

Infección por papiloma virus (HPV) en "carcinoma *in situ*" en un paciente con sida: a propósito de un caso clínico

AUTORES/AUTHORS

Zulema Casariego (1), Susana Micinquevich (2), María A. Gómez (3).

- (1) Profesora Académica de Patología y Clínica Estomatológica, Profesora Académica de Farmacología y Terapéutica Aplicadas. Facultad de Odontología, Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
- (2) Profesora Adjunta de Patología y Clínica Estomatológica, Facultad de Odontología. Universidad Nacional de La Plata.
- (3) Centro de Investigación en Genética Básica y Aplicada. Universidad Nacional de La Plata.

Zulema C, Micinquevic S, Gómez MA. Infección por papiloma virus (HPV) en "carcinoma *in situ*" en un paciente con sida: a propósito de un caso clínico. Medicina Oral 2002; 7: 84-8.
© Medicina Oral. B-96689336
ISSN 1137-2834.

RESUMEN

La incidencia anual del condiloma acuminado es de un 106,5 por 100.000, es decir cerca del 0,1% en la población mundial. En individuos VIH+ la infección por HPV es más prevalente (20% en homosexuales VIH+ y 27% en SIDA). Los HPVDNA 11, 16, 18 y 31 son los tipos más comunes en condilomas anogenitales y en el 1% en lesiones premalignas y cáncer bucal.

Objetivo: Nuestro propósito es presentar un paciente enfermo con SIDA, con condilomas múltiples en la mucosa bucal, y en uno de ellos un "carcinoma *in situ*", subyacente.

Caso clínico: Paciente masculino de 46 años de edad con diagnóstico de SIDA debido a su historial clínico con mycobacteriosis atípica intestinal, candidiasis esofágica, y retinitis por citomegalovirus. Llegó a la consulta como paciente ambulatorio, buen estado general y bajo tratamiento antirretroviral de alta eficacia. A la exploración se encontraron condilomas múltiples esparcidos por toda la mucosa bucal. Se realizaron biopsias, histología e inmunohistoquímica, las cuales confirmaron infección por HPV. Se agregó el ensayo por

Recibido: 30/06/01. Aceptado: 26/08/01.

Received: 30/06/01. Accepted: 26/08/01.

PCR-FLP (*Polimersa Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorfismus*) para obtener una tipificación sensible. En un condiloma de mucosa labial superior se diagnosticó un "carcinoma *in situ*". Los tipos de HPVDNA fueron 18 y 51. Se instaló terapia en tres etapas, aplicando láser de carbón-dioxide y exéresis quirúrgica con bisturí eléctrico. La zona del "carcinoma *in situ*" requirió una cirugía con margen de seguridad. Se pautó una terapia local y el seguimiento.

Conclusión: No hemos encontrado ninguna publicación sobre "carcinoma *in situ*" bucal asociado al HPVDNA 18 y 51. La detección temprana de lesiones asociadas al HPV en la mucosa bucal es importante en la prevención del cáncer bucal.

Palabras clave: "carcinoma *in situ*", tipos de HPVDNA, *Polimersa Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorfismus*.

INTRODUCCIÓN

La infección por papiloma virus humano es una de las infecciones virales más difundidas en la población mundial debido a que es transmitida por contactos sexuales cercanos y repetidos. En la actualidad es reconocida como una enfermedad por transmisión sexual (ETS) (1). Las lesiones mucosas que provoca se localizan en el epitelio genital, anal, laríngeo y bucal, pero lesiones cutáneas como las verrugas cutáneas plantares son comunes también en muchos individuos. La inmunidad mediada por células juega un rol importante en el control de la infección y pacientes con inmunidad celular deprimida están predispuestos a desarrollar múltiples lesiones inducidas por el HPV. Se ha publicado que la proteína *tat* del VIH transactiva al HPV, llevando al aumento de tumores malignos tales como displasias moderadas y severas cervicales (2). Se ha detectado al HPV en condilomas acuminados, hiperplasia epitelial focal, verruga vulgar, liquen plano oral, leucoplasia vellosa (3), lesiones producidas por acción del tabaco, queratosis (4), queratoquiste odontogénico (5) y también ameloblastoma (6). Preferentemente afecta a los labios, bordes laterales de la lengua, mucosa bucal y paladar duro y blando. Más de 75 genotipos del HPV han sido identificados y en lesiones bucales se incluyen 1, 2, 4, 7, 11, 13, 16, 18, 32, 33, 35 y 57 (7). La mayoría de ellos son de bajo grado de riesgo y están asociados con lesiones papilomatosas benignas de la mucosa bucal, no así los últimos seis mencionados (8). La serología positiva ha sido hallada en un 65% al 100% en diversos grupos poblacionales. Existen también numerosas comunicaciones respecto a la prevalencia del HPV en la cavidad bucal y sobre la incidencia anual de condilomas acuminados en 106,5 cada 100.000 habitantes es decir el 0,1% de la población total y en asociación con condiciones premalignas (9). En individuos infectados por el VIH, la infección por HPV es más prevalente en varones homosexuales (20%) y en enfermos de SIDA de iguales características en un 27%. Los HPVDNA 6 y 11 son los más comunes recogidos en muestras de condilomas anogenitales de pacientes VIH+ de ambos



Fig. 1.
Lesiones clínicas: condilomas.

Clinical lesions: condylomas.

sexos (1). Existen numerosos ensayos acerca de la variedad de sensibilidad y especificidad de técnicas para detectar el ADN viral (8). Los datos obtenidos muestran tres categorías de sensibilidad: con inmunoperoxidasa para la detección de antígenos de la cápside viral, indican cierta permisividad para resultados sensibles de la replicación total del virus; la hibridación *in situ* puede detectar más de 10 copias del ADN viral por célula; el *Southern blot* puede detectar de 1 a 10 copias del ADN viral por célula. Las dos primeras técnicas tienen una sensibilidad moderada, y la prueba de polimerasa en cadena (PCR-RFLP), puede detectar hasta menos de 1 copia del ADN viral por célula y está considerado el de más alta sensibilidad (10,11).

OBJETIVOS

El fin de esta presentación es: 1) Comunicar un caso clínico de un paciente enfermo de SIDA, con condilomas múltiples esparcidos por la mucosa bucal, y en el cual se diagnosticó un “carcinoma *in situ*” bajo un condiloma labial y un HPV DNA de potencial oncológico, extraño a nuestro medio. 2) Tabular datos de sexo, edad, estado inmunológico, tratamiento antirretroviral, hallazgos clínicos, estudios por histología, inmunohistoquímica y tipificación de HPV DNA, tratamiento y seguimiento.

CASO CLÍNICO

Se trata de un paciente masculino de 46 años de edad, enfermo de SIDA, con positividad para el VIH desde el año 1994, con una historia clínica de infecciones oportunistas tales como mycobacteriosis atípica intestinal, candidiasis esofágica y retinitis por citomegalovirus (CMV). En el momento de la consulta se encuentra en buen estado general y respondiendo bien al tratamiento antirretroviral de alta eficacia con 3TC, D4T, y dos inhibidores de proteasa. A la inspección pre-

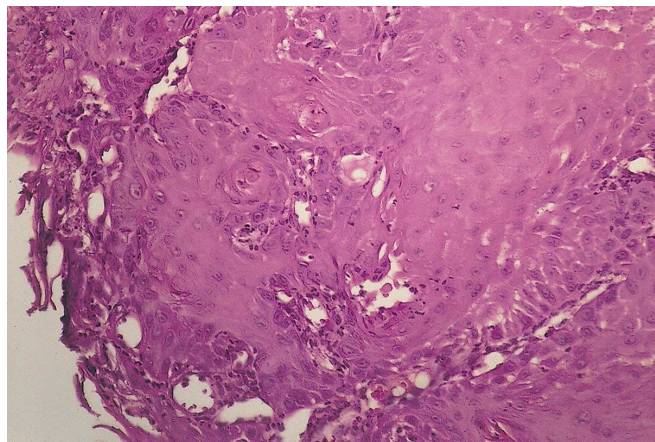


Fig. 2.
Estudio histológico de la lesión de la Figura 1.

Histological study of the lesion Figure 1.

sentaba condilomas múltiples esparcidos en toda la superficie de la mucosa labial, ángulos de la boca y extensión hacia el paladar duro y blando (Fig. 1). Eran lesiones papilares blandas, sesiles y pequeñas algunas; otras, proliferaciones verrugosas de color rosado, con pequeñas proyecciones y además, placas más exuberantes de aspectos de coliflor. El paciente se quejaba de molestias debido al trauma masticatorio y de su aspecto estético. En esta primera consulta los datos de laboratorio indicaban un CD3+ de 1343 (68%), CD4+ de 158 (8%), CD8+ de 1027 (52%) y carga viral menos de 50 copias.

Se realizaron varias biopsias en diferentes localizaciones y estudios histológicos, de inmunohistoquímica y la tipificación de DNA HPV a través de PCR. Microscópicamente se observaron en las biopsias correspondientes a las pápulas un epitelio acantótico, coilocitosis y papilomatosis. Ejemplos con cambios más exuberantes se obtuvieron de las lesiones más grandes con digitaciones papilares extensas, soportadas por un estroma de tejido conectivo fibroso. Una biopsia correspondiente a un condiloma solitario de la mucosa labial superior brindó el hallazgo de cambios proliferativos queratinocíticos con señales de “carcinoma *in situ*”: hiperplasia de la capa de células basales, pérdida de polaridad de las mismas, atipia celular en el resto con polimorfismo nuclear y celular y aumento de la actividad mitótica. Las células superficiales mostraban núcleos elongados y aplanados y vacuolas intracelulares que parecía estaban seccionando las células (Fig. 2). La inmunohistoquímica (Fig. 3) mostró los mismos cambios y fue positiva para el HPV DNA 18. La técnica de PCR-RFLP fue empleada para reconfirmar el tipo viral y surgió la positividad para el HPV DNA 51 (Fig. 4). El paciente fue intervenido quirúrgicamente con láser carbón-dioside, en tres sesiones y además con electro-bisturí, ya que las lesiones por HPV son muy difíciles de erradicar. Luego se medicó con vitamina A 100.000 UI, vitamina E 400 mg y vitamina C, 1g por día. Se indicaron topicaciones con solución de ácido salicílico al 20% en todas las zonas afectadas y en la correspondiente al

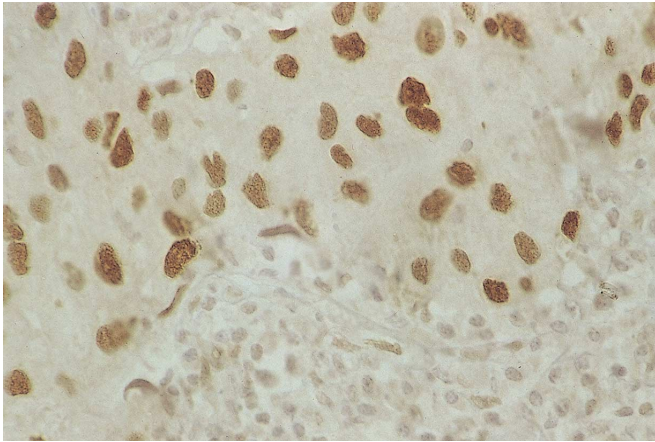


Fig. 3.
Inmunohistoquímica.
Immunohistochemical.

“carcinoma *in situ*”, con gel de 5-fluoracilo al 5%, dos veces por día durante el seguimiento clínico con el fin de detectar algún cambio tisular. El control serológico no mostró ningún cambio de importancia. El examen clínico oral último no reveló ningún cambio patológico. A los cuatro meses se practicó una nueva biopsia en el mismo lugar donde se diagnosticó el “carcinoma *in situ*”. El resultado fue displasia severa, por lo cual se sometió al paciente en forma inmediata a una cirugía de resección con criterio oncológico.

DISCUSIÓN

Este reporte refiere una displasia severa o “carcinoma *in situ*” hallado bajo la presentación clínica de un condiloma solitario ubicado en la cara interna del labio superior, en la mucosa bucal de un paciente con diagnóstico de enfermedad SIDA. La identificación del HPV DNA ya ha sido realizada en displasias convencionales bucales, por otros investigadores, por medio de hibridación *in situ*, con resultados entre 0% al 28,6% (12). Los ensayos por PCR en nuestro caso dieron como resultado DNAHPV 18 y 51, siendo este último común en la población de Brasil, no en la nuestra, perteneciendo al grupo de riesgo oncogénico. Durante el período temprano del síndrome de inmunodeficiencia humana, entre 1985-89, la incidencia de cáncer anal entre enfermos de sida correspondió aproximadamente al doble que en el período pre-sida 1975-79 en la misma población (1). Consistente con esta prevalencia creciente, la infección cervical en mujeres HIV+/SIDA por el

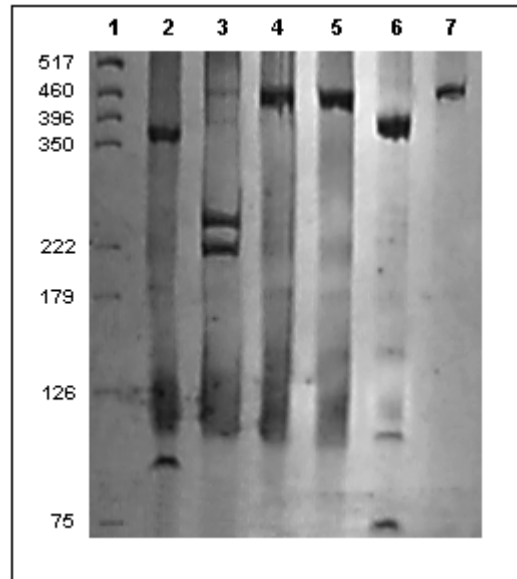


Fig. 4.
PCR-RFLP: Pista 1: marcador pGEM ®DNA (Promega corp.); Pista 2-6: RFLP (pista 2: DdeI; pista 3: BamHI; pista 4: PstI; pista 5: HinfI; pista 6: RsaI); Pista 7: manual My de consenso del producto de amplificación 09/11 (450 pb)
PCR-RFLP: Lane 1: pGEM ®DNA marker (Promega corp.); Lane 2-6: RFLP (Lane 2: DdeI; Lane 3: BamHI; Lane 4: PstI; Lane 5: HinfI; Lane 6: RsaI); Lane 7: Amplification product consensus primer My 09/11 (450 pb).

HPV se ha registrado también en forma parecida en hombres (1), habiendo aumentado del mismo modo la infección del HPV de cabeza y cuello (11,12). Entre los factores de riesgo para mujeres HIV+/SIDA se incluye un recuento bajo de CD4+, pero la carga viral aumentada pareciera no influir en infección anal por HPV tanto en mujeres como en hombres homosexuales VIH+ (13,14). No es de nuestro conocimiento que existan datos publicados y documentados sobre el hallazgo de un DNAHPV 51 oral, tipificado por la técnica de PCR, en condilomas bucales. Consideramos que el intercambio sexual con parejas foráneas podría llevar a una transmisión de un tipo de DNAHPV no común en nuestro medio. Consideramos que son necesarios estudios futuros para clarificar el tratamiento óptimo en epitelios displásicos adyacentes a un margen quirúrgico de seguridad para mejorar la progresión a la malignidad. La detención temprana de lesiones producidas por el HPV en la mucosa bucal es de suma importancia para mejorar el pronóstico de cáncer bucal, especialmente en pacientes VIH+ debido a su potencial oncogénico.

HPV in "carcinoma in situ" associated with HIV/AIDS infection: a case report

SUMMARY

Annual incidence of condyloma acuminata has been reported to be high as 106.5 per 100.000, or about 0,1% of the entire population. In HIV+ individuals, HPV infection is even more prevalent (20% in HIV+ homosexual men and 27% in AIDS homosexual men). HPV DNA 16 and 18 are the most commonly found in anogenital condyloma and in 1% of pre-malignant lesions and oral cancer.

Objective: The aim of this publication is to report a clinic case of an AIDS patient with spreading condylomas in oral mucosa, one of these diagnosed as "carcinoma in situ".

Case report: A 46 year-old male diagnosed with AIDS due to a history of intestinal *Mycobacterium avium*, esophageal candidiasis and Citomegalovirus (CMV) retinitis. He came to our consultation as an out-patient with a healthy appearance under highly effective antiretroviral therapy (HAART). On the exploration we found spreading condylomas in all of the oral mucosa. Biopsies were performed and histological and immunohistochemical studies revealed the characteristic features of HPV infection. PCR-RFLP assay was added in order to obtain a sensible typification of HPV DNA. One localization of condyloma, in the upper lip mucosa was diagnosed as "carcinoma in situ". PVDNA types 18 and 51 were confirmed. Therapy was established with Laser carbon-dioxide application in three sessions, followed by surgical excision with electro scalpel. Carcinoma in situ required excision surgery. A local therapy was performed and follow up.

Conclusion: We have not find any report about HPV DNA 51 in oral "carcinoma in situ". Early detection of HPV lesions in oral mucosa is important in improving prevention of oral cancer.

Key words: "carcinoma in situ", HPV DNA, Polimersa Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorfismus.

INTRODUCTION

HPV infection is one of the most common viral infections in the world. It is widespread due to close and repeated sexual contact. Today it is recognized as a sexually transmitted disease (STD) (1). Mucosal lesions involve genital, anal, oral and laryngeal epithelia but, cutaneous nongenital lesions such as plantar warts are common in many individuals as well. Cell-mediated immunity plays an important role in controlling HPV infection, and patients with depressed cell-mediate immunity are predisposed to developed multiple HPV induced lesions (1). Previous studies have suggested that HIV «tat» protein transactivates HPV, leading to increased HPV expression. HPV infection increases the number of malignant

tumors, such as cervical moderated and severe dysplasia (2). HPV has been detected in condylomata acuminatum, focal epithelial hyperplasia, verruca vulgaris, oral lichen planus, hairy leukoplakia (3), lesions due to tobacco, keratosis (4), odontogenic keratocyst (5), and in ameloblastom (6) as well. This primarily affects lips, lateral borders of the tongue, oral mucosa and hard and soft palate. More than 75 genotypes of HPV have been identified in oral lesions, including 1,2,4,7,11,13,16, 18,32,33,35 and 57 (7). Most of them are of low-risk and they are associated with benign papillomatous lesions of the oral cavity with exception of the last six types (8). Positive serology was found with a prevalence of 65% to 100% in diverse population groups. Numerous reports also exist with respect to the prevalence of HPV in the oral cavity. Annual incidence of condylomata acuminata lesion has been reported to be as high as 106.5 per 100.000 (about 0,1%) of the entire population in association with premalignant conditions (9). In HIV infected individuals, HPV+ infection is even more prevalent (20% in HIV+ homosexual men and 27% in homosexual men with AIDS. The HPV 11,16,18 and 31 are the most common recovered in samples from anogenital condyloma in HIV+ patients of both sexes (1). There are many clinical trials about varying sensitivity and specificity to detect viral DNA (8). Data derived from HPV detection assays shows three categories of sensitivity: when using immunoperoxidase, viral capsid antigens detection indicates cell permissiveness for complete virus replication; in situ hybridization can detect > 10 copies of viral DNA per cell; Southern blot, can detect 1 to 10 copies of viral DNA per cell Both techniques are of low moderate sensitivity while polymerase chain reaction (PCR) can detect <1 copy of viral DNA per cell and is considered to be of high sensitivity (10,11).

OBJECTIVES

The aim of this work is: 1) To report a clinical case of an AIDS patient with spreading condylomas in oral mucosa. One of these was diagnosed as "carcinoma in situ" of the upper lip, and a HPV DNA type resulted a foreign type of oncologic behaviour. 2) To characterize sex, age, immunological status, antiretroviral treatment, clinical, histological, immunohistological features, HPV DNA typing, treatment and follow up.

CASE REPORT

A 46 year-old male AIDS patient (HIV+ since 1994), with a history of an intestinal *Mycobacterium avium*, esophageal candidiasis, and citomegalovirus (CMV) retinitis. At the first visit he showed a healthy appearance and good response to highly effective antiretroviral therapy (3TC, D4T, and two protease inhibitors). At oral examination we found a lot of condylomas spreading all over the mucosa, angles of the mouth, extended to soft and hard palate (Fig. 1), recognized as soft, sessile and small tumors, others pink and verrucous proliferations with smooth projections and small but exuberant cauliflower plaques scattered all over the oral mucosa. The patient complained of irritation as the result of masticatory trauma and physical aspect. Data of laboratory were at that first visit: CD3+=1343 (68%), CD4+= 158 (8%), CD8+=1027 (52%) and

viral load < 50 copies. Biopsies were performed on different localizations and histological and immunohistochemical studies were performed. HPVDNA typing by PCR-RFLP methodology was investigated as well. Microscopically we observed domeshaped papular alteration of the stratified acanthotic squamous epithelium, papillomatosis and koilocytosis (Fig. 2). More exuberated examples in relation ship with greater lesions were associated with extensive papillomatosis and digitation supported by vascular fibrous connective tissue cores. A biopsy corresponding to a solitary lesion of the upper lip mucosa showed changes of atypical keratinocytic proliferations and features of a squamous "cell carcinoma in situ": basilar hyperplasia, loss of polarity, cytologic atypia with nuclear and cellular pleomorphism and increased mitotic activity. Superficial cells with elongated flat-tipped nuclei, intracytoplasmic vacuoles compressing nuclei of these cells were frequently seen and appeared to like sectionated koilocytes (Fig. 2). Immunohistochemistry (Fig. 3) showed same changes and HPVDNA 18+ was detected. PCR-RFLP technique was applied to confirmed viral types and it was positive for HPVDNA 51 (Fig. 4). Patient was treated with CO2 laser, in three sessions and received surgical excision from different areas with electrosurgical scalpel (human papillomavirus is very difficult to eradicate). Afterwards, vitamin A 100,000 UI/day, vitamin E 400mg/day and vitamin C 1gr/day were prescribed. Topically he was treated in areas of pre-localized condylomas, with salicylic acid solution 20%, once a day, meanwhile topication were dysplasia was diagnosed was prescribed with 5-fluoracilo 5% ointment, twice a day during follow up time. Laboratory studies were again performed without any important modification. Clinic examination of oral mucosa was made weekly and did not reveal any pathological change. A second biopsy was made after four month in the same area of previous "carcinoma in situ". The histological result was: severe dysplasia. A surgical resection with oncologic criteria was applied immediately.

DISCUSSION

This report supports the existence of oral epithelial severe dysplasia or "carcinoma in situ" under the clinical feature of condylomata in oral mucosa of a patient with AIDS. DNAHPV has been identified via hybridization in situ 0% to 28.6% of conventional oral dysplasias (12). PCR-RFLP assay in this case was positive for DNAHPV51, common viral type in Brazilian population but not in our medium and it belongs to those virus of oncologic behavior. During the early post AIDS period 1985-89, incidence of anal cancer among people with AIDS was reported to be approximately twice higher as pre-AIDS period 1975-79, in similar populations (1). Consistent with increased prevalence, cervical HPV infection in HIV positive women was also registered between men (1), and head and neck HPV infection had increased as well (11,12). Risk factors among HIV-positive women included low CD4+cell count, but viral load were not associated with increased risk of anal HPV infection as in HIV+ homosexual men (13,14). To date, there have been no data published on oral human papilloma virus DNAHPV 51 type, measured by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism. We consider that sexual intercourse with foreign partners could allow a transmission of an uncommon HPVDNA type in our medium.

We can conclude that furthers studies are required to clarify the optimal treatment of dysplastic epithelium adjacent to a surgical margin to prevent the progression to malignancy. Early detection of HPV lesions in oral mucosa could be an important step in improving the prognosis of oral cancer, specially in HIV+ patients due to its oncogenic potential.

CORRESPONDENCIA/CORRESPONDENCE

Prof. Dra. Zulema Casariego. Tfno./Fax: 0054-11-4372-0444.

BIBLIOGRAFÍA/REFERENCES

1. Palefsky JM, Holly EA, Raltson ML, Da Costa M, Greenblat RM. Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and high risk HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001; 183: 383-91.
2. Goedert JJ, Cote TR, Virgo P. Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. *Lancet* 1998; 351: 1833-9.
3. Maitland NJ, Cox MF, Lynas C, Prime SS, Meanwell CA, Scully C. Detection of HPVDNA in biopsies of human oral tissue. *Br J Cancer* 1987; 56: 245-50.
4. Kashima HK, Kutcher M, Kessiss T, Levin LS, Villers EM, Shah K. Human papillomavirus in squamous cell carcinoma, leukoplakia, lichen planus and clinically normal epithelium of the oral cavity. *Am Othol Rhinol Laryngol* 1990; 99: 55-61.
5. Cox M, Evenson J, Scully C. Human papillomavirus type 16 DNA in an odontogenic keratinocyst. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 143-5.
6. Van Heerden WFP, van Rensburg EJ, Raubenheimer EJ, Venter EH. Detention of human papillomavirus DNA in an ameloblastoma using the in situ hybridization technique. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 109-12.
7. Miller CS, White DK. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82: 57-68.
8. Chang F, Syrjänen SM, Kellokoski J, Syrjänen KJ. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 305-7.
9. Cockerell Clay J. Human papillomavirus Infection. *J Int Assoc Physicians AIDS Care* 1995; 1: 32-6.
10. Miller CS, Zeuss MS, White DK. Detection of DNAHPV in oral carcinoma using polymerasa chain reaction together with in situ hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 77: 480-6.
11. Watts SL, Brewer EE, Fry TL. Human papillomavirus DNA types in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 701-7.
12. Pavan JV, Bustos DA, Carricat SE, Talavera AD, Panico RL, Secchi D, *et al.* Presencia del virus papiloma humano en lesiones proliferativas de la mucosa oral. *Patol* 1997; 35: 299-304.
13. Fornatora M, Jones AC, Kerpel S, Freedman P. Human papillomavirus-associated oral epithelia dysplasia (koilocytic displasia). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82: 47-56.
14. Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK. Prospective study high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. *AIDS* 1995; 9: 1255-62.