



¿Existe algún cáncer que pueda prevenirse con una vacuna? Sí, más de uno, aunque son una conocida minoría. Estas neoplasias se caracterizan por presentar una **relación directa** de causalidad con un microorganismo, y entre ellas podemos encontrar el cáncer de hígado, de estómago y de cuello uterino. En esta ocasión vamos a hablar de la relación del papiloma humano (VPH) el que más nos atañe en relación a este trabajo.

Esta vez nos vamos a centrar en el cáncer de cervix, es una consecuencia final de la infección por **transmisión sexual** de un virus que todos los hombres y mujeres que tienen 25 años o más muy probablemente te hayan realizado una citología como forma de cribado del VPH. Si te han dado un resultado positivo, es muy probable que tu médico de familia te haya recomendado que te hagas una prueba de la cavidad oral.

Aunque el virus del papiloma humano se relaciona con otros tipos de cánceres, como el de vagina, el de cuello uterino, el de la cavidad oral y orofaringe está suscitando cada vez más interés. ¿Es una posible forma de transmisión a través del sexo orogenital con una persona infectada. ¿Pero es esta relación cierta? ¿Podemos infectarnos con el virus del papiloma humano a través de la cavidad oral? En España se han realizado algunos estudios al respecto, no obstante, fuera del país se han llevado a cabo **diversas investigaciones** en busca de esta relación. Queda demostrada que existe una relación entre la causalidad de los cánceres de la cavidad oral y las lesiones orales, es decir, no todos los pacientes infectados por VPH padecerán un cáncer oral, ni todos los cánceres orales tienen relación con el VPH. Aún así, este virus es un factor predisponente claro.

Los estudios realizados en este país no han sido suficientes para abordar el tema. ¿Qué pasaría si se demostrara la relación entre el VPH y el **cáncer de cavidad oral y orofaringe** de una forma tan clara como sucedió con el cáncer de cervix? La incidencia y mortalidad del **cáncer de cervix** en España ha disminuido desde la implementación del cribado y vacuna del virus. ¿Sufriría el mismo descenso en incidencia y mortalidad el cáncer oral si se llevara a cabo una estrategia de cribado poblacional y **vacunación** contra los serotipos específicos orales?, es más, ¿se reduciría el número de contagios por el virus y por ende la incidencia de cánceres relacionados si se vacunara también a la población masculina?.

El objeto de este estudio es estimar la relación entre el virus y la progresión oncogénica de las lesiones orales para apoyar los distintos estudios realizados internacionalmente, además de valorar los posibles **beneficios de un cribado** y vacuna para los serotipos correspondientes. Para ello me he servido de una muestra de 50 pacientes con lesiones benignas, premalignas y malignas orales, de las cuales he estudiado la sobreexpresión de distintas **proteínas** (p16, p21, Ki67 y e-cadherina) y el gen p53. Tras un estudio descriptivo de la muestra, he realizado una diferencia de medias con la prueba U de Mann-Whitney y un contraste de hipótesis mediante el test chi-cuadrado en busca de una relación estadísticamente significativa entre las distintas proteínas entre sí y el diagnóstico de la lesión. Por un lado, he observado una relación de dependencia entre el **diagnóstico de la lesión** y Ki67 y p53 y por otro, la relación de p21 con p16, p53 y Ki67. Estos resultados apoyan la idea de que la presencia del **VPH** puede provocar un aumento incontrolado de la división celular (sobreexpresión de Ki67) y como consecuencia se ponen en marcha mecanismos celulares para detener tal división (sobreexpresión de las proteínas de supresión tumoral p16 y p21) y reparar el ADN celular dañado (3).

En conclusión, el estudio proporciona resultados que apoyan la relación entre el virus del papiloma humano y la progresión oncogénica de algunas **lesiones orales**, lo cual sugiere los posibles **beneficios de un cribado** y vacunación contra los serotipos orales y la inclusión de la población masculina en la campaña de vacunación actual contra el virus. No obstante, debido a las limitaciones de este estudio y a la necesidad de más estudios que podrían influir en la implantación de estas medidas considero necesario continuar con el **estudio** para poder valorar de una forma más exacta las posibles ventajas y desventajas que conllevaría.

Autor
Ángela Simón Sánchez

Director
Javier Azúa Romeo, M.D, Ph.D.

ÍNDICE

1. Presentación.....	4
2. Hipótesis y objetivos.....	6
2.1. Hipótesis.....	6
2.2. Objetivos.....	6
3. Resumen.....	7
4. Contenido.....	8
4.1. Introducción.....	8
4.1.1. Epidemiología.....	8
4.1.1.1. La infección por el virus.....	8
4.1.1.2. Cáncer de cuello de útero.....	8
4.1.1.3. Cáncer de cavidad oral y orofaringe.....	8
4.1.2. El virus del papiloma humano.....	9
4.1.2.1. Estructura.....	9
4.1.2.2. Clasificación.....	9
4.1.3. La infección genital por VPH.....	10
4.1.3.1. Anatomía e histología del cuello uterino.....	10
4.1.3.2. Vías de transmisión.....	11
4.1.3.3. Etiología.....	11
4.1.3.3.1. Primer contacto y presentación de las proteínas E y L.....	11
4.1.3.3.2. Genes supresores tumorales.....	12
4.1.3.3.3. Interacción de las oncoproteínas del VPH con las proteínas supresoras de tumores.....	13
4.1.3.4. Lesiones genitales.....	14
4.1.3.4.1. Benignas.....	14
4.1.3.4.1.1. Papiloma genital.....	14
4.1.3.4.2. Premalignas.....	14
4.1.3.4.3. Malignas.....	15
4.1.3.4.3.1. Carcinoma escamoso.....	15
4.1.3.5. Cribado del cáncer de cuello de útero.....	16
4.1.3.6. Vacuna del VPH.....	17
4.1.4. La infección oral por VPH.....	18
4.1.4.1. Histología de la cavidad oral.....	18
4.1.4.2. Vías de transmisión.....	18
4.1.4.3. Lesiones de la cavidad oral.....	18
4.1.4.3.1. Benignas.....	18
4.1.4.3.1.1. Papiloma bucal y condiloma acuminado.....	19
4.1.4.3.1.2. Hiperplasia epitelial focal.....	19
4.1.4.3.2. Premalignas.....	19
4.1.4.3.2.1. Leucoplasia oral.....	19
4.1.4.3.2.2. Eritroplasia oral.....	20
4.1.4.3.2.3. Liquen plano oral.....	20

1. PRESENTACIÓN

¿Existe algún cáncer que pueda prevenirse con una vacuna? Sí, más de uno, aunque son una conocida minoría. Estas neoplasias se caracterizan por presentar una relación directa de causalidad con un microorganismo, y entre ellas podemos encontrar el cáncer de hígado, de estómago o de cuello de útero. Es este último y su relación directa con el virus del papiloma humano (VPH) el que más nos atañe en relación a este trabajo.

Está ampliamente demostrado que el cáncer de cérvix es la consecuencia final de la infección por transmisión sexual de este virus en algunas mujeres. Es más, si eres mujer y tienes veinticinco años o más muy probablemente te hayan realizado una citología como forma de cribado del virus y si has nacido a partir del año 1994 también con mucha probabilidad tu médico de familia te recomendará la administración de la vacuna a la edad de doce.

Aunque el virus del papiloma humano se relaciona con otros tipos de cánceres, como el de vagina, pene o ano, su posible relación con el cáncer de cavidad oral y orofaringe está suscitando cada vez más interés, probablemente por su posible forma de transmisión a través del sexo orogenital con una persona infectada. ¿Pero es esta relación cierta? ¿Podemos infectarnos con el virus a través de sexo oral y desarrollar un cáncer en la boca? En España se han realizado escasos estudios al respecto, no obstante, fuera del país se han llevado a cabo diversas investigaciones en busca de esta relación. Queda demostrada que existe una relación directa pero no excluyente de causalidad entre el VPH y las lesiones orales, es decir, no todos los pacientes infectados por VPH padecerán un cáncer oral, ni todos los cánceres orales tienen relación con el VPH. Aún así, este virus es un claro factor predisponente.

¿Podemos desarrollar un carcinoma en la cavidad oral tras mantener relaciones orogenitales con una persona infectada por el virus del papiloma humano?

Los escasos estudios al respecto en nuestro país nos llevan a profundizar en el tema. ¿Qué pasaría si se demostrara la relación entre el VPH y el cáncer de cavidad oral y orofaringe de una forma tan clara como sucedió con el cáncer de cérvix? La incidencia y mortalidad del cáncer de cérvix se ha reducido desde la implantación del cribado y vacuna del virus. ¿Sufriría el mismo descenso en incidencia y mortalidad el cáncer oral si se llevara a cabo una estrategia de cribado poblacional y vacunación contra los serotipos específicos orales?, es más, ¿se reduciría el número de contagios por el virus y por ende la incidencia de cánceres relacionados si se vacunara también a la población masculina?

El objeto de este estudio es estimar la relación entre el virus y la progresión oncogénica de las lesiones orales para apoyar los distintos estudios realizados internacionalmente, además de valorar los posibles beneficios de un cribado y vacuna para los serotipos correspondientes. Para ello me he servido de una muestra de 50 pacientes con lesiones benignas, premalignas y malignas orales, de las cuales he estudiado la sobreexpresión de distintas proteínas (p16, p21, Ki67 y e-cadherina) y el gen p53. Tras un estudio descriptivo de la muestra, he realizado una diferencia de medias con la prueba U de Mann-Whitney y un contraste de hipótesis mediante el test chi-cuadrado en busca de una relación estadísticamente significativa entre las distintas proteínas entre sí y el diagnóstico de la lesión.

Por un lado, he observado una relación de dependencia entre el diagnóstico de la lesión y Ki67 y p53 y por otro, la relación de p21 con p16, p53 y Ki67. Estos resultados apoyan la idea de que la presencia del VPH puede provocar un aumento incontrolado de la división celular y como consecuencia se ponen en marcha mecanismos celulares para detener tal división y reparar el ADN celular dañado.

Aunque esperaba hallar más relaciones entre las diferentes variables, esta falta de resultados puede deberse a la principal limitación del estudio: su pequeño tamaño muestral. No obstante, la obtención de resultados con el reducido número de lesiones sugiere que una ampliación de la muestra podría aportar nuevos datos interesantes.

En conclusión, el estudio proporciona resultados que apoyan la relación entre el virus del papiloma humano y la progresión oncogénica de algunas lesiones orales, lo cual sugiere los posibles beneficios de un cribado y vacunación contra los serotipos orales y la inclusión de la población masculina en la campaña de vacunación actual contra el virus. No obstante, debido a las limitaciones de la investigación y a otros factores no conocidos que podrían influir en la implantación de estas medidas consideramos necesario continuar con el estudio para poder valorar de una forma más exacta las posibles ventajas y desventajas que conllevaría.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

- El virus del papiloma humano presenta una relación directa pero no excluyente de causalidad con algunas lesiones de la cavidad oral, ya sean benignas, premalignas o malignas.
- La realización de un cribado de la infección por el virus en la cavidad oral, similar al que se lleva a cabo en el cérvix, supondría una disminución de la morbimortalidad del cáncer de cavidad oral y orofaringe.
- La inclusión de los hombres en la pauta de vacunación recomendada contra el virus reduciría la morbimortalidad del cáncer de cérvix en mujeres, ya que se reduciría la probabilidad de contagio.
- La vacunación con una vacuna que tuviera una cobertura para los serotipos del virus que afectan con mayor probabilidad a la cavidad oral y orofaringe disminuiría la morbimortalidad del cáncer que se produce en esta localización anatómica.

2.2. Objetivos

Para demostrar estas hipótesis, ya sea de forma directa o indirecta, tengo los siguientes objetivos:

- Demostración de una relación de dependencia entre la oncoproteína p16, que indica virus del papiloma humano activo replicándose, y el diagnóstico de malignidad de lesiones orales.
- Demostración de una relación de dependencia entre la oncoproteína p16 y el índice de proliferación celular Ki67.
- Demostración de una relación de dependencia entre la oncoproteína p16 y las oncoproteínas p21 y p53.

3. RESUMEN

La infección oral por el virus del papiloma humano (VPH) presenta una relación directa de causalidad con el carcinoma escamoso de la cavidad oral y orofaringe. No obstante, esta relación no es excluyente y es menos estricta que la relación hallada entre la infección genital por este virus y el carcinoma de cérvix en las mujeres. El objetivo de este estudio es demostrar la relación del virus con la progresión neoplásica de algunas lesiones en la cavidad oral a través del estudio de los mecanismos reguladores tumorales que se ponen en marcha a raíz de la infección. Para ello hemos llevado a cabo el estudio histológico e inmunohistoquímico de 50 muestras analizando la proteína de adhesión celular e-cadherina, el índice de proliferación Ki67, las proteínas supresoras de tumores p16 y p21 y el gen supresor tumoral p53. Los resultados obtenidos apoyan los estudios previos, el VPH tiene poder mitogénico y su presencia pone en marcha los mecanismos celulares controladores de la proliferación celular con el objeto de detener la progresión de la lesión a cáncer. A pesar de ello, consideramos la necesidad de profundizar en la investigación con el objeto de valorar los beneficios que podría aportar el cribado y vacunación contra los serotipos de VPH con tendencia oral.

Palabras clave: Virus del papiloma humano, VPH, carcinoma escamoso, cavidad oral, orofaringe, p16, p21, Ki67, p53, e-cadherina.

Abstract: The oral infection of Human Papillomavirus (HPV) is considered a direct cause of squamous cell carcinomas of the oral cavity and oropharynx. Nevertheless, this relation is not as severe and strict as the relation found between the genital infection of the virus and cervix carcinoma in women. The objective of this study is to demonstrate the relation between the virus and the oncogenic progression of some oral lesions and the tumor regulation mechanisms that get activated due to the infection. To achieve this we have carried out a histological and immunohistochemical study of 50 samples, from which we have analyzed the adhesion protein e-cadherin, proliferation index Ki67, tumour suppressor proteins p16 and p21 and tumour suppressor gene p53. The results obtained back the previous studies, HPV has mitogenic power and it's presence activates cell mechanisms which control celular proliferation and aim to stop cancer progression. In spite of that, we believe that a further investigation should be carried out, to find out the benefits of oral HPV types screening and vaccination.

Key words: Human papillomavirus, HPV, squamous carcinoma, oral cavity, oropharynx, p16, p21, Ki67, p53, e-cadherin.

4. CONTENIDO

4.1. Introducción

4.1.1. Epidemiología

4.1.1.1. La infección por el virus

La infección por VPH se considera la infección de transmisión sexual más común. Se diagnostican alrededor de 6 millones de personas cada año y aproximadamente un 9-13% (630 millones de personas) de la población mundial ya está infectada (1). En 2012 la infección por VPH tuvo una prevalencia en mujeres con citología normal del 11-12% globalmente (2) y del 13% en España. En América del Norte se dio una prevalencia del 5% ese año y en África del 21% (3).

4.1.1.2. Cáncer de cuello de útero

El cáncer de cuello de útero es el 4º cáncer más común en mujeres globalmente (4) y el 1º en África central y del este.

Respecto a su incidencia, se considera el segundo cáncer más común (15'2 casos por 100.000 personas). En 2012 se diagnosticaron aproximadamente 528.000 nuevos casos en el mundo, de ellos 83.000 se dieron en regiones con un alto desarrollo y 445.000 en regiones en vías de desarrollo, lo cual es el 84% del total de nuevos casos mundiales (4). En estas regiones menos desarrolladas el VPH es el causante de casi el 12% de todo el cáncer femenino (5).

En cuanto a la mortalidad es el 4º cáncer causante de muerte en la población femenina mundial (4), con una tasa de mortalidad del 52% (5), y una incidencia de 7'8 casos por 100.000 personas (6). En 2012 causó 266.000 muertes (el 7'5% de todas las muertes por cáncer en la población femenina global). 36.000 de esas muertes se dieron en países desarrollados y más del 85% (alrededor de 230.000) en países en vías de desarrollo (4).

En España, en el año 2015 se dieron 2100 nuevos casos de cáncer de cérvix, que provocaron 740 muertes (7).

Las tasas de incidencia y mortalidad más altas se dan en: África subsahariana, el sureste asiático, América del Sur, el Caribe y Europa central y del este (3). Las tasas de incidencia más bajas se dan en el oeste de Asia (3).

4.1.1.3. Cáncer de cavidad oral y orofaringe

El cáncer de cavidad oral y orofaringe es el 11º cáncer más común globalmente (8). Presenta una alta incidencia en India, Australia, Sudáfrica, Francia y Brasil. Afecta sobre todo a hombres y sus principales factores de riesgo son el alcohol y el tabaco. Existe un porcentaje del 25-35% que se cree podría estar asociado al VPH, en concreto el cáncer de las amígdalas palatinas y base de la lengua (9). Es más, la incidencia de este tumor ha aumentado en los últimos 30 años (10), lo cual podría deberse a la acción del VPH.

El IARC estima que el 31% de los cánceres de cavidad oral y orofaringe son atribuibles al VPH

En 2007 el IARC (Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer) estimó que aproximadamente el 31% de los cánceres escamosos de cavidad oral y orofaringe eran atribuibles a este virus (11), el 39% en el oeste y norte de Europa (12). No obstante, hizo distinción entre diferentes

regiones, en el sur de Europa menos del 20% de estos cánceres tenían relación con VPH, pero en América del Norte un 60% la tenían (11).

4.1.2. El virus del papiloma humano

El VPH pertenece al género Papillomaviridae, familia Papovaviridae (13), formada por más de 100 tipos de virus, 40 de ellos de transmisión sexual (14).

4.1.2.1. Estructura

Es un virus ADN bicatenario epiteliotrópico de pequeño tamaño. Tiene un diámetro de aproximadamente 52-55 nm (15) y está compuesto por una cápside proteica en cuyo interior se puede encontrar el genoma de ácido nucléico de doble cadena. No posee envoltura.

El ADN viral, una vez alcanza la célula huésped, se puede o integrar en el genoma de ésta, no integrarse, permanecer en estado latente en forma episomal (fuera del cromosoma huésped) o permanecer como una combinación de ambos (16). Está formado por aproximadamente 8000 pares de bases que se pueden dividir en tres regiones: una región precoz de 4000 pares que correspondería a seis genes, una región tardía de 3000 pares de bases que corresponden a dos genes y una región reguladora no codificante de 1000 pares de bases (15).

La región precoz está compuesta por los genes E (del inglés *early*, que significa temprano).⁵ Se conocen seis genes tempranos: E1, E2, E4, E5, E6 y E7 (15). Se expresan durante las etapas tempranas del ciclo viral y su función es codificar las proteínas involucradas en la replicación y regulación del virus, para su mantenimiento. La región tardía está compuesta por los genes L (del inglés *late*, que significa tardío). Se conocen dos genes tardíos: L1 y L2 (15). Se expresan en las etapas tardías del ciclo viral y su función es codificar las proteínas estructurales que forman la cápside. Cabe recalcar que el gen E4 se considera realmente un gen tardío (15). La región reguladora no codificante se ocupa de la regulación de la replicación y transcripción del ADN viral, rige la expresión génica y ensamblaje de partículas virales. El VPH es un virus bicatenario, es decir, requiere de la ADN polimerasa de la célula huésped para su replicación, y es en la región reguladora no codificante donde se encuentran los sitios de unión para los factores hormonales y proteicos del huésped.

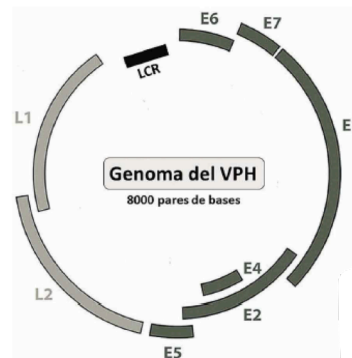


Imagen 1: Genoma VPH. E (gen temprano), L (gen tardío), LCR (región reguladora no codificante) (8).

El VPH expresa sus genes de forma secuencial y paralela a la maduración del epitelio cervical donde se ha asentado. En las capas basales del epitelio expresa los genes E y posteriormente, en las capas más superficiales y diferenciadas expresa los genes L. Estos genes tardíos son codificados a proteínas tardías que se ensamblan para formar capsómeros icosaédricos. Los capsómeros se unen para formar la cápside viral, en la que se puede encontrar un 95% de proteínas L1 y un 5% de proteínas L2 (15).

4.1.2.2. Clasificación

Los diferentes tipos de VPH se clasifican según la dotación antigénica de los capsómeros que conforman la cápside proteica. Como ya hemos comentado, se han secuenciado hasta el momento más de 150 genotipos diferentes de VPH, los cuales se pueden agrupar en cinco géneros. Además, estos virus presentan diferentes tropismos, es decir, tienen preferencia por un tipo de epitelio determinado. Gracias a esto se pueden dividir en dos grandes grupos según su lugar de actuación: cutáneos y mucosos.

Entre los genotipos que infectan tejido oral se encuentran los de alto riesgo: VPH-16 y VPH-18

Aproximadamente 30 tipos de VPH infectan las mucosas, ya sean nasofaríngea, oral o genital (13). Estos virus se dividen en otros tres grupos según su potencial neoplásico: de alto, intermedio y bajo riesgo (14). Los genotipos considerados de bajo riesgo son los siguientes: 2, 6, 11, 13, 43, 44 y 48; los de intermedio riesgo son: 31, 33, 35, 50, 51, 52; y los de alto riesgo: 16, 18, 45 y 59 (14). Los genotipos 16 y 18 son los subtipos de alto riesgo más comunes y se relacionan con lesiones precancerosas y cancerosas (16). 15 subtipos de VPH de alto riesgo se relacionan con cáncer de cuello de útero y se estima que los subtipos 16 y 18 causan aproximadamente el 70% de los cánceres cervicales de todo el mundo (el 16 causa el 55-60%, el 18 causa el 10-15%) (12). Otros 10 tipos restantes causan el 25-35% (12). Cabe destacar que el potencial oncogénico de cada genotipo varía a pesar de expresar las mismas oncoproteínas (18). Los subtipos de bajo riesgo más comunes son el 6 y el 11 (15).

Los genotipos que se relacionan con las lesiones orales son: 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35 y 57. Los subtipos 13 y 32 son exclusivos de la cavidad bucal (14).

La prevalencia de los diferentes subtipos de VPH en orden decreciente es la siguiente: 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, 35, 59, 56, 51, 39, 6, 73, 68 y 82 (12).

La principal vía de transmisión es por contacto orogenital con un sujeto infectado

4.1.3. La infección genital por VPH

4.1.3.1. Anatomía e histología del cuello uterino

El cuello uterino, también llamado cérvix, es la prolongación inferior del útero, desde el fórnix vaginal circunferencial al orificio cervical externo.

Se divide en dos partes: la inferior y la superior. La inferior, también denominada exocérvix, portio uterino u hocico de tenca, es la parte que se puede observar con un colposcopio. La parte superior, también llamada cérvix supravaginal o endocérvix, se localiza desde el borde superior del fórnix hasta el orificio cervical interno.

Su superficie está revestida de dos tipos diferentes de epitelios: escamoso estratificado y cilíndrico.

El exocérvix está revestido por un epitelio escamoso estratificado formado por cuatro capas:

1. Capa de células basales o germinales: Es la capa más profunda y está constituida por una sola fila de células inmaduras (19). Son células cuboides pequeñas con núcleos grandes redondos u ovales y escaso citoplasma (20). A veces se pueden observar figuras mitóticas. Más profunda a esta capa encontramos la membrana basal.
2. Capa parabasal o de células espinosas: Se sitúa por encima de la capa basal y está formada por dos o cuatro filas de células inmaduras con forma poliédrica e irregular, sus núcleos son grandes y ovales y se pueden apreciar nucléolos (20). Estas células generan a las células que forman el epitelio suprayacente (19).
3. Capa de células intermedias o naviculares: Formado por cuatro a seis filas de células aplanadas poliédricas con núcleos pequeños redondos y oscuros, que contrastan con un citoplasma claro rico en glucógeno (20). Estas células se encuentran separadas unas de otras por espacio intercelular (19).

4. Capa superficial o estrato córneo: Capa de cinco a ocho filas de células planas y alargadas con núcleos pequeños, uniformes y picnóticos y un citoplasma rico en glucógeno. Se pueden encontrar filamentos de queratina y colágena en la superficie celular. Las células de esta capa se desprenden hacia la superficie.

El endocérvix está revestido por epitelio cilíndrico. Este epitelio está formado por una capa aislada de células cilíndricas altas con núcleos redondeados situados en la base celular. Las células más cilíndricas tienen una función secretora, pero unas cuantas de ellas son ciliadas y tienen función de transporte (20).

El VPH penetra en el organismo por la unión escamocilíndrica, ya que es la zona más susceptible del cérvix

Existe un punto del cérvix en el orificio cervical externo donde se unen estos dos epitelios y se denomina unión escamocilíndrica. Se considera un punto dinámico, ya que sufre cambios en situaciones como la pubertad, la estimulación hormonal, el embarazo o la menopausia, por ejemplo (19). También se denomina zona de transformación, ya que sus células pueden sufrir un proceso de metaplasia, que es la transformación de un tipo de célula madura a otro tipo de célula también madura. En este caso, el paso de una célula cilíndrica a otra escamosa estratificada.¹¹ Se puede deber a diferentes factores, entre ellos la inflamación crónica o prácticas sexuales y es en esta zona por donde el VPH penetra en el organismo.

4.1.3.2. Vías de transmisión

El VPH se transmite por contacto directo y existen dos vías: la vertical y la horizontal. Para que se produzca la transmisión el receptor debe presentar algún tipo de lesión en su epitelio que favorezca la entrada del virus a su organismo.

La vía de transmisión más conocida es por contacto sexual, ya sea genital u oral, con un sujeto infectado. Ésta se engloba dentro de la vía horizontal, aunque existen otras, como el contacto con sangre de un sujeto con el virus o la autoinoculación. Por otro lado, la vía vertical consiste en la transmisión del virus de la madre al feto.

4.1.3.3. Etiología

4.1.3.3.1. Primer contacto y presentación de las proteínas E y L

Como hemos comentado en el apartado *Vías de transmisión* el VPH puede entrar en contacto con una persona de diversas formas. La forma más conocida es por contacto sexual con una persona infectada, en concreto un hombre infectado del virus que tiene relaciones sexuales con una mujer sana.

De esta manera el VPH llega al tejido escamoso del cuello del útero de la mujer. Para que el virus pueda infectar a la mujer debe encontrar pequeñas heridas o microlesiones en el tejido superficial por las cuales pueda llegar a los estratos basales de éste. Normalmente el virus penetra en las células basales a la altura de la unión escamocilíndrica, ya que es el área más susceptible.

Un breve recordatorio del mecanismo general de penetración de un virus en una célula huésped: el virus reconoce a una célula mediante receptores específicos y se fija a ella; penetra en su interior mediante fusión de membranas o endocitosis; pierde la cápside y libera el genoma viral dentro del núcleo de la célula.

En nuestro caso, una vez el virus ha llegado a las células basales del epitelio escamoso a través de una lesión en el tejido se une a una de estas células a través de un receptor de membrana, la molécula integrina alfa 6 (15). Penetra dentro de la célula huésped y libera su genoma dentro del núcleo de ésta, el material genético vírico puede integrarse en el genoma de la célula, permanecer en forma episomal o

El VPH aprovecha el ciclo celular propio de la célula huésped para replicarse

como una combinación de ambas. En este momento inicia su ciclo reproductivo, empieza a replicarse a niveles muy bajos coordinado con la división celular de la célula y expresa los genes virales tempranos E (15). Es decir, el virus aprovecha la capacidad de proliferación de la célula huésped para replicarse.

La célula basal infectada, que ya muestra signos de disrupción celular debido al virus, continúa su diferenciación y migra hacia la superficie epitelial. Durante este proceso la replicación viral se estimula y se produce la acumulación de viriones dentro de la célula huésped. La célula infectada expresa los genes tempranos E durante todas las etapas de diferenciación, pero solamente en los estratos más superficiales y diferenciados expresa los genes tardíos L (15). Por lo tanto, las proteínas L1 y L2 del virus son expresadas solamente en los queratinocitos superficiales diferenciados, donde se ensamblan y forman la cápside (15).

La infección puede resolverse gracias a la acción del sistema inmune o puede evolucionar a LSIL y ésta a HSIL que puede degenerar en carcinoma escamoso de cérvix

En este momento pueden darse diferentes opciones. El sistema inmune del organismo huésped puede combatir la infección, la cual regresará y se resolverá, o puede progresar a lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL). Ésta puede evolucionar a lesión de alto grado (HSIL) y finalmente a carcinoma escamoso de cérvix (18).

Las células huésped infectadas por el virus seguirán su ciclo natural, por lo que las células terminales del estrato córneo del tejido se descamarán, produciendo la propagación del virus.

4.1.3.3.2. Genes supresores tumorales

Para poder abordar las vías moleculares por las cuales el VPH, a través de sus oncoproteínas, provoca la división celular incontrolada, hay que hacer mención de los genes supresores tumorales que evitan esta proliferación indiscriminada.

Proteína del retinoblastoma/producto del gen del retinoblastoma (pRb):

Es una proteína nuclear codificada por un gen que se encuentra en el cromosoma 13 banda q14 (21). Su función es regular la actividad de distintos factores de transcripción, como E2F, al cual se une, impidiendo la progresión del ciclo celular. De esta forma bloquea el ciclo ante una lesión del ADN, frenando una proliferación celular errónea. La pRb activa se encuentra hipofosforilada, cuando esta proteína se fosforila cambia su conformación molecular impidiendo la unión a E2F. Es la liberación del factor E2F lo que favorece la proliferación celular incontrolada (18). Las quinasas dependientes de ciclina (CDK4 y CDK6) pueden fosforilar la pRb en medio de la fase G₁, provocando la transición a la fase S. Estas quinasas son activadas por las ciclinas D (18).

Proteínas supresoras tumorales p16 y p21:

Grupo de proteínas supresoras de tumores que se encargan de inactivar las CDK.

La inactivación de pRb provoca la sobreexpresión de p16, que detiene la célula en fase G₁

La p16, también denominada CDKN2A (inhibidor 2A de quinasa dependiente de ciclina) (18) se une a las CDK4 y CDK6 e inhibe su actividad quinasa. Estas CDK están implicadas en el control de la fase G₁ del ciclo celular, al inhibirlas se impide que defosforilen la pRb y que se libere el factor E2F (18). La pRb produce un control negativo sobre la p16, es decir, la inactivación de pRb lleva a una sobreexpresión de p16. Esto provoca una acumulación de pRb activa (hipofosforilada) y detención de la célula en la fase G₁ (18).

La p21 se une a los complejos CDK4/ciclina D y CDK2/ciclina E e inhibe su actividad. Estos complejos participan en la transición de la célula de fase G₁ a fase S del ciclo y esta parada permite que la célula repare su ADN dañado (22).

Gen supresor tumoral p53:

El gen p53 se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 banda 13 (23). Su función es reparar el ADN dañado y regular el ciclo celular ante una lesión del ADN, deteniendo el ciclo celular en G₁, por esto adquiere el nombre de “guardián del genoma”. Además, p53 estimula la activación de p21.

P53 repara el ADN dañado y estimula la activación de p21, que detiene la célula en la fase G₁

4.1.3.3.3. Interacción de las oncoproteínas del VPH con las proteínas supresoras de tumores

Las células epiteliales infectadas por el VPH expresan en su superficie las oncoproteínas E6 y E7. En los genotipos de alto riesgo estas oncoproteínas pueden inactivar diferentes proteínas supresoras de tumores provocando una proliferación celular incontrolada, es decir, son las encargadas de la transformación neoplásica.

Las oncoproteínas E6 y E7 degradan p53 e inactivan pRb respectivamente, provocando la progresión del ciclo viral, incluso bajo la sobreexpresión de p16, que se ve sobrepasada

La oncoproteína E6 se une a p53 e induce su degradación a través de la vía proteolítica mediada por ubiquitina (16). También está involucrada en la activación de la telomerasa permitiendo la regeneración de la parte final de los cromosomas de la célula durante la replicación.

La oncoproteína E7 se une a la pRb y provoca la liberación del factor E2F (16), provocando la progresión del ciclo viral. E7 puede llevar esto a cabo incluso sin la fosforilación de pRb por parte de las CDK y bajo la sobreexpresión de p16. Esto demuestra que la actividad de la p16 puede verse sobrepasada por E7, ya que en ausencia de E7 p16 habría detenido el ciclo celular mediante la inactivación de las CDK. Por consiguiente, en presencia de E7 p16 pierde su efecto supresor de tumores.

En los genotipos de bajo riesgo las oncoproteínas E6 y E7 poseen una afinidad diez veces menor

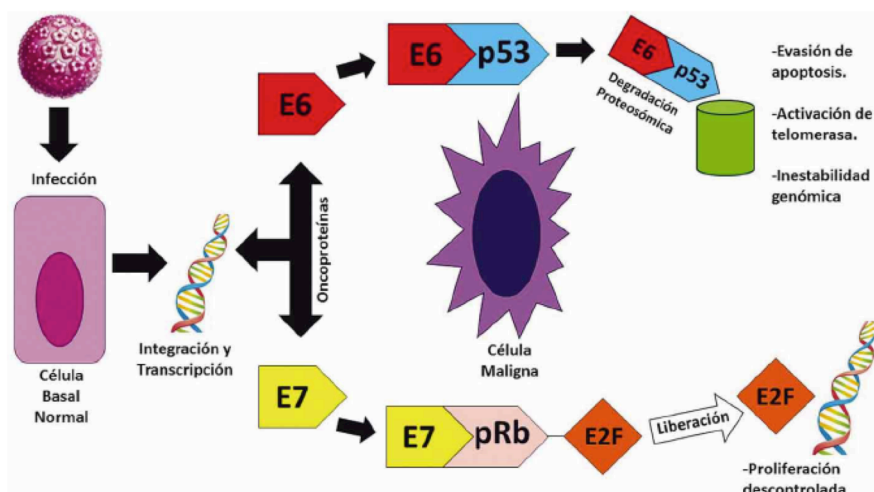


Imagen 2: Mecanismo de acción carcinogénico del VPH (8).

a la unión con pRb. Por ejemplo, el genotipo 1 que causa lesiones cutáneas posee una E7 que se une a la pRb pero es incapaz de provocar su inactivación (18). Esto se debe a una diferencia en el dominio de unión de E7 a pRb, que determina su capacidad para inactivar pRb superando el efecto inhibitorio de p16 (18).

Por otro lado, la proteína E5 también activa la proliferación celular, al unirse a ciertos receptores de factores de crecimiento (PDGF, EGF, erb-b) (12).

La acción sinérgica de E6 y E7 provoca la entrada de la célula en fase S desencadenando un estado de mitosis continuo y descontrolado, el incremento de mutaciones, inestabilidad genómica y la consiguiente formación de un clon celular maligno.

4.1.3.4. Lesiones genitales

La mayoría de infecciones transcurren de una forma subclínica sin dar sintomatología

En primer lugar, cabe recalcar que la infección por el virus que no progresa es asintomática en personas inmunocompetentes. Nuestro sistema inmune podría combatir la infección y ésta regresar sin nosotros ser conscientes de ello. De hecho, la mayoría de infecciones transcurren de una forma subclínica, sin dar sintomatología y pasando desapercibidas.

4.1.3.4.1. Benignas

4.1.3.4.1.1. Papiloma

Neoplasia benigna poco frecuente que se da habitualmente en mujeres en edad sexual activa (24). Se presenta como una proliferación en el exocérnix, que puede aparecer como una neoformación única, el papiloma solitario, o como un conjunto de proliferaciones asociadas, los condilomas acuminados. Son estos últimos los que se atribuyen al VPH y asocian lesiones similares en vulva y vagina (24). Es por esto que los condilomas acuminados se consideran una enfermedad de transmisión sexual y los papilomas solitarios una neoplasia benigna.

Son formaciones blandas, de aspecto verrugoso y color rojo grisáceo. Histológicamente poseen un eje central de tejido conjuntivo y están recubiertas de epitelio escamoso, similar al del exocérnix. No obstante, se diferencian de él en que pueden sufrir hiperqueratinización superficial y darse acantosis en su superficie (24).

En cuanto a la clínica, estas lesiones suelen ser asintomáticas. En el caso de que hayan sufrido algún tipo de traumatismo pueden provocar leucorrea o pequeñas pérdidas de sangre.

4.1.3.4.2. Premalignas

Existen dos clasificaciones para las lesiones premalignas de cuello de útero: la de Richart y la de Bethesda. La primera de ellas fue instaurada en 1967, pero fue desbancada posteriormente por la clasificación de Bethesda, creada en el año 1985 (12). No obstante, todavía se pueden encontrar ambas clasificaciones por lo que es relevante mencionar ambas. Previamente a estas clasificaciones se utilizaba el término de displasia leve, moderada y grave para clasificar las lesiones premalignas del cérvix uterino.

Existen dos clasificaciones para las lesiones premalignas de cérvix, actualmente se prefiere la de Bethesda que divide las lesiones en LSIL (lesión de bajo grado) y HSIL (lesión de alto grado)

La clasificación de Richart se organiza en torno al término CIN, que significa neoplasia cervical intraepitelial. Esto engloba epitelios escamosos bien diferenciados pero que tienen alteraciones en la estructura o maduración; o epitelios totalmente indiferenciados que no provocan invasión. La clasificación es la siguiente:

1. CIN I o displasia leve: Las alteraciones afectan solamente al tercio inferior del grosor del epitelio escamoso.
2. CIN II o displasia moderada: Se ve afectado entre un tercio y dos tercios del espesor del epitelio.
3. CIN III o displasia grave y carcinoma in situ: Se afecta prácticamente todo el grosor del epitelio.

Un problema visible de esta clasificación es la amplitud que posee (12). No todos los estadios de CIN presentes en la clasificación van a evolucionar a cáncer, aunque algunas de estas lesiones progresaran a neoplasias malignas algunas otras regresarán, ya que serán una infección autolimitada causada por VPH.

LSIL es análoga a CIN I y HSIL es análoga a CIN II y III

La clasificación Bethesda supone una mejora respecto a esta cuestión, ya que incluye dos categorías que diferencian las lesiones con alta tasa de regresión y de progresión. Esta clasificación se basa en el concepto de SIL, que significa lesión intraepitelial escamosa, y es la siguiente:

1. LSIL o lesión intraepitelial escamosa de bajo grado: Esta categoría engloba los epitelios que muestran cambios en sus células análogos a CIN I. Estos cambios que asocian a infecciones transitorias de VPH, por lo que el aclaramiento viral se acompaña de regresión de la lesión. En concreto, la tasa de regresión espontánea de LSIL es del 60-90% y su tasa de progresión a HSIL es del 5-10% (12).
2. HSIL o lesión intraepitelial escamosa de alto grado: Engloba los epitelios que sufren displasia moderada o grave. Es análoga al estadio CIN II y III. Estas lesiones tienen mayor riesgo de progresión a cáncer, en concreto, su tasas de progresión a carcinoma invasor es del 30% (12).

Además de LSIL y HSIL la clasificación Bethesda incluye otras tres categorías no englobadas en las mencionadas anteriormente. Estas son las atipias de células escamosas de significado incierto, también llamadas ASCUS; las atipias en células escamosas que no permiten excluir una lesión de alto grado o ASC-H; y las atipias en células glandulares de significado incierto o AGUS.

Cabe mencionar que las lesiones premalignas de cuello de útero son asintomáticas.

4.1.3.4.3. Malignas

4.1.3.4.3.1. Carcinoma escamoso

El carcinoma escamoso es el tipo histológico de cáncer de cérvix más común. Existen dos variedades: el queratinizante y el no queratinizante.

El agente causal de este cáncer es el virus del papiloma humano, pero existen cofactores que pueden propiciarlo. Algunos de estos factores de riesgo son: el

Aunque inicialmente el cáncer de cérvix es asintomático una hemorragia genital anómala o flujo maloliente pueden hacernos sospecharlo

comienzo precoz de las relaciones sexuales y la promiscuidad (un factor de riesgo que comparte con la infección por el VPH); el tabaco; la toma de anticoncepción oral durante más de cinco años; o la inmunosupresión crónica.

Este cáncer tiene un período de latencia prolongado, ya que la transformación de las lesiones precursoras a carcinoma es lenta. En los estadios iniciales suele ser asintomática, no obstante en caso de presentar síntomas puede darse hemorragia genital, normalmente de poca intensidad, postcoital o como metrorragia (12). También puede darse flujo maloliente. En casos más avanzados podemos encontrar dolor pélvico, disuria, tenesmo rectal y linfedema de extremidades inferiores.

4.1.3.5. Cribado del cáncer de cuello de útero

En 2006 el Sistema Nacional de Salud español incluyó en sus recomendaciones la realización de cribado de cáncer de cuello de útero en mujeres mayores de 35 años de manera opcional. Se ha demostrado que este cribado ha reducido la incidencia y mortalidad de esta enfermedad en un 80% (25).

Se proponen dos posibles estrategias de cribado: la citología y la prueba de detección de VPH,

El cribado de VPH se inicia a los 25 años independientemente del inicio de las relaciones sexuales o presencia de factores de riesgo

las cuales se pueden combinar en el co-test. La citología consiste en el cepillado o raspado de la superficie del exocérnix y endocérnix y el posterior estudio al microscopio de la muestra obtenida. Este método adquiere el nombre de prueba de Papanicolau, el cual tiene una sensibilidad del 61'3% y una especificidad del 93'5% para la detección del CIN II (25). Las células

infectadas por VPH presentan cambios morfológicos, pero también pueden sufrir cambios debidos a otros microorganismos o por cambios en la flora vaginal, por lo que es un método subjetivo que depende de la capacidad para distinguir los cambios específicos por parte del profesional.

Por otro lado está la prueba de detección del VPH, que tiene mayor sensibilidad. Mediante diferentes técnicas de biología molecular determina si el ADN obtenido de la muestra se conjuga con otra secuencia de ADN de VPH complementaria, confirmando la positividad de la prueba.

La incidencia de cáncer de cérvix en mujeres menores de 25 años es muy baja y gran parte de ellas son portadoras de infecciones por VPH de alto riesgo transitorias, por lo que su cribado no sería beneficioso

El intervalo de tiempo entre una prueba de cribado y la siguiente debe elegirse de manera que la posibilidad de desarrollo de un cáncer invasor entre ambas pruebas sea muy improbable. Las pautas de aplicación del cribado de cáncer de cuello de útero son las siguientes (25):

- Se inicia a los 25 años, independientemente de la edad de inicio de las relaciones sexuales o la presencia de otros factores de riesgo. A las mujeres menores de 25 a las que no se les ha administrado la vacuna se les recomienda su aplicación.
- Entre los 25 y 30 años: Se recomienda realizar una citología y si es negativa repetirla cada 3 años hasta los 30 años de edad.
- Entre los 30 y los 65 años: Existen tres opciones de cribado, la preferente consiste en realizar un prueba de detección del VPH cada 5 años. Otras opciones aceptables son realizar una citología cada 3 años o co-test cada 5 años.
- Se finaliza a los 65 años siempre que se cumpla lo siguiente: cribado negativo durante los últimos 10 años y la ausencia de antecedentes de CIN o cáncer de cuello de útero durante los últimos 20 años.

Existen situaciones especiales de cribado:

- **Mujer con histerectomía previa:** Si se realizó por patología benigna se finaliza el cribado tras la histerectomía. Si se realizó por CIN se debe continuar el cribado durante mínimo 20 años tras los 2 primeros años de controles negativos.
- **Mujer con antecedente de CIN II que ha sido tratada:** Se recomienda realizar el cribado rutinario durante mínimo 20 años tras los 2 primeros años de co-test negativos.
- **Mujer inmunodeprimida:** A partir de los 21 se recomienda realizar citología anual. A partir de los 30 en mujeres con linfocitos CD4 mayores o igual a 200 cl/microlitros o con tratamiento antirretroviral activo realizar co-test cada 3 años; en mujeres con linfocitos CD4 por debajo de 200 cl/microlitros o sin tratamiento antirretroviral realizar co-test anual.

Si la prueba de detección de VPH es positiva se realizará una citología. Si la prueba de detección de VPH es positiva y la citología anormal se realizará una colposcopia. Si la prueba de detección de VPH es positiva pero la citología negativa el riesgo de lesión cervical es relativamente bajo por lo que habrá que seleccionar a las pacientes de riesgo para remitirlas a colposcopia. Las que no sean seleccionadas para colposcopia se les realizará un control al año.

Cabe destacar que no existe ninguna prueba cuya sensibilidad sea del 100%, por lo tanto siempre existe un pequeño riesgo de presencia de cáncer tras pruebas de cribado negativas.

4.1.3.6. Vacuna del VPH

Hasta ahora existían dos tipos de vacunas contra el VPH comercializadas en España: la bivalente y la tetravalente (4vVPH) (26). La vacuna bivalente inmuniza contra los subtipos 16 y 18 y la tetravalente contra los subtipos 6, 11, 16 y 18. Ambas se aplican intramuscularmente y está aprobada su administración en Europa en mujeres y hombres a partir de los 9 años de edad. Desde el 2007 la pauta de vacunación recomienda la aplicación de la vacuna a niñas entre 11 y 14 años y actualmente se realiza una pauta de dos dosis en niñas de 12 años. Hasta el año 2015 la cobertura media nacional fue del 79'2% (26).

En 2017 llegó a Europa una nueva vacuna contra el VPH que poseía una cobertura más amplia, la vacuna nonavalente. Ésta protege contra los subtipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58. También se aplica intramuscularmente y está aprobada su administración en Europa en mujeres y hombres a partir de los 9 años de edad, como la bivalente y la tetravalente (26).

El calendario de vacunaciones de la Asociación Española de Pediatría de 2018 recomienda informar sobre la posibilidad de vacunación de los niños, aunque existe escasa experiencia en varones (7). No obstante, existen países que ya vacunan a varones adolescentes, como Austria, Bélgica, Suiza, Australia, Canadá y EEUU, entre otros (28).

Cervarix®	Gardasil®	Gardasil9®
Personas de 9 a 14 años inclusive: - Dos dosis: 0 y 6 meses	Personas de 9 a 13 años inclusive: Puede administrarse siguiendo una pauta de 2 o de 3 dosis: - Dos dosis 0 y 6 meses - Tres dosis: 0, 2 y 6 meses	Personas de 9 a 14 años inclusive: - Dos dosis: 0 y 6 meses
Personas de 15 años en adelante: - Tres dosis: 0, 1 y 6 meses	Personas de 14 años en adelante: - Tres dosis: 0, 2 y 6 meses	Personas de 15 años en adelante: - Tres dosis: 0, 2 y 6 meses

Imagen 3: Pautas vacunación del VPH para las tres vacunas según la edad de la primera administración. Cervarix (bivalente), Gardasil (tetravalente), Gardasil 9 (nonavalente) (28).

Las tres son vacunas inactivadas, contienen las proteínas estructurales L1, pero no son infecciosas.

En el caso de personas previamente vacunadas con la vacuna bivalente o tetravalente (la pauta completa) es posible y seguro recibir posteriormente la vacuna nonavalente. En mujeres con resultados anormales en la citología de cuello de útero se recomienda su vacunación si están dentro de la pauta de vacunación, ya que ésta puede protegerlas de otros subtipos de los que no estén infectadas.

Cabe destacar que la vacunación no curará la infección actual. Es decir, las vacunas contra el VPH solo protegen contra los subtipos del virus de los cuales la persona no está infectada en el momento de la administración. Debido a esto la vacunación tendrá mayor eficacia si las personas no están infectadas de ninguna forma.

Para concluir, la vacuna bivalente y tetravalente puede prevenir el 70-80% de los cánceres de cuello de útero debido a su cobertura. En cambio, la vacuna nonavalente, al presentar una ampliación de la cobertura puede prevenir potencialmente el 85-95% de los cánceres vulvar, vaginal y anal relacionados con el VPH, además del 70-90% de cáncer de cuello de útero (28). Es asumible que en un futuro ésta sea la vacuna administrada en la población, o se produzca la revacunación en personas ya vacunadas con alguna de las otras dos vacunas.

La vacuna nonavalente puede prevenir el 85-95% de los cánceres vulvar, vaginal y anal; y el 70-90% de los cánceres de cuello de útero

4.1.4. La infección oral por VPH

4.1.4.1. Histología de la cavidad oral

La cavidad oral está revestida en su mayor parte por un epitelio plano estratificado no queratinizado, el cual puede sufrir procesos de queratinización en algunas zonas de mayor fricción, como las encías, la superficie dorsal de la lengua o el paladar duro. Es decir, presenta el mismo tipo de epitelio que encontramos en el ectocérvix.

4.1.4.2. Vías de transmisión

Las lesiones de la cavidad bucal se deben en mayor medida a contacto sexual orogenital (14). No obstante, los agentes antimicrobianos que se pueden encontrar en la saliva, como lisozima, citoquinas, IgA o lactoferrina protegen a estos tejidos de la infección por el virus (14). Además, la alta queratinización de los tejidos de la cavidad bucal aporta otra barrera más contra la infección.

Los agentes antimicrobianos presentes en la saliva pueden proteger a los tejidos frente a la infección

Solo entre 10-20% de las infecciones se vuelven crónicas o persistentes y son estas las que tienen más peligro de volverse lesiones neoplásicas malignas (14).

4.1.4.3. Lesiones de la cavidad oral y orofaringe

4.1.4.3.1. Benignas

Dentro de las lesiones benignas de la boca relacionadas con el VPH podemos encontrar el papiloma, el condiloma acuminado y la hiperplasia epitelial focal. Todas ellas son lesiones papilares de

crecimiento esofítico (1). Pueden darse de forma aislada o múltiple y con una superficie lisa o verrugosa, blanca, rosa o roja dependiendo del grado de queratinización de la lesión. Pueden desarrollarse en cualquier lugar de la boca pero es más habitual a nivel de la lengua, paladar blando y labios (1).

4.1.4.3.1.1. Papiloma bucal y condiloma acuminado

Es el tumor epitelial benigno más frecuente de la mucosa oral (29) y se presenta de manera indistinta entre hombres y mujeres, entre los 30 y 50 años habitualmente. Son lesiones pequeñas de superficie rugosa cuyo color oscila de blanco a gris, dependiendo de su

El papiloma bucal es el tumor epitelial benigno más frecuente en la mucosa oral y se relaciona con los subtipos de bajo riesgo VPH-6 y VPH-11

grado de queratinización. Se asemejan a una coliflor. No superan el centímetro aunque a veces se encuentran de 3 cm (14). Los subtipos 6 y 11 son los subgrupos más comúnmente hallados en la cavidad bucal (14). Como hemos



Imagen 4: papiloma bucal (14).

comentado anteriormente en el apartado *Lesiones genitales*, el papiloma puede presentarse de forma solitaria o como un conjunto de proliferaciones asociadas, al que denominamos condiloma acuminado.

4.1.4.3.1.2. Hiperplasia epitelial focal

También llamada enfermedad de Heck, se caracteriza por lesiones papulares múltiples de 1 a 5 mm de diámetro del mismo color que la mucosa de alrededor, que posteriormente crecen convirtiéndose en una lesión esofítica, pedunculada o sésil (25). Se pueden encontrar en la lengua, labio inferior y mucosa yugal. Se relacionan con los subtipos 6, 11 y 42 del VPH (29). Tienen bajo potencial de progresión maligna, suelen regresar espontáneamente, aunque son frecuentes las recidivas. Se ha comprobado que los tejidos de alrededor pueden albergar el virus y ser los causantes de las recidivas (29).

La hiperplasia epitelial focal se relaciona con VPH-6, VPH-11 y VPH-42

4.1.4.3.2. Premalignas

4.1.4.3.2.1. Leucoplasia oral

Es la lesión premaligna oral más frecuente (1), presente mayoritariamente en hombres entre los 40 y 70 años. Se relaciona con

La leucoplasia oral es la lesión premaligna oral más frecuente. Además del VPH se relaciona con el tabaco y la fricción

el VPH, tabaco o la fricción. Se presenta como una placa blanquecina en la mucosa oral que no se



Imagen 5: leucoplasia oral en base de la lengua (14).

desprende con el raspado. Son lesiones asintomáticas. La malignización se relaciona con mayor tamaño, mayor tiempo de evolución, mayor edad del paciente, presencia de displasia, el sexo femenino y la localización en el suelo de la boca y superficie ventral de la lengua.

4.1.4.3.2.2. Eritroplasia oral

Eritroplasia significa “mancha o placa roja” y aunque lo clasificamos como lesión premaligna se considera una forma in situ del carcinoma escamocelular (25). Debido a esto esta lesión tiene un alto potencial neoplásico (1). Como es de esperar es una lesión roja asintomática que aparece en la mucosa oral. Posteriormente puede evolucionar a una dureza, una úlcera que no cicatriza o sangrar (25). Se puede encontrar en el paladar blando, la mucosa yugal, la superficie ventral y lateral de la lengua y el suelo de la boca. Es habitual encontrarla en pacientes hombres, fumadores y mayores.

4.1.4.3.2.3. Liquen plano oral

Es un trastorno inflamatorio crónico de la piel y mucosas que se da habitualmente en mujeres adultas y cursa en brotes. Se asocia a patología autoinmune y estrés emocional. Se pueden observar pápulas de pequeño tamaño planas, de color violáceo y pruriginosas. También puede aparecer eritema o ulceraciones mucosas asociadas y aproximadamente el 20% de las personas que lo padecen oralmente también tienen afectación cutánea. Se presenta sobre todo en mucosa yugal, aunque también puede aparecer en las encías y la lengua (25). Clínicamente pueden ser asintomáticos o dar un dolor intenso. Estos pacientes tienen más riesgo de padecer carcinoma espinocelular y enfermedad hepática crónica, como hepatitis C crónica activa (15). También se ha observado afectación del esófago, observándose eritema, erosiones y úlceras que pueden provocar odinofagia y disfagia progresiva (15).

4.1.4.3.2.4. Ameloblastoma

Es una neoplasia con un patrón folicular o plexiforme y un estroma fibroso (25). Se considera un tumor benigno localmente agresivo, por eso se encuadra dentro de una lesión premaligna. Aparece sobre todo entre los 40 y 50 años, sin existir predilección por un sexo. Su localización más habitual es la mandíbula, seguido del maxilar superior (25). Puede ocasionar un efecto masa local en el paciente, pero no presentan mayor sintomatología que ésta.

4.1.4.3.3. Malignas

4.1.4.3.3.1. Carcinoma escamoso

El carcinoma escamoso es el carcinoma de cavidad oral más frecuente, supone el 90% (25) Presenta una relación directa de causalidad no excluyente con el virus del papiloma humano, en concreto el subtipo 16 se ha detectado en carcinomas escamosos de lengua, amígdala y faringe (25).

Como hemos dicho, esta relación no es excluyente, es decir, existen casos de personas con este cáncer que no están infectados del virus y personas infectadas del virus que no han desarrollado este cáncer. Este tipo de carcinoma presenta diferentes factores de riesgo, los más importantes el tabaco y el alcohol. Estos pueden actuar de forma independiente o combinada. No obstante, se considera que el VPH podría actuar como modulador en el proceso de malignización de los tumores relacionados con estos factores (16). Por lo tanto, teniendo en cuenta al VPH y las vías de transmisión de este virus entran en juego factores de riesgo relacionados con la actividad sexual. Entre ellos encontramos el inicio temprano de relaciones sexuales, el aumento del número de parejas sexuales, historial de lesiones genitales o la práctica de sexo oral (16).

La relación de causalidad del VPH con el carcinoma escamoso oral no es excluyente: personas con cáncer pueden no estar infectados del virus y personas infectadas pueden no desarrollar cáncer

La relación de cáncer de células escamosas de cabeza y cuello con el VPH fue descrita por primera vez en 1985 (14). Es más, existe una clasificación del cáncer de cabeza y cuello que lo relaciona con el VPH (16):

1. Clase I: No sobreexpresa p16, VPH negativo. Es el cáncer de cabeza y cuello convencional sin evidencia de infección por virus del papiloma humano y probablemente causado por alcohol y tabaco. La p16 está inactivada y se dan mutaciones de p53.
2. Clase II: No sobreexpresa p16 pero es VPH positivo. Es el cáncer de cabeza y cuello convencional que adquiere la infección posteriormente, por ello no expresa p16.
3. Clase III: Sobreexpresa p16 y es VPH positivo. Es un cáncer de cabeza y cuello que contiene ADN de VPH y sobreexpresa p16. Es la clase que tiene más carga viral, la supervivencia a los 5 años es del 79%, más alta que en las otras clases.
4. Clase IV: Sobreexpresa p16 pero es VPH negativo. Ocupa un porcentaje pequeño de cánceres de cabeza y cuello y se puede deber a dos razones: son tumores en los que la sobreexpresión de p16 se debe a otras vías de señalización celular o por otro agente infeccioso que no es VPH; o una clasificación errónea como VPH negativo por falta de sensibilidad del test realizado.

Se ha demostrado que los tumores VPH negativos que sobreexpresan p16 tienen un mejor pronóstico que los que no sobreexpresan p16.

Este carcinoma se puede presentar como una lesión sobreelevada en la mucosa oral que no cura. En los estadios iniciales puede mantenerse asintomático, esto es hasta que la lesión no alcanza los 2-3 cm de diámetro (25). En caso de presentar síntomas podríamos encontrar: odinofagia, otalgia refleja, disfagia, hemorragias, anquiloglosia, adenopatías cervicales, movilidad de piezas dentarias, etc. Posteriormente, en los casos más avanzados puede aparecer disartria, hipoestesia de nervios linguales y mentonianos, restricción de la movilidad lingual en caso de infiltración profunda o trismus, si hay invasión de los músculos masticadores o del triángulo retromolar, entre otros síntomas. Además se pueden dar síntomas constitucionales como anorexia y pérdida de peso.



Imagen 6: carcinoma escamoso en base de la lengua (14).

Entre el contagio y aparición de alguna lesión pueden pasar de 3 meses a varios años y la supervivencia a los 5 años es del 59'4-67% (1).

4.2. Material y métodos

4.2.1. Material

Para llevar a cabo este estudio hemos seleccionado aleatoriamente y de forma ciega 50 muestras (no conocíamos el diagnóstico de las lesiones). Analizamos todas ellas mediante pruebas histológicas e inmunohistoquímicas y determinamos el diagnóstico de la lesión y la presencia de las siguientes proteínas: Ki67, p16, p21, p53 y e-cadherina.

Una vez conocimos el diagnóstico se dividió la muestra en 17 lesiones benignas, 21 premalignas y 12 malignas (anexo 1). Las lesiones benignas incluyen: úlcera (1 caso), papiloma (13 casos), hiperplasia post-tratamiento (1 caso) y dos pacientes cuyo diagnóstico fue de normalidad y que se incluyen en este grupo. Las lesiones premalignas incluyen: liquen plano (4 casos),

Disponíamos de 50 muestras de las que desconocíamos el diagnóstico. Se estudiaron y se determinó su diagnóstico y la sobreexpresión de las proteínas Ki67, p16, p21, e-cadherina y el gen p53

leucoplasia (7 casos), leucoplasia hiperplásica (5 casos), leucoplasia con displasia leve-moderada (2 casos) y leucoplasia con displasia moderada-severa (3 casos). Las lesiones malignas incluyen el carcinoma escamoso in situ (5 casos) y carcinoma escamoso (7 casos).

La proteína Ki67 está presente durante todas las fases activas del ciclo celular (G_1 , S, G_2 y mitosis) y ausente en la fase de reposo G_0 . Por esto es un excelente marcador de proliferación celular, lo cual veremos patente cuando se sobreexpresa. Sus datos se expresan en porcentaje.

La proteína supresora de tumores p16 detiene la célula en la fase G_1 del ciclo celular al unirse a las CDK e inactivarlas. La presencia de virus activo replicándose provoca la sobreexpresión de esta proteína, la cual intenta realizar su función, pero se ve sobrepasada por la oncoproteína E7, perdiendo su efecto supresor de tumores. Por lo tanto su sobreexpresión indica la presencia de VPH activo replicándose.

La proteína supresora de tumores p21 también detiene la célula en fase G_1 al unirse a los complejos CDK/ciclina e inactivarlos. Por lo tanto, su sobreexpresión indica una división incontrolada de células.

El gen supresor de tumores p53 repara el ADN dañado, deteniendo la célula en fase G_1 , además induce la activación de p21. Su sobreexpresión indica daño celular y sus datos se expresan en porcentaje.

La proteína e-cadherina se ocupa de la adhesión celular dependiente de Ca^{2+} y el mantenimiento de la polaridad, integridad y morfología celular de los tejidos epiteliales. La disminución de su expresión provocaría un aumento de migración celular, típico de procesos metastásicos en algunos cánceres. Por lo tanto, la disminución de su expresión en procesos cancerígenos da lugar a aumento de la invasión celular y proliferación de las células metastásicas (30).

Una vez conocidas todas las variables se dispusieron los datos en una tabla (anexo 2).

4.2.2. Métodos

4.2.2.1. Análisis histológico

En primer lugar se fijaron las muestras con formol al 10%, una vez fueron fijadas se eliminó el fijador y se deshidrataron aplicando diferentes soluciones acuosas de forma gradual de menor a mayor agente deshidratante. Se inició con alcohol al 50%, luego con una solución de 60%, 70%, 80%, 90%, 96% y alcanzando de forma progresiva el alcohol al 100%.

Posteriormente se realizó el aclaramiento con xilol y la impregnación con parafina para poder llevar a cabo los cortes finos que pudieran ser observados al microscopio. A continuación se realizaron los cortes del bloque con el microtomo, obteniendo un grosor entre 3 a 10 micrómetros.

Los cortes obtenidos fueron colocados sobre un portaobjetos, se eliminó la parafina, se incluyeron en xilol y se rehidrataron de nuevo haciéndolos pasar por graduaciones decrecientes de alcohol etílico hasta llegar a una solución de 100% agua.

Por último, se tiñeron las muestras con hematoxilina-eosina y se deshidrataron de nuevo para fijar de forma permanente el cubreobjetos.

4.2.2.2. Análisis inmunohistoquímico

El desenmascaramiento antigénico se efectuó en una olla a presión con tampón citrato a pH 6, lavado con agua corriente tres minutos. Se lavaron los portaobjetos con agua destilada y con PBS. La

técnica de marcaje inmunohistoquímico se llevó a cabo en un inmunoteñidor automático Optimax Plus de Biogenex de Menarini Diagnostics (Berkshire, England). Se ha utilizado la técnica Biotina/estreptavidina amplificada (BSA) según método supersensitivo de inmunodetección de Biogenex (San Ramón, EEUU).

Se utilizaron los siguientes anticuerpos del laboratorio DAKO (DAKO Cytomation, Carpintería CA 93013, EEUU): el anticuerpo para Ki67, clon PP-67; el anticuerpo para p16INK4a, clon E6H4; el anticuerpo para p21, clon DCS-60.2; el anticuerpo para p53, clon DO-7 y el anticuerpo para e-cadherina, clon ab15148.

Para valorar la técnica inmunohistoquímica de las proteínas e-cadherina, p16 y p21 se ha seguido un criterio uniforme y semicuantitativo. Se han valorado como 0 los resultados negativos y en función de la intensidad de 1 a 3, con el fin de permitir una comparación de los valores obtenidos entre sí.

Se realizó una valoración por dos observadores independientes de esta forma:

+++ = Tinción completa de la membrana celular de más del 50% de las células teñidas.

++ = Tinción mayor del 10% y menor del 50% de las células teñidas.

+ = Menos del 10% de células teñidas.

0 = Ausencia de tinción.

Para la valoración de Ki67 y p53 se ha seguido un método cuantitativo de manera porcentual teniendo en cuenta el número de células inmunopositivas frente a la totalidad de la celularidad estudiada.

4.2.2.3. Análisis estadístico

El objetivo del análisis estadístico es hallar una relación estadísticamente significativa entre las variables mencionadas anteriormente, otorgándoles más importancia a las proteínas p16 y Ki67. En el caso de hallar asociación entre ellas se estudiará su relevancia clínica. Para ello hago uso del paquete estadístico SPSS versión 22.

Poseo 7 variables: dos de ellas cuantitativas (Ki67 y p53) y 5 cualitativas (sexo, diagnóstico, p16, p21 y e-cadherina). La variable e-cadherina ha aportado resultados positivos en todos los casos por lo que la excluyo del estudio.

4.2.2.3.1. Estudio descriptivo de la muestra: análisis univariante

En primer lugar, realizamos un estudio descriptivo univariante de todas las variables. Para las variables cualitativas presentamos las frecuencias absolutas y en porcentaje y la moda. Para las variables cuantitativas presentamos las frecuencias absolutas y en porcentaje, medidas de tendencia central (media, mediana, moda), medidas de dispersión (rango, varianza, desviación estándar y rango intercuartílico), asimetría y curtosis.

4.2.2.3.2. Conversión de variables cualitativas no dicotómicas en dicotómicas

Poseemos cuatro variables cualitativas nominales, dos de ellas cualitativas no dicotómicas (diagnóstico y p21) y otras dos dicotómicas (p16 y sexo). Con el fin de facilitar el posterior estudio convertimos las dos variables cualitativas no dicotómicas en dicotómicas, obteniendo los siguientes datos:

- Diagnóstico: La muestra se divide en diagnóstico benigno, premaligno y maligno, agrupamos los tres diagnósticos en dos grupos: benigno y maligno (anexo 3). En el grupo benigno se incluyen las lesiones benignas y premalignas con menos posibilidad de

malignizar, que son: epitelio normal, papiloma, úlcera, hiperplasia post-tratamiento, leucoplasia, leucoplasia hiperplásica y liquen plano. El grupo maligno incluye las lesiones malignas y las premalignas con más tendencia a malignizar, que son: leucoplasia con displasia leve, leucoplasia con displasia moderada, cáncer in situ y carcinoma escamoso.

- Proteína de supresión tumoral p21: Adquiere tres resultados -, + y ++. Los resultados - y + equivalen a la no sobreexpresión de la proteína y los resultados ++ equivalen a la sobreexpresión de p21.

4.2.2.3.3. Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para las variables cuantitativas

Estudiamos la distribución de las dos variables cuantitativas (Ki67 y p53). Como poseemos una muestra de 50 casos utilizamos el test estadístico Kolmogorov-Smirnov, bajo la hipótesis nula de normalidad.

Hipótesis nula (H_0): La distribución se ajusta a la normalidad.

Hipótesis alternativa (H_1): La distribución no se ajusta a la normalidad.

El análisis se realiza a un nivel de confianza del 95% (NC=95%), por lo que un valor de p o significación asintótica igual o menor a 0'05 rechaza la hipótesis nula de normalidad de la distribución. Ya que el valor de p adquirido es menor de 0'05 rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa, es decir, la distribución de ambas variables no se ajusta a la normalidad.

4.2.2.3.4. Prueba U de Mann-Whitney para diferencia de medias de las dos variables cuantitativas

Para realizar una diferencia de medias de las variables cuantitativas respecto a las demás variables y tras conocer que su distribución no se ajusta a la normalidad hacemos uso de la prueba U de Mann-Whitney, una prueba no paramétrica de diferencia de medias para dos variables independientes. Aplicamos el test bajo la hipótesis nula de igualdad de las medidas de tendencia central entre ambos grupos.

Hipótesis nula (H_0): Las medidas de tendencia central son similares en ambos grupos.

Hipótesis alternativa (H_1): Las medidas de tendencia central son diferentes en ambos grupos.

El análisis se realiza a un nivel de confianza del 95% (NC=95%), por lo que un valor de p o significación asintótica igual o menor a 0'05 rechaza la hipótesis nula de igualdad, demostrando la diferencia de medias entre ambas variables.

4.2.2.3.5. Conversión de variables cuantitativas a cualitativas dicotómicas

El objetivo principal del estudio es hallar una relación de dependencia entre la oncoproteína p16 y las demás variables. Al ser una variable cualitativa dicotómica hemos realizado la conversión del resto de variables restantes siguiendo criterios histológicos con el fin de poder aplicar el test chi-cuadrado para variables cualitativas dicotómicas.

5% = sobreexpresión y valores < 5% = no sobreexpresión. Esto lo aplicamos tanto a la variable Ki67 como p53.

Tras esta conversión, sumada a la realizada anteriormente, obtenemos la siguiente tabla (anexo 4), sobre la que realizaremos el test chi-cuadrado.

4.2.2.3.6. Contraste de hipótesis bajo el test chi-cuadrado

Posteriormente, realizamos un análisis bivalente de contraste de hipótesis con el test chi-cuadrado bajo la hipótesis nula de independencia.

Hipótesis nula (H_0): No existe relación de dependencia entre las variables.

Hipótesis alternativa (H_1): Existe relación de dependencia entre las variables.

El análisis se realiza a un nivel de confianza del 95% (NC=95%), por lo que un valor de p o significación asintótica igual o menor a 0'05 rechaza la hipótesis nula de independencia, demostrando relación entre ambas variables.

En primer lugar aplicamos el test chi-cuadrado a la variable p16 en relación a las demás variables. Debido a la falta de resultados aplicamos al test al resto de las variables entre sí.

4.3. Resultados

4.3.1. Resultados histológicos

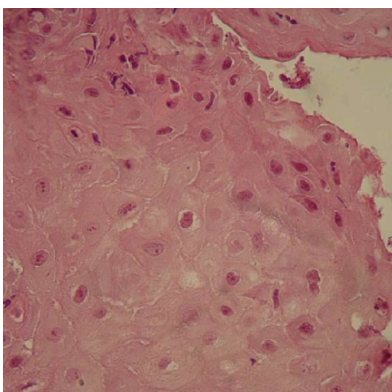


Imagen 7: Epitelio oral normal a 20x. Fuente: elaboración propia.

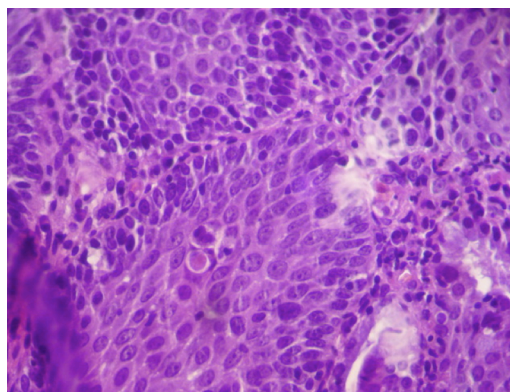


Imagen 8: Epitelio oral infectado por VPH a 40x. Fuente: elaboración propia.

En la imagen 7 podemos observar un corte histológico de epitelio de revestimiento estratificado no queratinizado correspondiente a tejido oral normal. Se ha utilizado la tinción hematoxilina-eosina y el corte está a 20 aumentos.

En la imagen 8 podemos observar un corte histológico de epitelio de revestimiento estratificado no queratinizado infectado por el VPH. Hay una proliferación de células con atipia citológica y arquitectural, entre las cuales podemos observar células que han sufrido procesos de binucleación y coilocitosis. La coilocitosis consiste en vacuolización citoplasmática perinuclear, crecimiento del núcleo e hiperchromasia. La muestra está teñida con hematoxilina-eosina y está a 40 aumentos.

4.3.2. Resultados inmunohistoquímicos

Las siguientes imágenes pertenecen a la muestra 6688 del estudio, un fragmento de epitelio escamoso procedente de un carcinoma escamoso, cuya inmunohistoquímica ha sido muy clarificadora.

Presenta tinción positiva nuclear y citoplasmática para el marcador de proliferación Ki67 en el 20% de las células; tinción de membrana positiva para e-cadherina; tinción fuertemente positiva para p16 en las capas basales; tinción nuclear para p21 valorada como ++; e inmunotinción positiva para p53 en el 10% de las células.

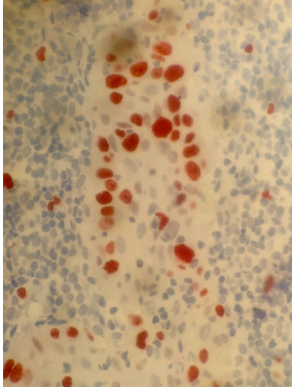


Imagen 9: inmunotinción positiva para Ki67 a 40 x. Fuente: elaboración propia.

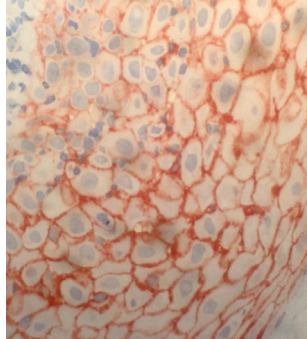


Imagen 10: inmunotinción positiva para e-cadherina a 40x. Fuente: elaboración propia.

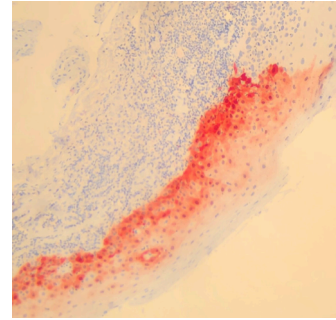


Imagen 11: inmunotinción positiva para p16 a 20x. Fuente: elaboración propia.

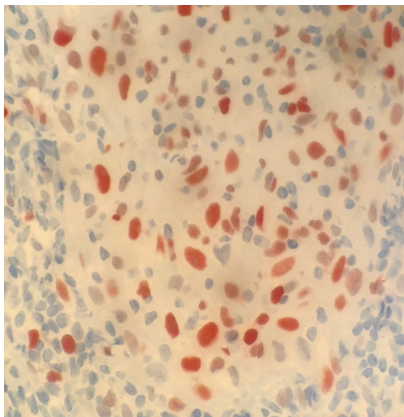


Imagen 12: inmunotinción positiva para p21 a 40x. Fuente: elaboración propia.

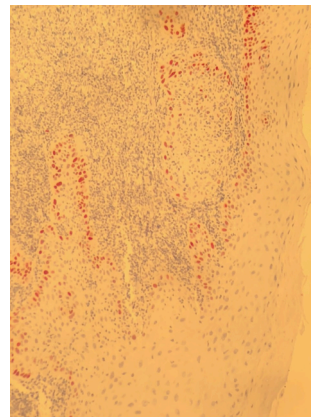


Imagen 13: inmunotinción positiva para p53 a 20x. Fuente: elaboración propia.

4.3.3. Resultados estadísticos

4.3.3.1. Estudio descriptivo de la muestra: análisis univariante

Poseemos una muestra de 50 casos (n=50), con 6 variables a estudio, 4 de ellas cualitativas (diagnóstico, sexo, p16, p21) y 2 de ellas cuantitativas (Ki67 y p53).

4.3.3.1.1. Estudio descriptivo de variables cualitativas: diagnóstico, sexo, p16 y p21

- Diagnóstico: Divide la muestra en lesiones benignas, premalignas y malignas. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 5.

		Frecuencia	Porcentaje
Diagnóstico	Benigno	17	34
	Premaligno	21	42
	Maligno	12	24
	Total	50	100

Fuente: elaboración propia

La moda es el diagnóstico premaligno, ya que es el dato que más se repite.

		Frecuencia	Porcentaje
Diagnóstico benigno	Normal	2	11'76
	Úlcera	1	5'88
	Papiloma	13	76'47
	Hiperplasia post-tratamiento	1	5'88
	Total	17	100

Fuente: elaboración propia

Dentro de las lesiones con diagnóstico benigno la moda es el papiloma, ya que es la lesión benigna que más se repite. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 6.

		Frecuencia	Porcentaje
Diagnóstico premaligno	Liquen plano	4	19'04
	Leucoplasia	7	33'33
	Leucoplasia hiperplásica	5	23'81
	Leucoplasia con displasia leve	2	9'52
	Leucoplasia con displasia moderada	3	14'28
	Total	21	100

Fuente: elaboración propia

Dentro de las lesiones con diagnóstico premaligno la moda es la leucoplasia, ya que es la lesión premaligna que más se repite. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 7.

		Frecuencia	Porcentaje
Diagnóstico maligno	Carcinoma escamoso in situ	5	41'66
	Carcinoma escamoso	7	58'33
	Total	12	100

Fuente: elaboración propia

Dentro de las lesiones con diagnóstico maligno la moda es el carcinoma escamoso, ya que es la lesión maligna que más se repite. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 8.

La moda del diagnóstico es el papiloma, ya que es el diagnóstico que más se repite.

- Sexo: Divide la muestra en hombres y mujeres. Podemos visualizar la gráfica sectorial en el anexo 9.

		Frecuencia	Porcentaje
Sexo	Mujer	29	58
	Hombre	21	42
	Total	50	100

Fuente: elaboración propia

La moda es la opción mujer, ya que es el sexo que más se repite.

- P16: Divide la muestra en - y +. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 10.

		Frecuencia	Porcentaje
p16	-	34	68
	+	16	32
	Total	50	100

Fuente: elaboración propia

La moda de p16 es -, ya que es el dato que más se repite.

- P21: Divide la muestra en -, + y ++. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 11.

		Frecuencia	Porcentaje
p21	-	1	2
	+	30	60
	++	19	38
	Total	50	100,0

Fuente: elaboración propia

La moda de p21 es +, ya que es el dato que más se repite.

4.3.3.1.2. Estudio descriptivo de variables cuantitativas: Ki67 y p53

Se ha utilizado un intervalo de confianza del 95% para la obtención de las medias.

	Medida	Resultado
Ki67	Media	6'78
	Mediana	5
	Moda	5
	Varianza	19'522
	Desviación estándar	4'418
	Mínimo	0
	Máximo	20
	Rango	20
	Rango intercuartílico	5
	Asimetría	0'83
	Curtosis	0'429

Fuente: elaboración propia

Distintas medidas apoyan que la distribución de la variable Ki67 no es simétrica. En primer lugar la media y la mediana de Ki67 no coinciden. Presenta una distribución asimétrica positiva, es decir, los datos no se distribuyen de forma uniforme alrededor del punto central sino que la cola de la distribución apunta hacia la derecha. Cuanto más se acerca el dato de asimetría al valor 0 más simétrica es la distribución. Además presenta una curtosis positiva, es decir, el pico de la distribución es más pronunciado y las colas más pesadas que en la distribución normal. Cuando el valor de curtosis es 0 los datos siguen una distribución normal.

	Medida	Resultado
p53	Media	3
	Mediana	2
	Moda	0
	Varianza	19'061
	Desviación estándar	4'3659
	Mínimo	0
	Máximo	15
	Rango	15
	Rango intercuartílico	2'5
	Asimetría	1'901
	Curtosis	2'632

Fuente: elaboración propia

Algo similar ocurre con la variable p53, su media y mediana tampoco coinciden. También presenta una distribución asimétrica positiva, y ya el dato de asimetría se aleja en mayor medida del valor 0 que el correspondiente en la variable Ki67 podemos afirmar que esta distribución es más asimétrica. Además, podemos observar una curtosis positiva, como Ki67. Como el valor de curtosis se aleja más del valor 0 que el correspondiente en la variable Ki67 la distribución de p53 presenta un pico más pronunciado y colas más pesadas.

Tanto la variable Ki67 como p53 presentan distribuciones no simétricas

Los datos de la varianza son similares en ambos grupos por lo que no podemos sacar conclusiones sobre qué grupo posee unos datos más alejados del promedio. Lo mismo sucede con la desviación estándar, que es la raíz cuadrada de la varianza.

4.3.3.2. Conversión variables cualitativas no dicotómicas a dicotómicas

Tras la conversión de la variable diagnóstico a dicotómica sus frecuencias absolutas y porcentajes son los siguientes. Podemos visualizar la gráfica sectorial en el anexo 12.

		Frecuencia	Porcentaje
Diagnóstico	Benigno	33	66
	Maligno	17	34
	Total	50	100

Fuente: elaboración propia

Tras la correspondiente conversión a la variable p21 sus frecuencias son las siguientes. Podemos visualizar la gráfica en el anexo 13.

		Frecuencia	Porcentaje
p21	Sí sobreexpresión	31	62
	No sobreexpresión	19	38
	Total	50	100

Fuente: elaboración propia

4.3.3.3. Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para las variables cuantitativas

	Kolmogorov-Smirnov ^a	
	Estadístico	Sig.
Ki67	0'256	0
p53	0'351	0

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazo la hipótesis nula de normalidad y acepto la hipótesis alternativa, es decir, la distribución de ambas variables no se ajusta a la normalidad.

La distribución de las variables cuantitativas Ki67 y p53 no se ajusta a la normalidad

4.3.3.4. Prueba U de Mann-Whitney para diferencia de medias de las dos variables cuantitativas

- Ki67 con la variable de agrupación sexo:

	Ki67
U de Mann-Whitney	277
Sig. asintótica (bilateral)	0'575

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula, las medidas de tendencia central son similares en ambos grupos, es decir, el índice de proliferación celular no muestra diferencias entre el grupo de hombres y el de mujeres.

- Ki67 con la variable de agrupación diagnóstico:

	Ki67
U de Mann-Whitney	149'5
Sig. asintótica (bilateral)	0'005

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alternativa, las medidas de tendencia central son diferentes en ambos grupos, es decir, **el índice de proliferación celular muestra diferencias entre el grupo de lesiones malignas y benignas.**

Tanto el índice de proliferación celular Ki67 como el gen supresor tumoral p53 presentan diferencias entre los grupos de diagnóstico maligno y benigno y los grupos de sobreexpresión y no sobreexpresión de p21

- Ki67 con la variable de agrupación p16:

	Ki67
U de Mann-Whitney	210
Sig. asintótica (bilateral)	0'181

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula, las medidas de tendencia central son similares en ambos grupos, es decir, el índice de proliferación celular no muestra diferencias en entre el grupo que sobreexpresa p16 y el que no lo sobreexpresa.

- Ki67 con variable de agrupación p21:

	Ki67
U de Mann-Whitney	140'5
Sig. asintótica (bilateral)	0'001

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alternativa, las medidas de tendencia central son diferentes en ambos grupos, es decir, **el índice de proliferación celular muestra diferencias entre el grupo que sobreexpresa p21 y el que no lo sobreexpresa.**

- P53 con variable de agrupación sexo:

	p53
U de Mann-Whitney	302'5
Sig. asintótica (bilateral)	0'967

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula, las medidas de tendencia central son similares en ambos grupos, es decir, la proteína de supresión tumoral no muestra diferencias entre el grupo de hombres y el de mujeres.

- P53 con variable de agrupación diagnóstico:

	p53
U de Mann-Whitney	131
Sig. asintótica (bilateral)	0'01

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alternativa, las medidas de tendencia central son diferentes en ambos grupos, es decir, **la proteína de supresión tumoral muestra diferencias entre el grupo de lesiones malignas y benignas.**

- P53 con variable de agrupación p16:

	p53
U de Mann-Whitney	210'5
Sig. asintótica (bilateral)	0'182

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0,05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula, las medidas de tendencia central son similares en ambos grupos, es decir, la proteína de supresión tumoral no muestra diferencias entre el grupo que sobreexpresa p16 y el que no lo sobreexpresa.

- P53 con variable de agrupación p21:

	p53
U de Mann-Whitney	190
Sig. asintótica (bilateral)	0,029

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0,05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alternativa, las medidas de tendencia central son diferentes en ambos grupos, es decir, **la proteína de supresión tumoral muestra diferencias entre el grupo que sobreexpresa p21 y el que no lo sobreexpresa.**

En conclusión, ambas variables, tanto Ki67 como p53 muestran diferencias de medias significativas entre los grupos de diagnóstico y p21.

4.3.3.5. Conversión de variables cuantitativas a cualitativas dicotómicas

Tras la conversión de la variable Ki67 a cualitativa dicotómica sus frecuencias son las siguientes. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 14.

		Frecuencia	Porcentaje
Ki67	No sobreexpresión	11	22,0
	Sí sobreexpresión	39	78,0
	Total	50	100,0

Fuente: elaboración propia

Tras la conversión de la variable p53 a cualitativa dicotómica sus frecuencias son las siguientes. Podemos visualizar el gráfico sectorial en el anexo 15.

		Frecuencia	Porcentaje
p53	No sobreexpresión	11	22,0
	Sí sobreexpresión	39	78,0
	Total	50	100,0

Fuente: elaboración propia

4.3.3.6. Contraste de hipótesis bajo test chi-cuadrado

4.3.3.6.1. Aplicado a la variable p16 con el resto de variables

- P16 y sexo:

Tabla de contingencia					
			Sexo		Total
			Hombre	Mujer	
p16	No sobreexpresión	Recuento	15	19	34
		% dentro de p16	44'1%	55'9%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	6	10	16
		% dentro de p16	37'5%	62'5%	100%
Total		Recuento	21	29	50
		% dentro de p16	42%	58%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 16.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	0'196	1	0'658

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre p16 y sexo.

- P16 y diagnóstico:

Tabla de contingencia					
			Diagnóstico		Total
			Benigno	Maligno	
p16	No sobreexpresión	Recuento	24	10	34
		% dentro de p16	70,6%	29,4%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	9	7	16
		% dentro de p16	56,3%	43,8%	100%
Total		Recuento	33	17	50
		% dentro de p16	66%	34%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 17.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	0'997	1	0'318

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre p16 y diagnóstico.

- P16 y Ki67:

Tabla de contingencia					
		Ki67		Total	
		No sobreexpresión	Sí sobreexpresión		
p16	No sobreexpresión	Recuento	9	25	34
		% dentro de p16	26'5%	73'5%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	2	14	16
		% dentro de p16	12'5%	87'5%	100%
Total		Recuento	11	39	50
		% dentro de p16	22%	78%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 18.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1'237	1	0'266

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre p16 y Ki67.

- P16 y p21:

Tabla de contingencia					
		p21		Total	
		No sobreexpresión	Sí sobreexpresión		
p16	No sobreexpresión	Recuento	25	9	34
		% dentro de p16	73'5%	26'5%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	6	10	16
		% dentro de p16	37'5%	62'5%	100%
Total		Recuento	31	19	50
		% dentro de p16	62%	38%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 19.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	5'995	1	0'014

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables y aceptamos la hipótesis alternativa de dependencia. **Existe relación entre p16 y p21.**

Existe una relación de dependencia entre las proteínas supresoras tumorales p16 y p21

- P16 y p53:

Tabla de contingencia					
		p53		Total	
		No sobreexpresión	Sí sobreexpresión		
p16	No sobreexpresión	Recuento	28	6	34
		% dentro de p16	82'4%	17'6%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	11	5	16
		% dentro de p16	68'8%	31'3%	100%
Total		Recuento	39	11	50
		% dentro de p16	78%	22%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 20.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1'173	1	0'279

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre p16 y p53.

En conclusión, solo se ha demostrado relación de dependencia entre las variables p16 y p21.

4.3.3.6.2. Aplicado al resto de variables entre sí

Debido a la falta de resultados del contraste de hipótesis de p16 con el resto de las variables aplico el test chi-cuadrado a las variables restantes.

- Ki67 y sexo:

Tabla de contingencia					
		Sexo		Total	
		Hombre	Mujer		
Ki67	No sobreexpresión	Recuento	3	8	11
		% dentro de p16	27'3%	72'7%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	18	21	39
		% dentro de p16	46'2%	53'8%	100%
Total		Recuento	21	29	50
		% dentro de p16	42%	58%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 21.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1'256	1	0'262

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre Ki67 y sexo.

- Ki67 y diagnóstico:

Tabla de contingencia					
			Diagnóstico		Total
			Benigno	Maligno	
Ki67	No sobreexpresión	Recuento	9	2	11
		% dentro de p16	81'8%	18'2%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	24	15	39
		% dentro de p16	61'5%	38'5%	100%
Total		Recuento	33	17	50
		% dentro de p16	66%	34%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 22.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1'572	1	0'21

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre Ki67 y diagnóstico.

- Ki67 y p21:

Tabla de contingencia					
			p21		Total
			No sobreexpresión	Sí sobreexpresión	
Ki67	No sobreexpresión	Recuento	11	0	11
		% dentro de p16	100%	0%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	20	19	39
		% dentro de p16	51'3%	48'7%	100%
Total		Recuento	31	19	50
		% dentro de p16	62%	38%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 23.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	8'644	1	0'03

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables y aceptamos la hipótesis alternativa de dependencia.

Existe relación entre Ki67 y p21.

Existe una relación de dependencia entre el índice de proliferación celular Ki67 y la proteína supresora tumoral p21

- Ki67 y p53:

Tabla de contingencia					
		p53		Total	
		No sobreexpresión	Sí sobreexpresión		
Ki67	No sobreexpresión	Recuento	10	1	11
		% dentro de p16	90'9%	9'1%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	29	10	39
		% dentro de p16	74'4%	25'6%	100%
Total		Recuento	39	11	50
		% dentro de p16	78%	22%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 24.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1'37	1	0'242

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre Ki67 y p53.

- Diagnóstico y sexo:

Tabla de contingencia					
		Sexo		Total	
		Hombre	Mujer		
Diagnóstico	Benigno	Recuento	16	17	33
		% dentro de p16	48'5%	51'5%	100%
	Maligno	Recuento	5	12	17
		% dentro de p16	29'4%	70'6%	100%
Total		Recuento	21	29	50
		% dentro de p16	42%	58%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 25.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1'676	1	0'196

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre diagnóstico y sexo.

- Diagnóstico y p21:

Tabla de contingencia					
		p21			Total
		No sobreexpresión	Sí sobreexpresión		
Diagnóstico	Benigno	Recuento	23	10	33
		% dentro de p16	69'7%	30'3%	100%
	Maligno	Recuento	8	9	17
		% dentro de p16	47'1%	52'9%	100%
Total		Recuento	31	19	50
		% dentro de p16	62%	38%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 26.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	2'441	1	0'118

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre diagnóstico y p21.

- Diagnóstico y p53:

Tabla de contingencia					
		p53			Total
		No sobreexpresión	Sí sobreexpresión		
Diagnóstico	Benigno	Recuento	31	2	33
		% dentro de p16	93'9%	6'1%	100%
	Maligno	Recuento	8	9	17
		% dentro de p16	47'1%	52'9%	100%
Total		Recuento	39	11	50
		% dentro de p16	78%	22%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 27.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	14'37	1	0

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables y aceptamos la hipótesis alternativa de dependencia. **Existe relación entre diagnóstico y p53.**

Existe una relación de dependencia entre el diagnóstico de la lesión y el gen supresor tumoral p53

- P21 y sexo:

Tabla de contingencia					
			Sexo		Total
			Hombre	Mujer	
p21	No sobreexpresión	Recuento	13	18	31
		% dentro de p16	41'9%	58'1%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	8	11	19
		% dentro de p16	42'1%	57'9%	100%
Total		Recuento	21	29	50
		% dentro de p16	42%	58%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 28.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	0	1	0'991

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre p21 y sexo.

- P21 y p53:

Tabla de contingencia					
			p53		Total
			No sobreexpresión	Sí sobreexpresión	
p21	No sobreexpresión	Recuento	27	4	31
		% dentro de p16	87'1%	12'9%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	12	7	19
		% dentro de p16	63'2%	36'8%	100%
Total		Recuento	39	11	50
		% dentro de p16	78%	22%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 29.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	3'934	1	0'047

Fuente: elaboración propia

El valor de $p < 0'05$ por lo que rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables y aceptamos la hipótesis alternativa de dependencia.

Existe relación entre p21 y p53.

Existe una relación de dependencia entre la proteína supresora tumoral p21 y el gen supresor tumoral p53

- P53 y sexo:

Tabla de contingencia					
			Sexo		Total
			Hombre	Mujer	
p53	No sobreexpresión	Recuento	17	22	39
		% dentro de p16	43'6%	56'4%	100%
	Sí sobreexpresión	Recuento	4	7	11
		% dentro de p16	36'4%	63'6%	100%
Total		Recuento	21	29	50
		% dentro de p16	42%	58%	100%

Fuente: elaboración propia

Podemos visualizar el gráfico de barras conjuntas en el anexo 30.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	0'184	1	0'668

Fuente: elaboración propia

El valor de $p > 0'05$ por lo que no rechazamos la hipótesis nula de independencia de las variables. No existe relación entre p53 y sexo.

En conclusión, se ha encontrado una relación de dependencia entre las siguientes variables: diagnóstico y p53; Ki67 y p21; y p53 y p21.

4.4. Discusión

La presentación de este trabajo nos planteaba una serie de preguntas: ¿practicar sexo orogenital con una persona infectada por el virus puede infectarnos a nosotros y dar lugar a un carcinoma en la cavidad oral? ¿disminuiría la incidencia general de este cáncer si se realizara un cribado poblacional de la infección oral por el virus y una campaña de vacunación contra esos serotipos con tendencia a infectar este tejido? ¿ayudaría si se incluyera en las pautas de cribado y vacunación, tanto del tejido genital como oral, a la población masculina?.

Tras realizar este estudio e interpretar los resultados, sin olvidar sus limitaciones y posibles sesgos, podemos afirmar que la presencia del virus activo replicándose activa una serie de proteínas inhibitoras de tumores cuyo objetivo es detener la división celular incontrolada que puede derivar en un cáncer.

Concretando y haciendo alusión a las relaciones de dependencia halladas entre las diferentes proteínas encontramos lo siguiente:

La presencia del VPH en el tejido oral activa mecanismos controladores del ciclo celular para detener la progresión oncogénica

El diagnóstico presenta una relación de dependencia clara con la proteína Ki67 y p53, lo que apoya información ya conocida. Las células de tejidos malignos sufren una división incontrolada de sus células (presentan un índice de proliferación celular, Ki67, aumentado), en cambio, las células de tejidos benignos presentan un índice de proliferación celular que se ajusta a la normalidad. Las células que sufren esta mitosis indiscriminada tienen un ADN celular dañado, al contrario que las células de tejidos con lesiones benignas. El objetivo del gen supresor tumoral p53 es reparar este ADN, por lo que se sobreexpresa en las células que necesitan de su actividad.

También se encontró una relación de dependencia de la proteína p21 con p16, p53 y Ki67. La relación entre p21 y p53 es clara, ya que el gen p53 posee la capacidad de activar p21. Por otro lado, la relación de p21 con Ki67 también se puede justificar ya que el objetivo de p21 es detener la proliferación incontrolada de células, deteniéndolas en la fase G₁, por lo tanto, un aumento del índice de proliferación celular conllevará la sobreexpresión de p21. Por último, la relación entre p21 y p16, ambas encargadas de detener la célula en fase G₁, confirma que la presencia del virus en estado de replicación pone en marcha mecanismos celulares inhibidores de tumores.

El objeto del estudio era recalcar, sobre todo, la relación de la proteína p16 con el diagnóstico de las lesiones y las demás proteínas supresoras de tumores. La falta de resultados puede atribuirse al pequeño tamaño muestral, ya que solo disponíamos de 50 muestras de lesiones de la cavidad oral. Esto se debe a la dificultad que hemos encontrado para obtener muestras adecuadas para el estudio, debido a la estricta selección que se ha llevado a cabo. Otro factor ha podido ser la conversión de tres de las variables a cualitativas nominales dicotómicas para poder llevar a cabo el contraste de hipótesis con chi-cuadrado y facilitar así el estudio.

El pequeño tamaño muestral ha podido ser un factor limitante en la obtención de resultados

No obstante, con los resultados obtenidos y siendo conscientes de las limitaciones mencionadas podemos afirmar que la infección del tejido de la cavidad oral por el VPH ha puesto en marcha mecanismos celulares inhibidores tumorales, por lo que esta infección tiene una relación directa con el cáncer de cavidad oral y orofaringe. Estos resultados apoyan los estudios realizados internacionalmente al respecto. La revisión realizada en la literatura coincide en la relación de causalidad entre el VPH y el carcinoma de cavidad oral y orofaringe, afirmando que el 30% de los tumores escamosos de cabeza y cuello son causados por este virus (10). Algunos estudios (11) afirman que el aumento de la incidencia de este tipo de cáncer se debe principalmente a la infección por el VPH. Otros (8) incluso plantean la posibilidad de incluir planes de prevención. También cabe recalcar que algunos estudios (31) afirman la baja prevalencia oncogénica del VPH en la cavidad oral.

Con todo ello podemos responder a las preguntas planteadas. Una vez demostrada la relación de causalidad entre el VPH y cáncer oral, no solo por este estudio sino por muchos otros, podríamos considerar que un cribado sencillo realizado con hisopo en la cavidad oral, similar al que se lleva a cabo en el cérvix, a partir de una edad determinada que habría que estudiar, ayudaría a un tratamiento precoz y vigilancia para evitar el desarrollo de un posible cáncer oral. La inclusión de los serotipos con mayor tendencia oral en la campaña de vacunación ya instaurada podría disminuir la incidencia de este cáncer. Y teniendo en cuenta que el VPH no solo puede causar cáncer de cuello de útero sino de otras localizaciones que afectan a ambos sexos y que el hombre no solo es portador y vehículo del virus, sino que es el principal transmisor a las mujeres, la inclusión de la población masculina en la campaña de vacunación actual reduciría el número de contagios a mujeres y les reduciría a ellos mismos la posibilidad de infectarse del virus y que éste pudiera degenerar en cáncer.

A pesar de ello y aunque estos resultados aportan recomendaciones muy interesantes sería necesario profundizar en el estudio para poder llevarlas a cabo con mayor seguridad. Investigar qué probabilidad hay de desarrollar un cáncer en la cavidad oral si hay una infección en esta localización, con el objeto de analizar si los costes derivados del supuesto cribado y vacunación contra los serotipos específicos orales serían útiles, o al tener una probabilidad tan baja serían un derroche de dinero público.

El cribado del VPH oral y vacunación contra los serotipos específicos podría suponer un descenso de la morbimortalidad del cáncer de cavidad oral, por lo que consideramos oportuno profundizar en el estudio

Por otro lado, habría que estudiar los resultados obtenidos en los países que llevan a cabo vacunaciones contra el VPH en niños y sacar conclusiones sobre su posible implantación en nuestro país. Hay que tener en cuenta que algunos estudios realizados internacionalmente sugieren que la probabilidad de desarrollar cáncer en la cavidad oral tras una infección por el virus es baja y que se debería realizar el cribado a

muchos individuos para que éste tuviera efectos beneficiosos (31).

Para concluir, los resultados del estudio aportan una información muy interesante por lo que consideramos que merecería la pena avanzar en el estudio y valorar las posibles ventajas y desventajas, ya que la posibilidad de disminuir la incidencia y consiguiente morbimortalidad de un cáncer que está aumentando sus cifras es un gran aliciente.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

PRIMERA: La infección por el virus del papiloma humano provoca cambios en el ciclo celular normal del tejido que infecta y genera cambios citológicos.

SEGUNDA: El virus del papiloma humano posee poder mitogénico: aumenta la actividad celular y activa mecanismos controladores de la proliferación celular como las proteínas inhibidoras de tumores p16, p21, el gen supresor tumoral p53.

TERCERA: Las lesiones malignas de la cavidad oral presentan un índice de proliferación celular (Ki67) mayor que las lesiones benignas de la misma localización.

CUARTA: Las lesiones malignas de la cavidad oral provocan la activación y sobreexpresión del gen supresor tumoral p53.

QUINTA: El gen supresor de tumores p53 activa la proteína inhibidora tumoral p21.

SEXTA: El alto índice de proliferación celular de las lesiones malignas provoca la activación y sobreexpresión de la proteína inhibidora tumoral p21.

SÉPTIMA: La sobreexpresión de la proteína inhibidora tumoral p16 se da de forma simultánea a la sobreexpresión de p21, también proteína inhibidora tumoral, ambas encargadas de detener la proliferación celular incontrolada.

OCTAVA: No se han hallado relaciones de dependencia entre la proteína p16 y el diagnóstico de las lesiones y p21.

5.2. Recomendaciones

PRIMERA: Realización de un cribado de la infección por el virus del papiloma humano en cavidad oral a ambos sexos a partir de una edad por determinar.

SEGUNDA: Inclusión de los serotipos con tendencia a infectar los tejidos de la cavidad oral en la vacuna contra el virus.

TERCERA: Inclusión de la población masculina en la pauta de vacunación recomendada contra el virus.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Candotto V, Lauritano D, Nardone M, Baggi L, Arcuri C, Gatto R, et al. HPV infection in the oral cavity: epidemiology, clinical manifestations and relationship with oral cancer. *Oral & implantology* [Internet]. 2017 [consultado 2 marzo 2018]; 10(3): 209-220. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5735384/>
2. Domínguez-Gil González M. La infección por el virus del papiloma humano: epidemiología, diagnóstico y prevención. *Farma Journal* [Internet]. 2017 [consultado 14 marzo 2018]; 2(2): 143-144. Disponible en: <http://revistas.usal.es/index.php/2445-1355/article/view/16283>
3. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global cancer incidence and mortality rates and trends-an update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2016 [consultado 14 marzo 2018]; 25(1): 16-27. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26667886>
4. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, et al. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre) [Internet]. 2017 [consultado 14 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>
5. Organización Mundial de la Salud [Internet]. 21 agosto 2017. Virus del papiloma humano (VPH). [consultado 19 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/immunization/diseases/hpv/es/>
6. Lim S, Lee MJ, Cho I, Hong R, Lim SC. Efficacy of p16 and Ki-67 immunostaining in the detection of squamous intraepithelial lesions in a high-risk HPV group. *Oncol Lett* [Internet]. 2016 [consultado 20 marzo 2018]; 11: 1447-52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26893758>
7. Alkourdi Martínez A. Actualización en el cáncer de cérvix. Servicio de obstetricia y ginecología Hospital Universitario Virgen de las Nieves [Internet]. 2015 [consultado 14 marzo 2018]. Disponible en: http://www.hvn.es/servicios_asistenciales/ginecologia_y_obstetricia/ficheros/actividad_docente_e_investigadora/clases_residentes/2015/clase2015_actualizacion_cancer_cervix.pdf
8. Contreras W, Venegas B. Virus papiloma humano en cáncer oral y orofaríngeo. Revisión de la literatura. *Int J Odontostomat* [Internet]. 2015 [consultado 14 marzo 2018]; 9 (3): 427-435. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X201500300012
9. Belobrov S, Cornall AM, Young RJ, Koo K, Angel C, Wiesenfeld D, et al. The role of human papillomavirus in p16-positive oral cancers. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2018 [consultado 20 marzo 2018]; 47:18-24. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29024035>
10. González Díaz M, Motta Vargas LA, Moreno Torres A, Chala Galindo AI, Tupaz Erika HA, García Robayo DA. La infección por virus del papiloma humano afecta el pronóstico del cáncer orofaríngeo escamocelular. Revisión de la literatura. *Univ Odontol* [Internet]. 2014 [consultado 14 marzo 2018]; 33 (71): 55-63. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2312/231242326008.pdf>
11. Taberna M, Mena M, Pavón MA, Alemany L, Gillison ML, Mesia R. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. *Ann Oncol* [Internet]. 2017 [consultado 14 marzo 2018]; 28: 2386-2398. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28633362>
12. Marur S, Forastiere AA. Head and neck squamous cell carcinoma: update on epidemiology, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2016 [consultado 14 marzo 2018]; 91(3): 386-96. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26944243>
13. Husain N, Neyaz A. Human papillomavirus associated head and neck squamous cell carcinoma: controversies and new concepts. *J Oral Biol Craniofac Res* [Internet]. 2017 [consultado 15 febrero 2018]; 7(3): 198–205. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5670302/>
14. Medina ML, Medina MG, Merino LA. Consideraciones actuales sobre la presencia del papilomavirus humano en la cavidad oral. *Av Odontostomatol* [Internet]. 2010 [consultado 19 febrero 2018]; 26(2). Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852010000200002
15. Sanabria Negrín JG. Virus del Papiloma Humano/Human Papilloma virus (HPV). *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río* [Internet]. 2009 [consultado 21 de febrero 2018]; 13(4): 168 - 187. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942009000400019&lng=en&nrm=iso&tlng=es
16. Tovar Martín MI, Martínez Carrillo MJ, Guerrero Tejada R. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinomas and its clinical implications. En: Poblet Martínez E, editor. *Histopathology – reviews and recent advances: InTech*; 2012. DOI: 10.5772/50510. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/histopathology-reviews-and-recent-advances/human-papillomavirus-detection-in-head-and-neck-squamous-cell-carcinomas-and-its-clinical-implicatio>
17. González Merlo J, González Bosquet E, González Bosquet J. *Ginecología*. 9 ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2014.

18. Azúa Romeo J. El papel modulador de p16 en la infección por el virus del papiloma humano. *Rev Clin Esp* [Internet]. 2005 [consultado 15 de febrero 2018]; 205 (5): 248-51. Disponible en: <http://www.revclinesp.es/es/el-papel-modulador-p16-ink4a/articulo/13075583/>
19. Berek JS. *Ginecología de Novak*. 13 ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana; 2002.
20. Apgar BS, Brotzman GL, Spitzer M. *Colposcopia. Principios y práctica*. 1 ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana; 2002.
21. BioCancer [Internet]. Gen del retinoblastoma. 2010 [consultado 9 abril 2018]. Disponible en: <http://www.biocancer.com/journal/596/31-gen-del-retinoblastoma>
22. Abbas T, Dutta A. P21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2009 [consultado 15 de febrero de 2018]; 9(6): 400–414. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19440234>
23. BioCancer [Internet]. Gen p53. 2010. [consultado 9 abril 2018]. Disponible en: <http://www.biocancer.com/journal/597/32-gen-p53>
24. Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH. *Enfermedades gastrointestinales y hepáticas. Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento*. 7 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2004.
25. Lede Barreiro A, Seoane García V, Rodríguez Fernández JL. Lesiones preneoplásicas, tumores benignos y malignos de la cavidad oral. En: *Soc Esp de ORL y Pát Cérvico Facial* [Internet]. Libro virtual de formación en ORL. Pontevedra: 2017 [consultado 30 marzo 2018]. 1-45.
26. Moreno Pérez D. Vacuna VPH nonavalente. Un nuevo avance en la prevención de la infección frente a virus del papiloma humano. *Rev Soc Canaria Ped* [Internet]. 2017 [consultado 25 marzo 2018]; 41(2): 149-51. Disponible en: <http://portal.scptfe.com/wp-content/uploads/2017/08/canarias-pediátrica-41-02.pdf>
27. Calendario de Vacunaciones de la Asociación Española de Pediatría. Razones y bases de las recomendaciones 2018. Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría [Internet]. 2018 [consultado 4 abril 2018]. Disponible en: <http://vacunasaep.org/sites/vacunasaep.org/files/calvacaep2018-razones-y-bases.pdf>
28. Virus del papiloma humano. Manual de vacunas en línea de la AEP [Internet]. Comité Asesor de Vacunas (CAV-AEP). 2018 [consultado 2 abril 2018]. Disponible en: <http://vacunasaep.org/documentos/manual/cap-42>
29. Pérez Salcedo L, Bascones Martínez A. Tumores benignos de la mucosa oral. *Av Odontostomatol* [Internet]. 2008 [consultado 25 marzo 2018]; 26 (1): 11-8. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v26n1/original1.pdf>
30. Cháirez Atienzo P, Vega Memije ME, García Vázquez FJ, Cuevas González JC. Expresión de E-cadherina y células de Langerhans en verruga vulgar y papiloma bucal. *Revista ADM* [Internet]. 2016 [consultado 20 marzo 2018]; 73 (6): 291-296. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2016/od166e.pdf>
31. D'Souza G, McNeel TS, Fakhry C. Understanding personal risk of oropharyngeal cancer: risk-groups for oncogenic oral HPV infection and oropharyngeal cancer. *Ann Oncol* [Internet]. 2017 [consultado 3 abril 2018]; 28: 3065-3069. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29059337>

7. ANEXOS

Anexo 1: Clasificación de las lesiones tras el diagnóstico

Lesiones benignas (17)	Lesiones premalignas (21)	Lesiones malignas (12)
Epitelio normal (2)	Liquen plano (4)	Carcinoma escamoso in situ (5)
Úlcera (1)	Leucoplasia (7)	Carcinoma escamoso (7)
Papiloma (13)	Leucoplasia hiperplásica (5)	
Hiperplasia post-tratamiento (1)	Leucoplasia con displasia leve-moderada (2)	
	Leucoplasia con displasia moderada-severa (3)	

Fuente: elaboración propia

Anexo 2: Tabla con variables originales

Nº	Caso	Diagnóstico	Ki67	p16	p21	p53	e-cadherina	Sexo
1	7353	Normal	5	+	++	2	+++	M
2	25654(2)	Normal	1	-	+	-	+++	M
3	8100	Úlcera	10	-	++	4	+++	H
4	101	Papiloma	5	-	++	1	+++	H
5	289	Papiloma	1	-	+	2	+++	M
6	324	Papiloma	5	-	+	2	+++	M
7	351	Papiloma	2	-	+	2	+++	M
8	500	Papiloma	1	-	+	-	+++	M
9	564	Papiloma	10	+	+	2	+++	H
10	808	Papiloma	5	-	+	-	+++	H
11	809	Papiloma	10	-	+	-	+++	H
12	9732	Papiloma	5	-	+	-	+++	M
13	10197	Papiloma	5	-	+	-	+++	M
14	10219	Papiloma	10	-	++	1	+++	H
15	10278	Papiloma	10	-	+	-	+++	M
16	28875	Papiloma	10	+	++	5	+++	M
17	3296	Hiperplasia post-tto	5	-	+	-	+++	M
18	1619	Liquen plano	15	+	+	-	+++	H
19	6313	Liquen plano	5	+	++	5	+++	M
20	6513	Liquen plano	5	+	++	2	+++	H
21	9196	Liquen plano	2	+	+	2	+++	H
22	174	Leucoplasia	2	-	+	2	+++	M
23	2635	Leucoplasia	2	-	+	-	+++	H
24	2857	Leucoplasia	5	-	+	-	+++	H
25	6426	Leucoplasia	5	-	+	2	+++	M
26	9740	Leucoplasia	5	-	+	1	+++	H
27	23143	Leucoplasia	5	+	+	-	+++	H
28	23144	Leucoplasia	12	-	++	-	+++	M
29	1623	Leucoplasia hiperplásica	5	-	+	-	+++	M
30	4729	Leucoplasia hiperplásica	3	-	+	2	+++	M
31	9733	Leucoplasia hiperplásica	5	-	++	2	+++	H
32	23096	Leucoplasia hiperplásica	5	+	++	2	+++	H
33	23865	Leucoplasia hiperplásica	0	-	+	-	+++	H
34	4839	Leucoplasia displasia leve	2	-	+	2	+++	M
35	8973	Leucoplasia displasia leve	2	+	+	5	+++	M

36	5147	Leucoplasia displasia moderada	10	+	++	15	+++	M
37	7542	Leucoplasia displasia moderada	5	-	+	5	+++	H
38	8821	Leucoplasia displasia moderada	6	-	+	10	+++	M
39	1445	Carcinoma escamosos in situ	15	-	+	2	+++	H
40	2403	Carcinoma escamosos in situ	15	+	++	2	+++	M
41	4466	Carcinoma escamosos in situ	5	+	+	2	+++	M
42	7946	Carcinoma escamosos in situ	8	-	++	10	+++	H
43	23145	Carcinoma escamosos in situ	10	-	++	-	+++	M
44	2397	Carcinoma escamoso	15	+	++	-	+++	M
45	5374	Carcinoma escamoso	5	+	++	-	+++	M
46	6099	Carcinoma escamoso	10	-	++	15	+++	M
47	6688	Carcinoma escamoso	20	+	++	10	+++	M
48	6948	Carcinoma escamoso	10	-	-	1	+++	M
49	8335	Carcinoma escamoso	10	-	+	15	+++	H
50	8870(2)	Carcinoma escamoso	10	-	++	15	+++	H

Fuente: elaboración propia

Anexo 3: Clasificación de las lesiones según grupo

Benigno (33)	Maligno (17)
Epitelio normal (2)	Leucoplasia con displasia leve-moderada (2)
Úlcera (1)	Leucoplasia con displasia moderada-severa (3)
Papiloma (13)	Carcinoma escamoso in situ (5)
Hiperplasia post-tratamiento (1)	Carcinoma escamoso (7)
Liquen plano (4)	
Leucoplasia (7)	
Leucoplasia hiperplásica (5)	

Fuente: elaboración propia

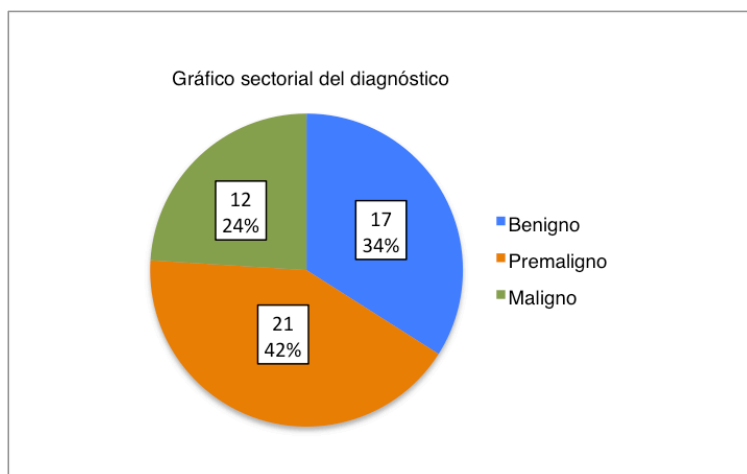
Anexo 4: Tabla original con variables convertidas a cualitativas dicotómicas (sí=sobreexpresión de la proteína; no= no sobreexpresión de la proteína)

Nº	Caso	Diagnóstico	Ki67	P16	P21	P53	e-cadherina	Sexo
1	7353	Benigno	SÍ	SÍ	SÍ	NO	+++	M
2	25654(2)	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	M
3	8100	Benigno	SÍ	NO	SÍ	NO	+++	H
4	101	Benigno	SÍ	NO	SÍ	NO	+++	H
5	289	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	M
6	324	Benigno	SÍ	NO	NO	NO	+++	M
7	351	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	M
8	500	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	M
9	564	Benigno	SÍ	SÍ	NO	NO	+++	H
10	808	Benigno	SÍ	NO	NO	NO	+++	H
11	809	Benigno	SÍ	NO	NO	NO	+++	H
12	9732	Benigno	SÍ	NO	NO	NO	+++	M
13	10197	Benigno	SÍ	NO	NO	NO	+++	M
14	10219	Benigno	SÍ	NO	SÍ	NO	+++	H
15	10278	Benigno	SÍ	NO	NO	NO	+++	M
16	28875	Benigno	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	+++	M

17	3296	Benigno	SI	NO	NO	NO	+++	M
18	1619	Benigno	SI	SI	NO	NO	+++	H
19	6313	Benigno	SI	SI	SI	SI	+++	M
20	6513	Benigno	SI	SI	SI	NO	+++	H
21	9196	Benigno	NO	SI	NO	NO	+++	H
22	174	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	M
23	2635	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	H
24	2857	Benigno	SI	NO	NO	NO	+++	H
25	6426	Benigno	SI	NO	NO	NO	+++	M
26	9740	Benigno	SI	NO	NO	NO	+++	H
27	23143	Benigno	SI	SI	NO	NO	+++	H
28	23144	Benigno	SI	NO	SI	NO	+++	M
29	1623	Benigno	SI	NO	NO	NO	+++	M
30	4729	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	M
31	9733	Benigno	SI	NO	SI	NO	+++	H
32	23096	Benigno	SI	SI	SI	NO	+++	H
33	23865	Benigno	NO	NO	NO	NO	+++	H
34	4839	Maligno	NO	NO	NO	NO	+++	M
35	8973	Maligno	NO	SI	NO	SI	+++	M
36	5147	Maligno	SI	SI	SI	SI	+++	M
37	7542	Maligno	SI	NO	NO	SI	+++	H
38	8821	Maligno	SI	NO	NO	SI	+++	M
39	1445	Maligno	SI	NO	NO	NO	+++	H
40	2403	Maligno	SI	SI	SI	NO	+++	M
41	4466	Maligno	SI	SI	NO	NO	+++	M
42	7946	Maligno	SI	NO	SI	SI	+++	H
43	23145	Maligno	SI	NO	SI	NO	+++	M
44	2397	Maligno	SI	SI	SI	NO	+++	M
45	5374	Maligno	SI	SI	SI	NO	+++	M
46	6099	Maligno	10	-	++	15	+++	M
47	6688	Maligno	20	+	++	10	+++	M
48	6948	Maligno	10	-	-	1	+++	M
49	8335	Maligno	10	-	+	15	+++	H
50	8870(2)	Maligno	10	-	++	15	+++	H

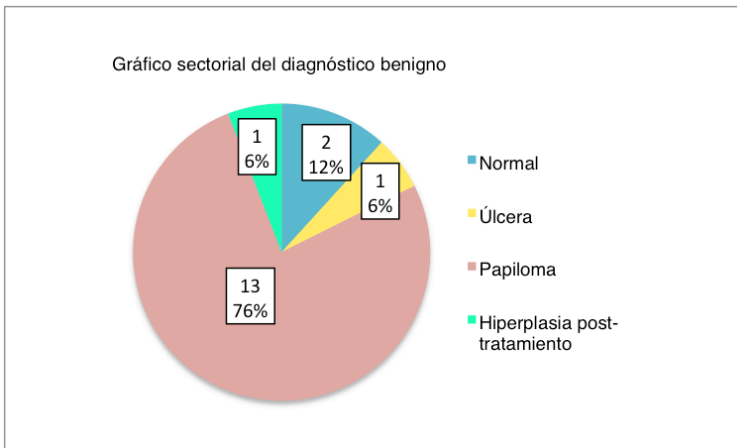
Fuente: elaboración propia

Anexo 5: Gráfico sectorial del diagnóstico de las lesiones



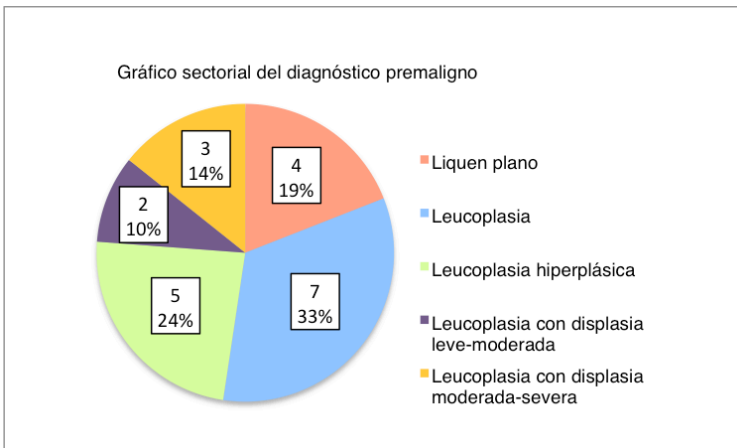
Fuente: elaboración propia

Anexo 6: Gráfico sectorial del diagnóstico benigno



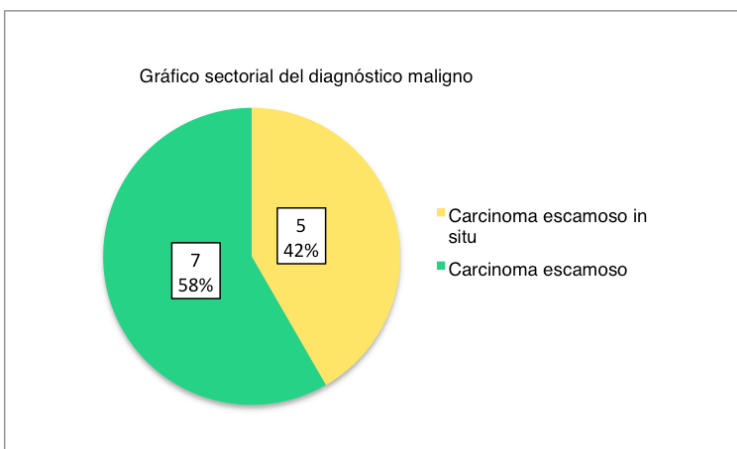
Fuente: elaboración propia

Anexo 7: Gráfico sectorial del diagnóstico premaligno

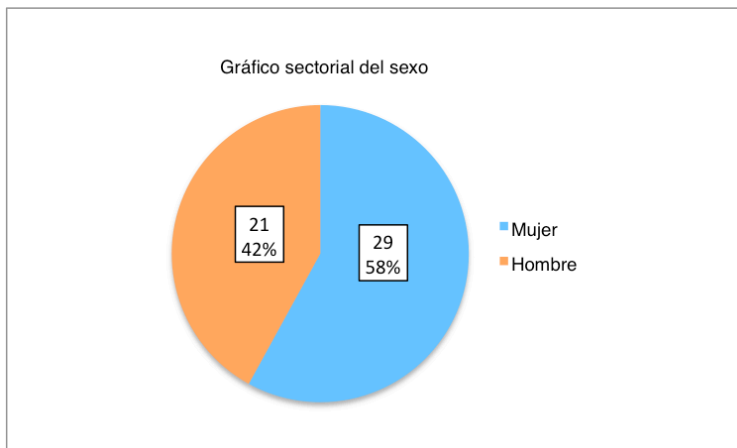


Fuente: elaboración propia

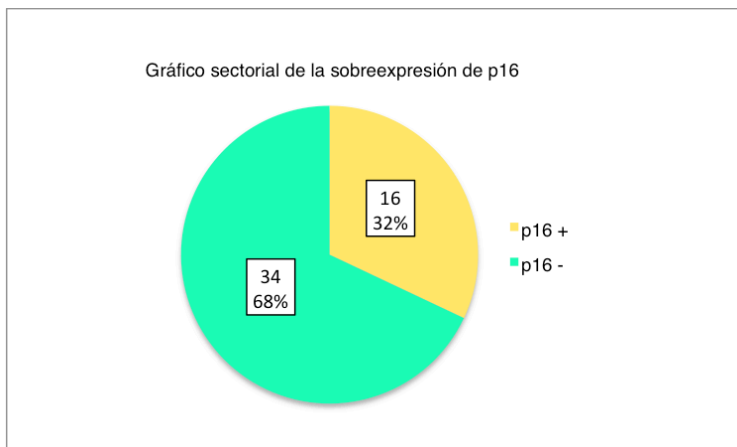
Anexo 8: Gráfico sectorial del diagnóstico maligno



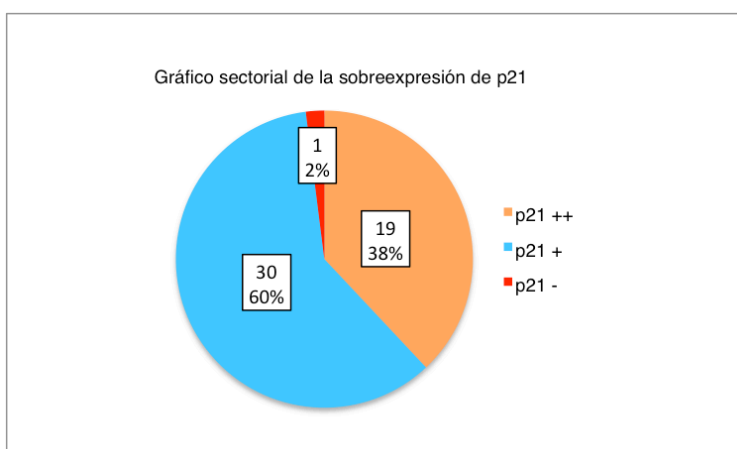
Fuente: elaboración propia

Anexo 9: Gráfico sectorial del sexo de los pacientes

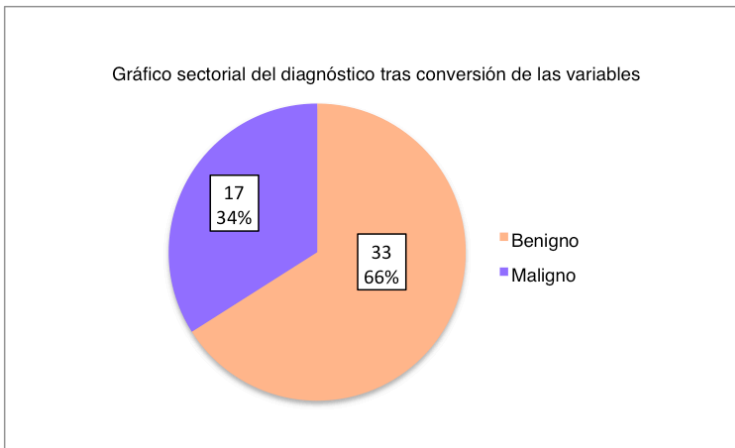
Fuente: elaboración propia

Anexo 10: Gráfico sectorial de la proteína p16

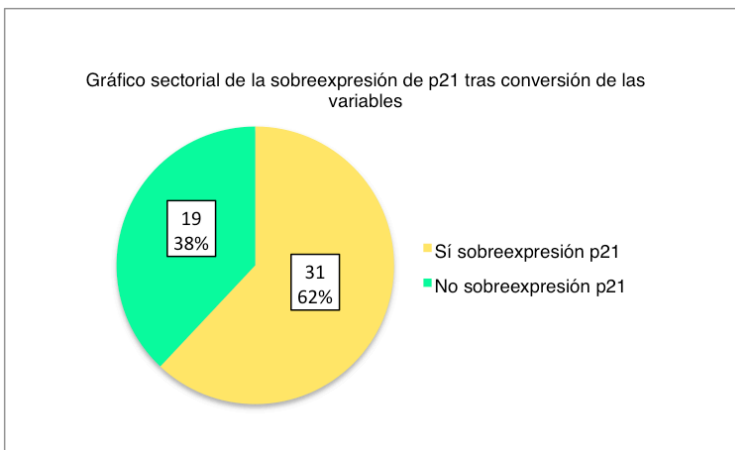
Fuente: elaboración propia

Anexo 11: Gráfico sectorial de la proteína p21

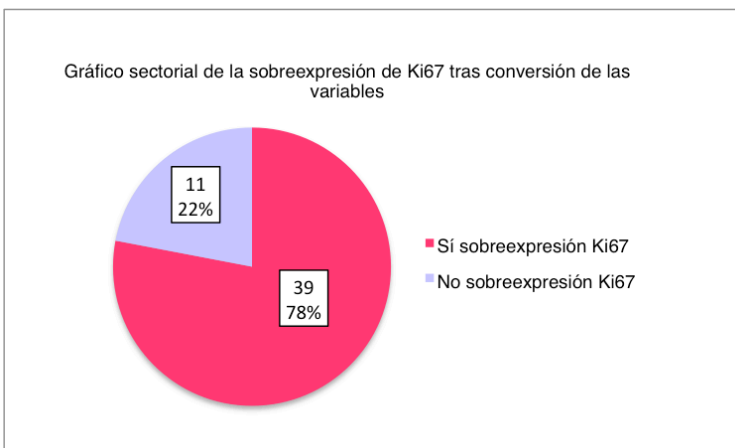
Fuente: elaboración propia

Anexo 12: Gráfico sectorial del diagnóstico tras conversión de la variable a cualitativa dicotómica

Fuente: elaboración propia

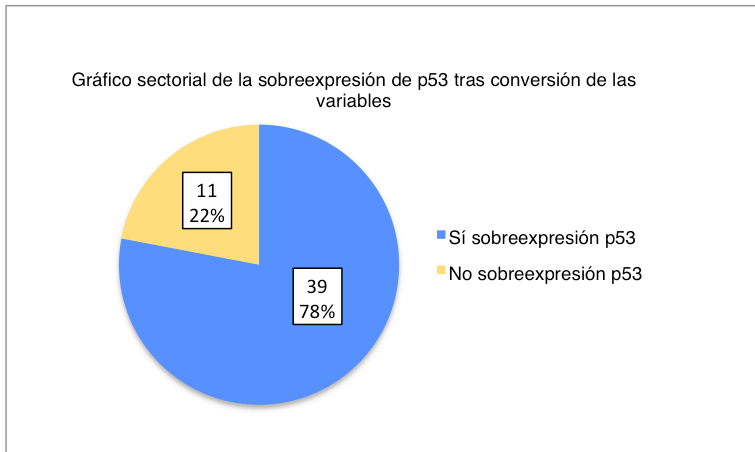
Anexo 13: Gráfico sectorial de la proteína p21 tras conversión de la variable a cualitativa dicotómica

Fuente: elaboración propia

Anexo 14: Gráfico sectorial de la proteína Ki67 tras conversión de la variable a cualitativa dicotómica

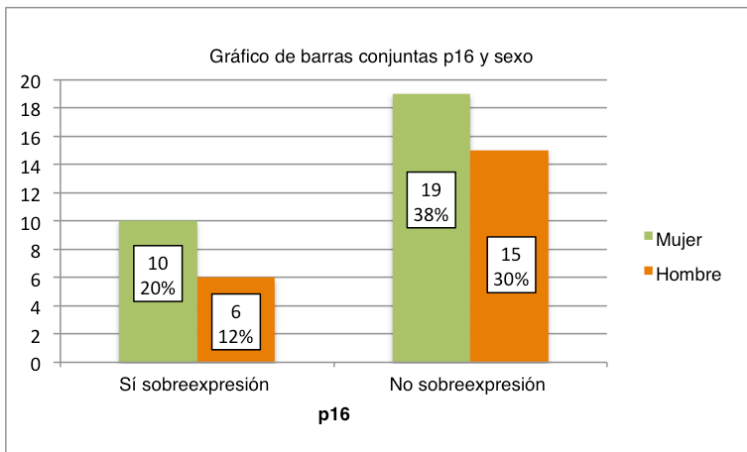
Fuente: elaboración propia

Anexo 15: Gráfico sectorial del gen p53 tras conversión de la variable a cualitativa dicotómica



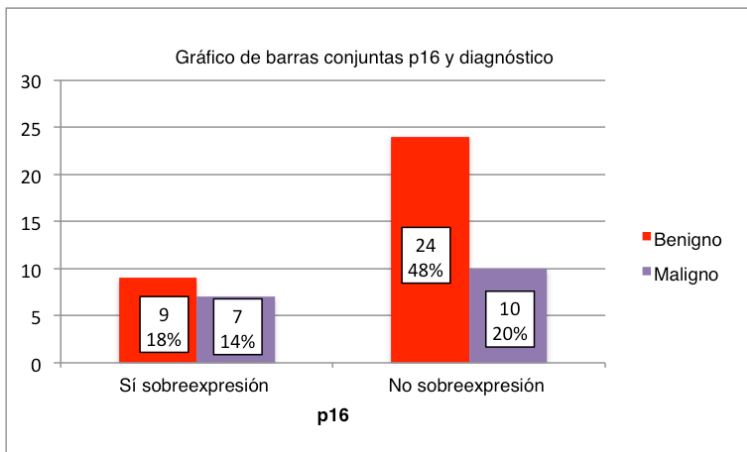
Fuente: elaboración propia

Anexo 16: Gráfico de barras conjuntas con relación p16 y sexo del paciente

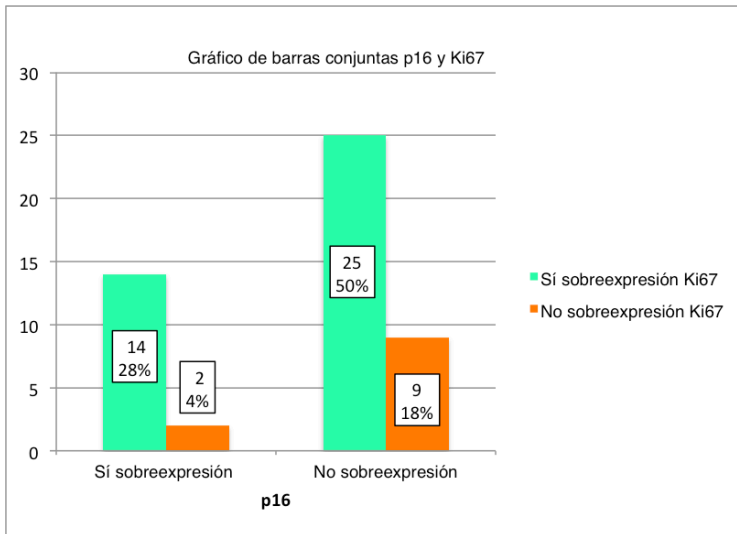


Fuente: elaboración propia

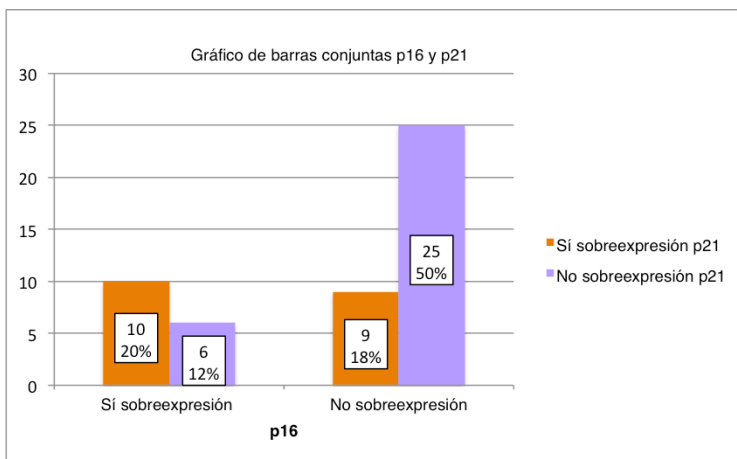
Anexo 17: Gráfico de barras conjuntas con relación p16 y diagnóstico de la lesión



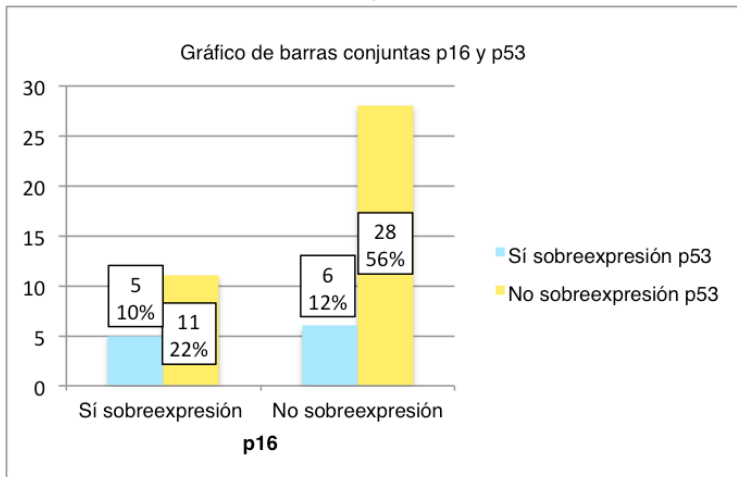
Fuente: elaboración propia

Anexo 18: gráfico de barras conjuntas con relación p16 y Ki67

Fuente: elaboración propia

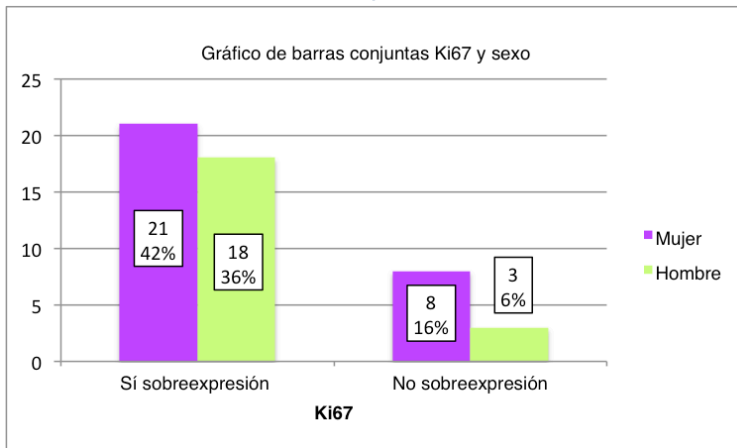
Anexo 19: gráfico de barras conjuntas con relación p16 y p21

Fuente: elaboración propia

Anexo 20: gráfico de barras conjuntas con relación p16 y p53

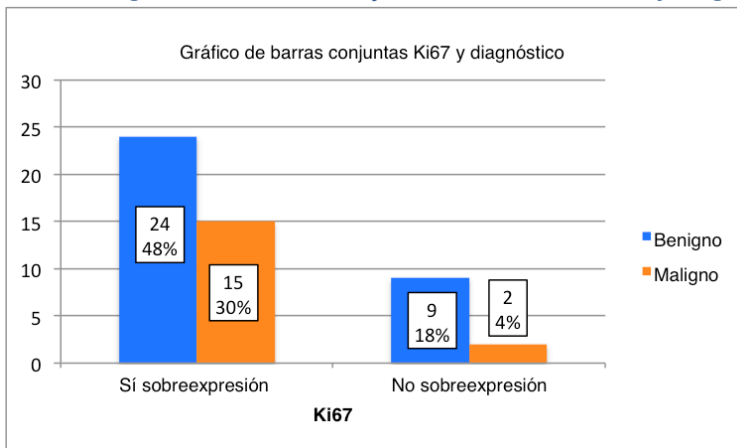
Fuente: elaboración propia

Anexo 21: gráfico de barras conjuntas con relación Ki67 y sexo



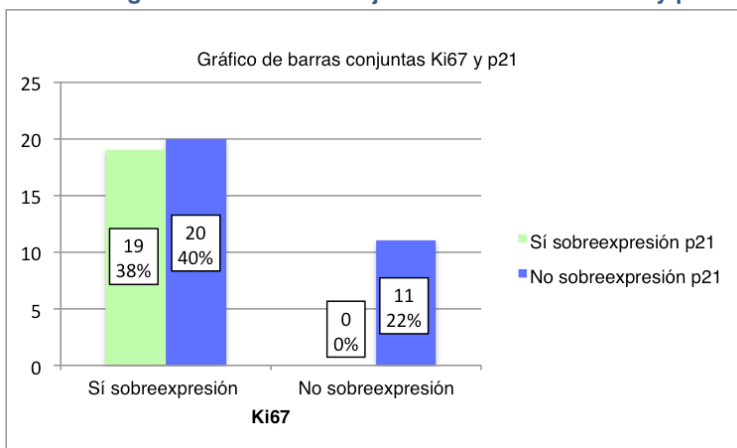
Fuente: elaboración propia

Anexo 22: gráfico de barras conjuntas con relación Ki67 y diagnóstico



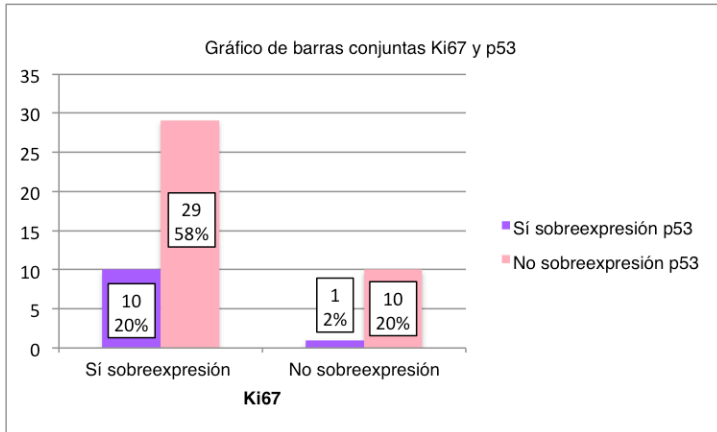
Fuente: elaboración propia

Anexo 23: gráfico de barras conjuntas con relación Ki67 y p21



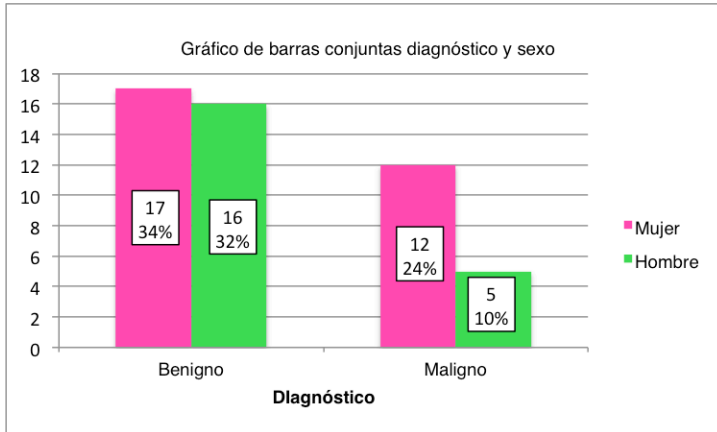
Fuente: elaboración propia

Anexo 24: gráfico de barras conjuntas con relación Ki67 y p53



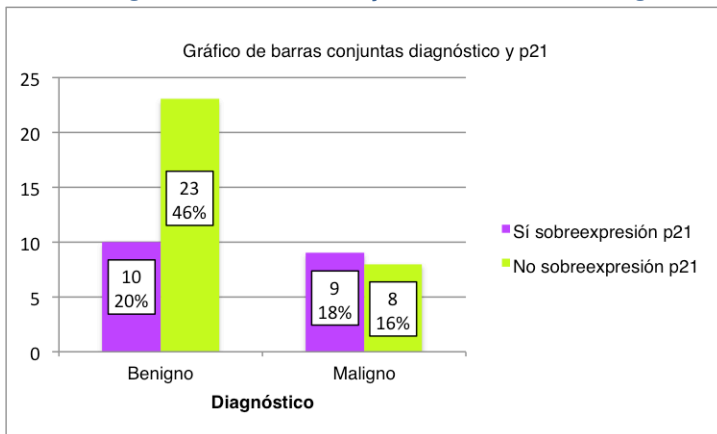
Fuente: elaboración propia

Anexo 25: gráfico de barras conjuntas con relación diagnóstico y sexo



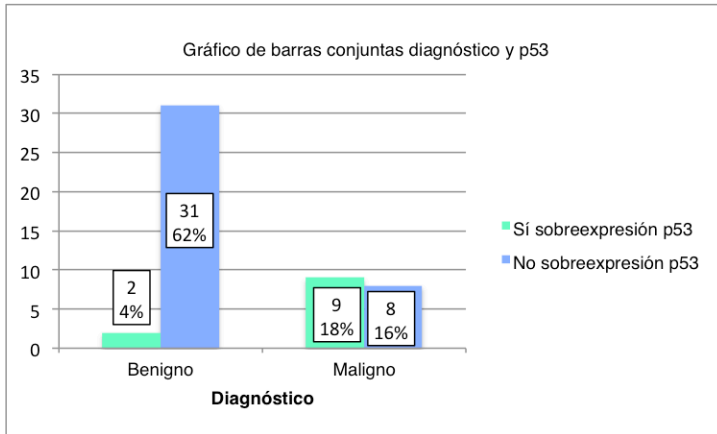
Fuente: elaboración propia

Anexo 26: gráfico de barras conjuntas con relación diagnóstico y p21



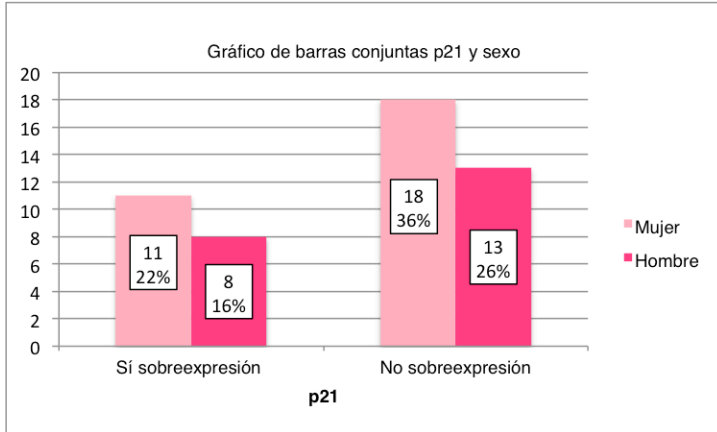
Fuente: elaboración propia

Anexo 27: gráfico de barras conjuntas con relación diagnóstico y p53



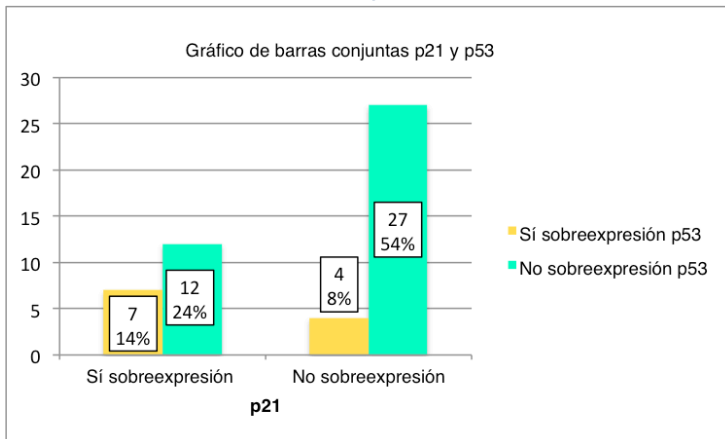
Fuente: elaboración propia

Anexo 28: gráfico de barras conjuntas con relación p21 y sexo

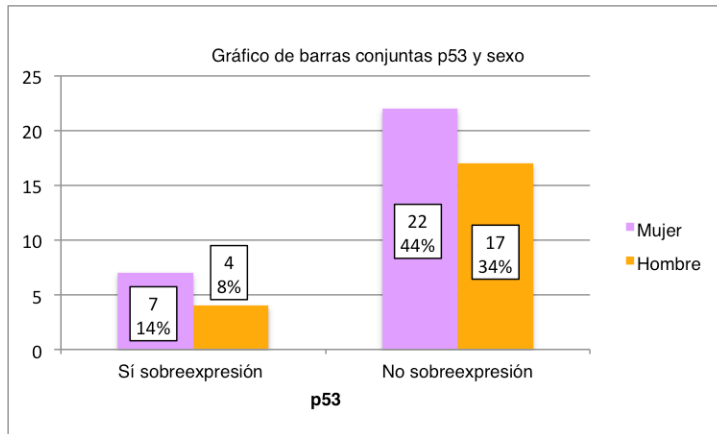


Fuente: elaboración propia

Anexo 29: gráfico de barras conjuntas con relación p21 y p53



Fuente: elaboración propia

Anexo 30: gráfico de barras conjuntas con relación p53 y sexo

Fuente: elaboración propia