPV-4 ocasiona papilomas en el tracto digestivo de los bóvidos; dichos papilomas pueden malignizarse en diferentes proporciones en función de los autores, demostrando algunos de ellos la progresión de papiloma a carcinoma desde el punto de vista histológico<sup>(53,112,113)</sup>.

Especies	Cáncer	Tipo viral predominante	Cofactores
Humanos	Carcinoma de piel en pacientes con EV	VPH-5, 8, 14	Luz solar, defectos genéticos (1)
	Cánceres del tracto genital inferior	VPH-16, 18, 31, 33, 35	No conocidos (2)
	Malignización de papilomas respiratorios	VPH-6, 11	Radiación X (3)
Ganado Vacuno	Carcinomas tracto digestivo	VPH-4	Consumo de heleichos (4)
	Carcinomas cutáneos y oftálmicos	No definido	Luz solar
Ovejas	Carcinoma cutáneo	No definido	Luz solar
Conejo de cola blanca	Carcinoma cutáneo	Virus del papiloma del conejo de cola blanca (CRPV)	No conocido (5)

- (1) La Epidermodisplasia verruquiforme (EV) es una enfermedad rara caracterizada por la aparición de verrugas cutáneas diseminadas que remedan las verrugas planas de los niños o las lesiones de la pitiriasis versicolor. Suele aparecer en jóvenes con defectos de inmunidad celular. Parece ser que la progresión a malignidad es mucho más frecuente cuando se evidencia una exposición solar prolongada (41, 42).
- (2) Algunos estudios apuntan a una mayor incidencia en pacientes fumadoras (43-45). El virus del Herpes simplex también ha sido implicado (46, 47). También se han implicado diferentes mecanismos que promuevan la amplificación de DNA de papilomavirus; al parecer, esta amplificación puede aumentar el número de células diana portadoras de DNA y así aumentar el riesgo de transformación (33).
- (3) Existen casos bien documentados en la literatura de papilomatosis severas de larga duración y extensas en las vías aéreas superiores que malignizan (33, 47, 48). Este riesgo es mayor cuando existe radiación en la zona por diversos motivos.
- (4) La dieta a base de heleichos y azatriopina o quercitina, bien aisladamente o en combinación, provoca una intensa inmunosupresión en los animales. En el experimento se les inyectó HPV-4 y todos desarrollaron una papilomatosis oral florida (igual que los animales que se alimentan de heleichos en el campo); uno de los animales desarrolló carcinoma (49).
- (5) La aplicación repetida de metilcolantreno en los papilomas provocados por el CRPV, provoca una más rápida progresión a la malignidad (33, 50).

TABLA 4

Diferentes tipos de carcinomas animales asociados con el virus del papiloma. Tomado de Shah, KV, pág. 1.655<sup>(30)</sup>, valorando los cofactores en función de los criterios comentados por González-Moles<sup>(33)</sup>.

El registro de antígenos de HPV y de DNA viral en lesiones del tracto digestivo alto en el hombre parecen demostrar la relación del virus con la carcinogénesis en esta zona<sup>(114,115)</sup>.

Estudios *in vitro* determinan que algunos tipos de HPV (1,5,16 y 18) son capaces de provocar transformación en determinadas células, como pueden ser las células de rata 3Y1, las células de ratón C127 e INH 3T3 e incluso queratinocitos derivados de piel de recién nacido (HPV 16)<sup>(116)</sup>. Los genes más implicados en el proceso parecen ser el E6 y E7<sup>(117)</sup>.

La relación del HPV con neoplasias cervicales intraepiteliales, carcinomas *in-situ* y carcinomas de células escamosas invasivos de cérvix, se cifra del 50 al 80%. Los estudios demuestran, además, mediante técnicas de hibridación, la presencia de hasta un 80% de DNA de HPV en todas las displasias cervicales y hasta en el 88% de los carcinomas escamosos de cérvix<sup>(116,118)</sup>; e incluso se han determinado secuencias de DNA viral en metástasis ganglionares<sup>(116)</sup>. También como cita GARCÍA MOLES en su interesante revisión de 1992, se ha determinado DNA viral en células derivadas de cánceres cervicales<sup>(33)</sup>.

Estudios recientes sugieren que además de la diferente relación de unos tipos de papilomas con lesiones benignas, otros con lesiones malignas o tendentes a malignizar, y diferentes grupos con distintas zonas de la economía. El DNA viral es distinto en las lesiones benignas y en las malignas. En las benignas el DNA se encontraría en forma episomal y en muchas copias, mientras que en las malignas, el DNA se encuentra generalmente integrado en el genoma del huésped<sup>(32)</sup>. Lo que no se ha podido determinar todavía, es el lugar concreto de la integración del DNA viral en el genoma de la célula huésped. Si se sabe, no obstante, que la apertura en el DNA viral se produce en el terminal 3' del fragmento E1 o en el 5' del E2, provocándose una disrupción del genoma desde el fragmento E2 hasta el L2<sup>(118,119)</sup>.

Hoy en día sabemos también, en base a estudios de diferentes autores, que la inmunocompetencia del huésped puede jugar un papel fundamental como controladora de la infección por el VPH<sup>(33)</sup>. Así la incidencia de lesiones relacionadas con el virus del papiloma aumenta en pacientes con inmunodeficiencia<sup>(120)</sup>, aspectos que no hacen sino corroborar modelos de investigación en los que se determina que la inmunocompetencia juega un papel fundamental en la carcinogénesis<sup>(49,121)</sup>. Todo esto nos hace concretar que la infección por el virus del papiloma humano no sea suficiente para provocar un carcinoma. El carcinoma será, como hemos expuesto anteriormente, el resultado de la acción sinérgica de diferentes factores (Tabla 4)<sup>(33)</sup>.

Por otro lado sabemos que la región E se expresa en infecciones tempranas y codifica proteínas relacionadas con la inducción y regulación de la síntesis de DNA; por el contrario, la región L se expresa en estadios tardíos

y codifica la síntesis de proteínas en la cápside viral. Los genes más importantes en la transformación celular parecen ser el E1, E2 y E7<sup>(117,122)</sup>.

Si bien los distintos datos pueden ser debidos, como ya hemos mencionado, a las diferentes técnicas utilizadas, y algunos autores citan diferencias geográficas en la infección por VPH<sup>(105)</sup>; lo que si parece claro es que mediante las técnicas de PCR, el VPH-16 debe jugar un papel importante en la etiopatogénesis del carcinoma oral.

Referente a la *prevalencia* del HPV en el carcinoma escamoso, los resultados son muy variados en función de los diferentes autores revisados. Uno de los problemas más importantes es la baja casuística que reflejan la mayor parte de ellos. Un trabajo interesante es la revisión realizada por MILLER y col.<sup>(8)</sup> sobre 1051 casos de carcinomas escamosos.

Este autor presenta en cuanto a la localización se refiere, que el HPV se encuentra más frecuentemente en carcinomas de lengua con un 29,1%, seguido de la flora bucal con un 19,7%, mucosa oral con un 18,3%, labio con un 12%, paladar con un 7,4%, alvéolos con un 6,1%, encía con un 4,7% y región retromolar con un 2,7%. En cuanto a los casos de HPV negativo es también en la lengua donde se dan más casos con un 35,6%, seguido del labio con un 20,1%, encía con un 16%, flora bucal con un 13,2%, mucosa oral con 7,6%, paladar con un 4,4%, alvéolos con un 2% y región retromolar con un 1,2%.

Otro de los problemas frecuentes al revisar los trabajos es el hecho de que en la mayoría de los estudios no están presentes los datos demográficos y si existe o no randomización de los casos que se llevan a experimentación. En nuestro medio resulta interesante el reciente trabajo de GONZÁLEZ-MOLES y colaboradores<sup>(52)</sup>.

En cuanto al sexo se refiere, aunque ocurre lo mismo que en el caso anterior, la aparición de HPV positivo es superior al hombre con un porcentaje de 1:1,5, al igual que ocurre en los casos de HPV negativo, 1:1,3<sup>(8)</sup>.

Finalmente el problema que también se presenta al hablar de la prevalencia de HPV y carcinoma, es el de las diferentes técnicas utilizadas. Mientras que con las técnicas de baja sensibilidad se obtiene un porcentaje de detección de HPV positivo del 16,9%, en las técnicas de moderada sensibilidad este porcentaje aumenta hasta el 25,2%, llegando, en el caso de la PCR al 36,6%.

En cuanto a los genotipos encontrados sí parece existir quorum entre la mayoría de los autores ya que hallan los HPV 16 y 18 en un 80% de los carcinomas escamosos. Los genotipos de moderada malignización (HPV 6 y 11) se encuentran en un 16,3% de las lesiones y los demás genotipos (2,31,33,35) en un muy bajo porcentaje, 4,4%. No olvidemos tampoco que en un 15,4% de casos se ha detectado HPV positivo en mucosa oral normal, lo cual nos indica que el HPV no es solo un agente exclusivo de las lesiones antes citadas<sup>(1,8,12,13,18,58-60)</sup>.

Localización	Lesión	Tipo de HPV asociado
Piel	Verrugas	1-4, 7, 10, 26-29, 41, 48, 60, 63, 65
	Maculas asociadas a EV	3, 5, 8, 9, 12, 14, 17, 19-25, 36-38, 46-47, 49, 50
	EV asociada a carcinoma escamoso	5, 8, 14, 17, 20, 47
Anogenital	Infección subclínica	Todos
	Condiloma acuminado	6, 11, 42-44, 54, 55
	Condiloma gigante (Tumor de Buschke-Loewenstein)	6, 11
	Neoplasias intraepiteliales: - bajo grado (incluyendo los condilomas planos)	6, 11, 42-44, 54, 55, 16, 18, 30, 31, 33, 35, 39, 40, 45, 51, 52, 56-61, 64, 66-68
	- alto grado (incluyendo la papulosis de Bowenoid)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 49, 51, 52, 56, 58
	Carcinoma escamoso	16, 18, 31, 33, 35, 39, 49, 51, 52, 56, 58
	Adenocarcinoma	16, 18
Cavidad oral	Hiperplasia epitelial focal	13, 32
	Carcinoma escamoso	16, 33
	Lesiones de labio	2
	Infecciones cruzadas con el área anogenital	6, 11, 16
Laringe	Papiloma	6, 11
Conjuntiva	Papiloma	6, 11

TABLA 5

Asociación entre entidades clínicas y tipo de HPV. Tomado de Webster R, pág. 1.015<sup>(32)</sup>, adoptando modificaciones de Shah K, pág. 1.660, 1.662<sup>(30)</sup>.

## ONCOGENES Y PROTOONCOGENES

En el cromosoma normal de la célula existen los denominados proto-oncogenes (p-onc); a pesar de lo que el nombre pueda hacer pensar, no son genes destinados únicamente a expresarse en el fenotipo neoplásico. Su función está estrechamente ligada a fenómenos esenciales en el comportamiento celular (crecimiento, maduración y proliferación celular)<sup>(13)</sup>. En determinadas circunstancias los p-onc sufren alteraciones que modifican su función normal y les otorgan capacidad transformante; los genes transformadores pasan a denominarse oncogenes (onc) y si residen desde el inicio en el cromosoma celular se denominan c-onc; si por el contrario provienen desde el exterior y están vehiculizados por un virus se denominan v-onc<sup>(123)</sup>. Algunos de estos oncogenes pueden estar relacionados con la fase de iniciación de un tumor, otros con la fase de promoción y otros con la de progresión y formación de metástasis<sup>(28)</sup>.

Los primeros datos sobre la implicación de genes en la producción de tumores malignos datan de los estudios sobre virus oncogénicos, y en concreto de los estudios transformantes de un retrovirus oncógeno, el virus del sarcoma de Rous (SRV) (*Pyton Rous en 1911, demostró que un infiltrado libre de células extraído de sarcomas de gallina afectadas, era capaz de provocar la aparición del tumor en aves sanas*)<sup>(13,30)</sup>. Estudios genéticos posteriores identificaron en este virus el gen responsable de la transformación, el gen src, también en estos estudios se pudo evidenciar que células normales de pollo presentaban un gen muy similar, el gen src celular (c-scr). El gen normal se conoce como protooncogén src y el gen dl virus como oncogén scr o v-src<sup>(124,125)</sup>.

Después de estos primeros estudios genéticos se han descubierto muchos otros oncógenos en los virus oncógenos y también se ha descubierto que el DNA extraído de cánceres humanos contiene oncógenos con capacidad de transformación celular. Los oncogenes encontrados en los retrovirus (virus RNA) son protooncogenes celulares alterados que no confieren ninguna ventaja a los virus, los oncogenes de virus DNA carecen de homología secuencial con los protooncogenes celulares y realizan funciones necesarias en los virus, podríamos decir que se han desarrollado para beneficio del virus<sup>(30)</sup>.

Son variados los procesos que pueden ocasionar que un gen se active de forma anormal y ocasione transformación celular, las más significativas son<sup>(13,124,126)</sup>: - *Transducción vírica.* - *Mutagénesis insercional.* - *Reordenamiento/traslocación cromosómica.* - *Amplificación genética.* - *Mutación puntual.* - *Interacción proteína-proteína.*

En el caso del HPV la activación oncogénica se lleva a cabo a través de la interacción proteína-proteína; así la proteína E7, codificada por el PVH-16 y 18 interactúan con la proteína p105rb codificada por el gen humano del retinoblastoma, y la proteína p53, codificada por el gen del mismo nombre. Ambas proteínas poseen propiedades represoras de la proliferación celulares y estas propiedades quedan anuladas después de la interacción con las proteínas víricas<sup>(58,127-129)</sup>.

### Función de los genes retinoblastoma y P53

El gen retinoblastoma, localizado en el cromosoma 13, constituye un ejemplo muy clarificador de lo que es un gen tumoral. El producto codificado por el gen Rb (p105rb) pertenece al grupo de las denominadas proteínas nucleares y, aunque su función no está completamente aclarada, parece que se comporta como un inhibidor del ciclo celular, bloqueando el inicio de la síntesis de DNA<sup>(13,124,127,130)</sup>.

Algunos oncogenes víricos pueden simular las consecuencias de las deleciones del gen Rb, como las proteínas E6/E7 de los HPV-16 y 18. De tal forma que interactuarán con el producto del gen Rb inhibiendo su actividad reguladora del ciclo celular y abocando a la célula hacia un estado de proliferación incontrolada<sup>(13,124,130)</sup>.

Por otra parte, el gen p53, que codifica la proteína nuclear del mismo nombre, se localiza en la banda trece del brazo corto del cromosoma 17. Desde el punto de vista funcional puede comportarse como un oncogén capaz de cooperar con un gen *ras* activado, produciendo transformaciones celulares. Sin embargo, el gen p53 también puede actuar como supresor tumoral, inhibiendo la transformación y la proliferación celular y, en consecuencia la formación de un tumor<sup>(13,124,127,128,130)</sup>.

La proteína p53 natural (también denominada salvaje) actúa, al igual que el producto del gen Rb (p105rb), como un represor de la proliferación. En células normales se detectan bajos niveles de proteína p53 que no impiden la división normal de la célula. Cuando por alguna circunstancia acontece una lesión del DNA, se incrementan los niveles de producción de proteína p53 y la célula se detiene en la fase G1 del ciclo celular, antes de la fase de síntesis de DNA. Durante ese período quiescente, resultado de la actividad de la p53, se llevan a cabo los procesos reparativos del DNA o, en caso contrario, se produce la muerte celular. En este sentido, la síntesis adecuada de proteína p53 actúa como mecanismo que impide que se perpetúen células con aberraciones cromosómicas y con posibilidades de sufrir una transformación neoplásica. Por el contrario, las células con mutaciones del gen p53 no experimentan el proceso de detención del ciclo celular en la fase G1, pudiendo transmitir la alteración cromosómica a su descendencia con el consiguiente aumento de la probabilidad de originar un tumor<sup>(13,124,129,131)</sup>.

De hecho hoy sabemos, como cita en una reciente revisión VERA FJ<sup>(132)</sup>, que la disminución de la proteína p53 salvaje y el aumento de proteína p53 mutada, se establece, en ocasiones, asociada a alteraciones del gen del retinoblastoma. La mutación de ambos genes (p53 y Rb) es frecuente en los tumores, pero parece ser que el papel del p53 es más importante. Así, diferentes estudios refieren que mientras la proteína p53 es correcta, las células son capaces de eliminar por apoptosis las células preneoplásicas con déficit de la proteína supresora Rb<sup>(133,14)</sup>. Por otro lado, el gen p53 bloquea también la angiogénesis, posible favorecedora del desarrollo y la

progresión tumoral, a través de la secreción de trombospondina-1 (TSP-1) por parte de los fibroblastos<sup>(134)</sup>.

La detección de la proteína p53 es muy estudiada por diversos autores con el propósito de observar su posible función en el carcinoma escamoso y la posible relación del HPV en este tema, dato que no ha podido confirmarse hasta la actualidad<sup>(127-131, 135-138)</sup>. Lo que sí se puede asegurar es que, al igual que ocurre con los productos del gen Rb, algunos virus DNA (HPV-16 y 18) pueden simular los efectos de la mutación del gen p53 a través de la interacción entre las proteínas que codifican y la propia proteína p53 (interacción proteína-proteína), lo que conducirá a la inactivación de la p53 y a la proliferación celular incontrolada<sup>(13, 127, 131, 136)</sup>.

Estudios *in vitro* que utilizan queratinocitos orales

camosos orales, que se producen diversas mutaciones del gen p53 en una misma célula lineal, al contrario de lo que ocurre en algunas leucemias, lo que le otorga un alto nivel de malignización.

Los trabajos publicados en la última década sobre el gen p53, son abundantes, hasta el punto de que tal y como cita VERA<sup>(132)</sup>, fue denominada molécula del año 1993 por la revista *Science*. De la revisión sobre esta molécula que realiza este autor podemos escoger algunos criterios interesantes para el trabajo que nos ocupa: la mucosa oral normal es usualmente negativa para p53, pero se han descrito algunos casos de inmunoreactividad positiva en células basales de zonas cercanas a carcinomas p53 positivos. La expresividad p53 ha sido descrita en mucosa displásica cercana a carcinoma epidermo-

TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE BAJA SENSIBILIDAD
<p><b>Inmunoperoxidasa</b></p> <p>Detecta los antígenos virales capsulares, indicando las células que permiten la completa replicación vírica.</p> <p><b>Hibridación <i>in situ</i></b></p> <p>Detecta DNA viral a partir de la existencia de 10 copias por célula.</p>
TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE MODERADA SENSIBILIDAD
<p>Se refiere a la técnica de tinción sudeña y del oeste asociada a hibridación: son capaces de detectar el DNA viral en las células cuando existen de 1 a 10 copias por célula.</p>
TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE ALTA SENSIBILIDAD
<p>Técnica de hibridación <i>in situ</i> asociada a PCR. Detecta menos de una copia de DNA por célula.</p>

TABLA 6

Tabla que presenta la clasificación realizada por Miller de las técnicas de detección del VPH en función de su sensibilidad<sup>(6)</sup>.

inmortalizados que contienen múltiples copias de DNA HPV 16 y 18 integrado en el cromosoma celular han demostrado altos niveles de mRNA transcrito desde los genes E6/E7<sup>(129,130,136-138)</sup>. Además, estas células inmortalizadas expresan niveles anormalmente bajos de proteína p53, presumiblemente como consecuencia de la interacción entre los productos E6/E7 de los HPV integrados y la proteína p53. Por otra parte, los bajos niveles del producto del gen p53, no tienen necesariamente que relacionarse con la integración de un oncovirus DNA, ya que también se han demostrado encéulas no infectadas, atribuyéndose a una mutación genética la baja tasa de síntesis de proteína p53<sup>(135-138)</sup>.

Cabe también destacar que se ha podido determinar que el gen p53 que se encuentra en las regiones cancerígenas contienen un alto porcentaje de puntos de mutación, particularmente a nivel de los exones 5,6,7,8 y 9. Sin embargo, parece ser, como demuestra YEUDALL y col.<sup>(135)</sup> en un estudio realizado sobre carcinomas es-

de, en lesiones displásicas aisladas y en leucoplasias orales con y sin displasia. Todos estos datos parecen reforzar la idea de que la expresividad p53 es un patrón inicial en el proceso de cancerogénesis, así como en la severidad de la displasia<sup>(139,140)</sup>. Por otro lado, son también numerosos los autores que relacionan la sobreexpresión de la p53 con el tabaco, aspecto que podría ser vehiculizado a través de los benzopirenos del humo y que podría justificar variaciones estadísticas significativas entre pacientes consumidores de betel asociado o no al tabaco<sup>(141-143)</sup>. Referente al pronóstico de las lesiones con sobre-expresión de p53 no está claro si el peor pronóstico se debe a la alteración genética en sí<sup>(144)</sup>, o es independiente y en un análisis multivariante adecuado depende básicamente del TNM inicial<sup>(140)</sup>.

Finalmente, en la detección de la proteína p53, y por tanto en el análisis de los resultados, también se obtendrán diferencias significativas en función de la técnica que se emplee<sup>(128,131,132,135-137)</sup>.

## CONCLUSIONES

En el caso del carcinoma de cérvix está comprobado que los HPV 16 y 18 actúan sobre la transformación celular, pero en lo que se refiere al carcinoma escamoso oral no se puede afirmar con absoluta seguridad.

La mucosa oral y genital son muy similares, pero al analizar la interacción HPV-mucosa, podemos apuntar algunas diferencias: (1) el HPV en la mucosa oral muy pocas veces se encuentra integrado en el genoma de la célula huésped, aspecto que sí pasa en el caso del carcinoma cervical (2), los HPV 31, 33 y 35 muy comunes en el caso del carcinoma cervical y poco frecuentes en el carcinoma oral. (3) el porcentaje de prevalencia del HPV en carcinoma escamoso oral se estima en un 26,2%, en el cervical la prevalencia aumenta hasta el 80-90%.

Todo esto nos puede hacer pensar que debido al tropismo del HPV por el epitelio escamoso, éste podría ser un pasajero más del epitelio y no intervenir directamente en la producción del carcinoma escamoso oral. No obstante los estudios genéticos más recientes han demostrado que es capaz de alterar los índices de proteína p53, proteína que puede favorecer la malignización celular mediante un proceso complejo en cuyo conocimiento se avanza apresuradamente.

Correspondencia:  
Dr. José López López  
Cartagena, 187  
08013 Barcelona

## BIBLIOGRAFÍA

El gran número de citas revisadas para la preparación de este artículo (144 referencias bibliográficas), dificulta su reproducción íntegra. En consecuencia, si algún lector se interesa por una referencia concreta o por el conjunto de la bibliografía, agradeceremos lo solicite al primer firmante del trabajo cuya dirección se especifica más arriba.