



---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

HOSPITAL DE ONCOLOGÍA

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



Expresión de HOXB13, HOXD4, p16 y PDL1 en pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello con refractariedad al tratamiento de quimio radioterapia o radioterapia.

**TESIS**

**Que para obtener el título de  
ONCOLOGIA MÉDICA**

**Presenta**

**Dra. María Helena Villalobos Gómez**

Residente de último año de Oncología Médica  
Hospital de Oncología CMN S XXI  
Av. Cuauhtémoc 330 col. Doctores, CP 06720  
Tel. 56276900, ext. 22818, [helen2010@hotmail.com](mailto:helen2010@hotmail.com)

**Asesor clínico:**

**Dra. María de la Luz García Tinoco**

Médico adscrito en el servicio de Oncología Médica  
Hospital de Oncología CMN S XXI  
Av. Cuauhtémoc 330 col. Doctores, CP 06720  
Tel. 56276900, ext. 22818 [mariadelaluz\\_g@yahoo.com.mx](mailto:mariadelaluz_g@yahoo.com.mx)

**Asesor metodológico:**

**Dra. Patricia Piña Sánchez**

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas  
Hospital de Oncología CMN S XXI  
Av. Cuauhtémoc 330 col. Doctores, CP 06720  
Tel. 56276900, ext. 22710 [patricia\\_1307@yahoo.com.mx](mailto:patricia_1307@yahoo.com.mx)

**Colaboradora**

**Dra. Alejandra Mantilla Morales**

Departamento de patología UMAE Hospital de Oncología CMN S XXI  
Av. Cuauhtémoc 330 col. Doctores, CP 06720  
Tel. 56276900 ext. 22703 [alemantimora@yahoo.com.mx](mailto:alemantimora@yahoo.com.mx)

Ciudad de México, marzo de 2018.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

MÉXICO



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3602** con número de registro **17 CI 09 015 057** ante COFEPRIS  
HOSPITAL DE ONCOLOGÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA **12/02/2018**

**DRA. MARIA DE LA LUZ GARCIA TINOCO**

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**Expresión de HOXD4, HOXB13, p16 y PDL1 en pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello con refractariedad al tratamiento de quimio radioterapia o radioterapia.**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **AUTORIZADO**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
<b>R-2018-3602-3</b>

ATENTAMENTE

  
**DR. (A.) PEDRO MARIO ESCUDERO DE LOS RÍOS**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3602

**IMSS**

SEGURIDAD Y SALUD PARA TODOS

---

**Dr. Odilón Félix Quijano Castro**  
Jefe de Departamento de Enseñanza  
Hospital de Oncología CMN S XXI

---

**Dra. Patricia Piña Morales**  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas  
Hospital de Oncología CMN S XXI

---

**Dra. María de la Luz García Tinoco**  
Médico adscrito en el servicio de Oncología Médica  
Hospital de Oncología CMN S XXI

---

**Dra. María Helena Villalobos Gómez**  
Residente de último año de Oncología Médica  
Hospital de Oncología CMN S XXI

**AGRADECIMIENTOS:**

Un profundo agradecimiento a la Dra. Patricia Piña Sánchez por su entusiasmo en la realización de este protocolo y su interés en la colaboración entre la clínica y el laboratorio.

Este trabajo fue financiado parcialmente por el IMSS con numero FIS/IMSS/PROT/G14/1306.

M. en C. Galo Mendaz Matías por su apoyo el trabajo realizado en el laboratorio.

A mi familia por su apoyo para la realización de esta especialidad.

## ÍNDICE

Portada	Página 1
Dictamen de autorización	Página 2
Hoja de firmas	Página 3
Agradecimientos	Página 4
Índice	Página 5
Resumen	Página 6 – 7
Antecedentes	Páginas 8 – 17
Planteamiento del problema	Página 17
Pregunta de investigación	Página 17
Justificación	Página 17
Hipótesis	Página 17
Objetivos	Páginas 17-18
Material y métodos	Página 18
Operacionalización de las variables	Página 18
Procedimientos	Página 22
Análisis estadístico	Páginas 22 – 23
Resultados	Páginas 24 - 38
Discusión	Páginas 38 - 40
Bibliografía	Páginas 40 - 45

## RESUMEN

A nivel mundial los tumores de cabeza y cuello tienen una incidencia de 550,000 casos y 380,000 muertes anualmente. Los hombres tienen una incidencia mayor en relación con las mujeres con un radio de 2:1 a 2.4:1.

En México de acuerdo al último registro histopatológico de las neoplasias malignas (2003) las malignidades ubicadas en cabeza y cuello representaron 17.6% de la totalidad, con la siguiente distribución: cáncer de laringe 42%, cáncer bucal 37%, cáncer de fosas y senos paranasales 9%, cáncer en bucofaringe 6%, cáncer de nasofaringe 3% e hipofaringe 3%.

Los factores de riesgo conocidos son tabaquismo, consumo de alcohol, infección por VPH y virus de Epstein Barr.

Existen diferentes tratamientos dependiendo del estadio clínico y resecabilidad de la enfermedad, siendo el tratamiento quirúrgico primario de elección; sin embargo si este acercamiento no es posible se puede optar por tratamiento de quimiorradiación o inducción con quimioterapia para posteriormente otorgar quimiorradioterapia o cirugía.

Se conocen diversos mecanismos de resistencia al cisplatino (In vitro, se ha relacionado la resistencia a cisplatino en tumores de cabeza y cuello con la expresión de Hyaluronan-CD44, amplificación de glutatión s- transferasa, expresión de BCL-xL, mutación de P53, expresión de Snail). La sobreexpresión de P53 se asocia a mayor respuesta a cisplatino. Asimismo se conocen biomarcadores de buena respuesta a la concomitancia como expresión de RB, p16 y MRP2.

La expresión de P53, glutatión S- Transferasa, timidilato sintasa se relacionan con el pronóstico sin embargo no se ha comprobado su relación con la efectividad de cisplatino in vivo. Se han visto resultados contradictorios acerca de la sobreexpresión de ERCC-1 y resistencia al tratamiento con quimiorradioterapia.

Recientemente, se ha relacionado la expresión de PDL-1 con mala respuesta al tratamiento concomitante.

En tumores de cavidad oral se ha descrito la sobreexpresión de HOXA1 y baja expresión de HOXA 5 como predictores de mal pronóstico, sin embargo se desconoce su relación con la respuesta al tratamiento. Se ha sugerido que la sobreexpresión de HOXB7 con mala respuesta a la quimiorradiación en tumores de cavidad oral y la sobreexpresión de HOXA 13 con buena respuesta.

Previamente en este hospital se analizó el estado de metilación de los genes HOX en tumores cervicouterinos y su relación con la respuesta al tratamiento, observándose que la hipermetilación de los genes HOXB2, HOXB3, HOXB13, HOXC4, HOXC5, HOXC6, HOXD3, HOXD4, HOXD9, HOXD10, HOXD12 y HOXD13 con mala respuesta al tratamiento.

Debido a la importancia clínica de dicha neoplasia y alta toxicidad del tratamiento con radioterapia con o sin concomitancia hemos decidido estudiar estos posibles biomarcadores de respuesta en

pacientes con cáncer de cabeza y cuello en el Hospital de Oncología en el Centro Médico Nacional Siglo XXI.



## ANTECEDENTES

### EPIDEMIOLOGIA

A nivel mundial los tumores de cabeza y cuello tienen una incidencia de 550,000 casos y 380,000 muertes anualmente <sup>(1)</sup>. En los Estados Unidos, representan el 3% de los tumores con aproximadamente 63,000 pacientes anualmente y 13,000 defunciones <sup>(2)</sup>. Los hombres tienen una incidencia mayor en comparación con las mujeres con una relación que va de 2:1 a 2.4:1. Los cánceres de cavidad oral son más comunes en el subcontinente indio. <sup>(3,4)</sup>

En México de acuerdo al último registro histopatológico de las neoplasias malignas (2002) las malignidades ubicadas en cabeza y cuello representaron 17.6% de la totalidad, de estas el grupo más importante fue el de tumores no melanocíticos de la piel (62%) y en segundo lugar las neoplasias de las vías aerodigestivas superiores constituyeron 2269 casos (12%) con la siguiente distribución: cáncer de laringe 42%, cáncer bucal 37%, cáncer de fosas y senos paranasales 9%, cáncer en bucofaringe 6%, cáncer de nasofaringe 3% e hipofaringe 3%. <sup>(5)</sup>

En México el GLOBOCAN 2012 reporta una incidencia de 5,922 casos (5%) y una mortalidad 2,053 casos (1.9%). <sup>(6)</sup>

En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI (HOCMN SXXI) en un análisis de los datos de morbilidad por tipo de cáncer obtenidos de diciembre 2005 a diciembre de 2012 se documentaron 2033 casos, predominantemente de cavidad oral (1300 pacientes) que representaron 2.73% de los pacientes atendidos en ese periodo, con mayor incidencia en género masculino con una mediana de edad de 65 años. <sup>(7)</sup>

### FACTORES DE RIESGO

El uso de tabaco, incluyendo masticable o fumado y el uso de alcohol son factores de riesgo comunes para los carcinomas escamosos de cabeza y cuello. Los efectos del alcohol y tabaco son aditivos e incrementan dramáticamente el riesgo de presentar esta neoplasia al utilizarse juntos de manera sustanciosa. En partes de Asia es habitual mascar nuez de areca, lo que se ha asociado al desarrollo de leucoplaquia oral y tumores escamosos de la cavidad oral. <sup>(8,9)</sup>

Otro factor de riesgo establecido para tumores de oro faringe, particularmente amígdala y base de la lengua es la infección por VPH <sup>(10)</sup>. En contraste, solo una pequeña proporción de los tumores de la cavidad oral parecen estar relacionados con la infección, incluso en pacientes jóvenes no fumadores ni tomadores. Se piensa que la integración del VPH aumenta la expresión de los oncogenes virales E6 y E7 que aumentan la degradación de los supresores tumorales de P53 y retinoblastoma (RB). La mayor parte de los tumores asociados a VPH en Estados Unidos son causados por el tipo 16. <sup>(11)</sup>

### CUADRO CLINICO

La presentación clínica varía ampliamente de acuerdo al sitio primario de tumoración y la exposición a factores de riesgo. <sup>(12)</sup>

Otalgia: Su presencia es importante y se considera como “bandera roja” en la evaluación de un paciente con probable tumor de cabeza y cuello.

Carcinoma nasofaríngeo: La molestia más común es la presencia de una tumoración cervical debido a metástasis ganglionares, que ocurre en 90% de los pacientes. Los síntomas pueden incluir pérdida auditiva, tinnitus, obstrucción nasal.

Cavidad oral: Los pacientes se pueden presentar con dolor local o úlceras vocales crónicas, pérdida de piezas dentales, disfagia, odinofagia, pérdida de peso, sangrado u otalgia. Hasta 66% de los pacientes con primario de lengua tendrán metástasis ganglionares a nivel cervical. Los tumores de lengua pueden presentarse como lesiones infiltrativas o exofíticas dolorosas con disartria.

Orofaringe: Los síntomas pueden incluir disfagia, dolor, ronquera, apnea del sueño o sangrado. Los pacientes con tumores asociados a infección por VPH pueden asociarse a la presencia de quistes cervicales.

La Estadificación TNM se utiliza ampliamente en los tumores de cabeza y cuello. El estadio T (tumor) difiere de acuerdo al sitio primario, mientras que N (nódulo) se utiliza en todos los subsitios a excepción de nasofarínge y M (metástasis) es común en todos. Los estadios III y IV denotan enfermedad localmente avanzada. El estadio IV se divide en IVA que significa enfermedad avanzada resecable, IVB que significa enfermedad avanzada irresecable y IVC donde incluye enfermedad metastásica a distancia.<sup>(13)</sup>

<b>Estadificación</b>			
EC 0	Tis	N0	M0
EC I	T1	N0	M0
EC II	T2	N0	M0
EC III	T1, T2	N1	M0
	T3	N0 – N1	M0
EC IVA	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0,N1,N2	M0
EC IVB	Cualquier T	N3	M0
	T4b	Cualquier N	M0
EC IVC	Cualquier T	Cualquier n	M1

Parámetro	Descripción
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor con diámetro máximo de 2 cm.
T2	Tumor de 2 a 4 cm.
T3	Tumor mayor de 4 cm
T4a	Tumor que involucra el hueso cortical, músculos intrínsecos o extrínsecos de la lengua, senos maxilares o piel
T4b	Tumor que involucra el espacio masticador, base del cráneo, arteria carótida interna,
N0	Sin metástasis ganglionares
N1	Adenopatía ipsilateral con diámetro máximo de 3 cm
N2	Adenopatía ipsilateral con diámetro máximo de 6 cm, o múltiples ganglios con diámetro máximo de 6 cm o adenopatías bilaterales con diámetro máximo de 6 cm
N3	Adenopatía con diámetro mayor de 6 cm.
M0	Sin metástasis a distancia
M1	Con metástasis a distancia

Tabla 1. Estadificación TNM AJCC 2017 8va edición.

## PATOLOGIA

Los tumores de células escamosas de cabeza y cuello tienen dos etiologías principales: los relacionados con tabaco y alcohol y los asociados con virus de papiloma humano.

Los tumores asociados a tabaco y alcohol se asocian a mutaciones y sobreexpresión del gen p53, frecuentemente junto con aneuploidía del cromosoma 7; típicamente tienen un alto índice de proliferación medido por Ki-67.

Los tumores asociados a infección por el virus de papiloma humano se asocian sobre todo a los tumores originados en orofaringe (especialmente en las áreas ricas en tejido linfóide como base de la lengua y amígdalas).<sup>(14)</sup>

En este hospital, se ha encontrado relación entre infección de VPH y tumores de cabeza y cuello, sobre todo en tumores de base de la lengua y amígdala hasta en 43% de los pacientes tratados<sup>(15)</sup>. Tras la infección de la mucosa escamosa, el virus de papiloma humano se integra al genoma del huésped, inactiva el gen retinoblastoma (Rb) resulta en la sobreexpresión de la proteína supresora de tumores p16. Esta proteína se mide fácilmente por inmunohistoquímica y se utiliza como marcador de la presencia del virus.<sup>(16)</sup>

Existen diferentes subtipos histológicos de carcinomas epidermoides:

**Carcinoma verrucoso:** Comprende menos del 5% de los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, generalmente es un tumor indolente que se observa en pacientes ancianos con o sin historial de tabaquismo<sup>(17)</sup>, no existe relación con infección por virus de papiloma humano<sup>(18)</sup>. Clínicamente se presenta como una masa exofítica, verrugosa o aterciopelada. En su forma pura, raramente presentan metástasis y aunque tengan un gran crecimiento local tienen buen pronóstico.<sup>(19)</sup>

**Carcinoma basaloide:** Son carcinomas epidermoides no queratinizantes o focalmente queratinizantes que exhiben infiltración lobular o sólida por células tumorales basaloideas. Se asocian frecuentemente a VPH 16 y son los más comunes de oro faringe (amígdalas y base de la lengua).<sup>(20)</sup> Los pacientes generalmente se presentan con enfermedad avanzada con metástasis ganglionar regional.<sup>(21)</sup>

Células fusiformes: Es una variante rara de tumores pobremente diferenciados, se encuentra comúnmente en laringe y cavidad oral. Se deben diferenciar de sarcomas primarios de cabeza y cuello debido a su forma y diferenciación. Se caracterizan por tener altas tasas de recurrencia locorregional.<sup>(22)</sup>

### **VIRUS PAPILOMA HUMANO**

Es un pequeño virus DNA de 7900 pares de bases, que afecta principalmente epitelios cutáneos y mucosos. Existen más de 40 tipos que infectan al humano. El genoma del virus comprende genes tempranos y tardíos que codifican as proteínas tempranas (E1-E7) y tardías (L1 y L2). Las proteínas tempranas son proteínas no estructurales involucradas en la replicación y transcripción del genoma (E1-E5) o en la transformación tumoral en el huésped (E6-E7), mientras que las proteínas tardías son proteínas estructurales del virion. Los oncogenes E6 y E7 codifican proteínas responsables del inicio y persistencia de la transformación maligna de los tumores tanto en área genital como en cabeza y cuello.<sup>(23,24)</sup>

El perfil molecular de los tumores asociados a VPH es distinto a los negativos. Los tumores asociados a VPH, se caracterizan por la sobreexpresión de p16, disminución de la regulación pRb y p53 sin mutación.<sup>(25)</sup>

La asociación entre VPH y tumores escamosos de lengua y amígdala palatina es principalmente con el tipo 16. Estudios recientes han asociado la infección con 70 a 80% de los tumores en Norteamérica y Europa. El tiempo entre la infección y el desarrollo de la tumoración excede los 10 años, en el estudio EPIC se identificó serológicamente la infección en un promedio de 6 años antes de la presencia clínica de tumoración en 638 individuos con cáncer de cabeza y cuello.<sup>(26)</sup>

### **ESTRUCTURA**

Las proteínas E6 y E7 son conocidas como “oncoproteínas virales” debido a su actividad transformante en células epiteliales. E6 secuestra (y en algunos casos induce la degradación) múltiples blancos celulares, entre ellos la proteína p53. E7 secuestra y/o induce degradación de la proteína Rb, entre otros blancos. La inhibición de estas proteínas celulares (entre otros mecanismos) ha sido asociada con la oncogenicidad de algunos tipos de VPH<sup>(27,28)</sup>.

Actualmente se conocen 200 tipos virales de VPH, de los cuales 12 son considerados carcinógenos por la IARC (2012), o de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59.<sup>(29)</sup>

Las proteínas E6 y E7 son conocidas como “oncoproteínas virales” debido a su actividad transformante en células epiteliales. E6 secuestra (y en algunos casos induce a la degradación) en múltiples blancos celulares, entre ellos la proteína p53. E7 secuestra y/o induce la degradación de la proteína Rb, entre otros blancos. La inhibición de estas proteínas celulares (entre otros mecanismos) ha sido asociada con la oncogenicidad de algunos tipos de VPH<sup>(27,28)</sup>.

Tras la infección de la mucosa escamosa, el VPH se integra al genoma del huésped e inactiva la proteína pRb lo cual resulta en la sobreexpresión de la proteína supresora de tumores p16. La sobreexpresión de p16 puede ser fácilmente detectada por inmunohistoquímica y actualmente se utiliza como marcador subrogado de la presencia del virus<sup>(16)</sup>.

La asociación entre VPH y tumores escamosos de lengua y amígdala palatina es principalmente con el tipo 16. Estudios recientes han asociado la infección con 70 a 80% de los tumores en Norteamérica y Europa. El tiempo entre la infección y el desarrollo del tumor excede los 10 años,

en el estudio EPIC se identificó serológicamente la infección en un promedio de 6 años antes de la presencia clínica de tumoración en 638 individuos con cáncer de cabeza y cuello <sup>(26)</sup>. En este hospital, se ha encontrado relación entre la infección de VPH y tumores de cabeza y cuello, sobre todo en tumores de la base de la lengua y amígdala hasta en 43% de los pacientes tratados <sup>(15)</sup>.

### **ALTERACIONES MOLECULARES EN CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO**

Los cambios epigenéticos se refiere a cualquier modificación hereditable en la expresión génica que no altera la secuencia de ADN, ocurren de manera más frecuente que las mutaciones genómicas y pueden persistir por múltiples generaciones <sup>(30)</sup>. Las modificaciones epigenéticas se dividen en tres categorías: 1) Metilación del DNA; 2) Modificaciones en las histonas; 3) Regulación por RNAs no codificantes.

La hipermetilación de los genes supresores de cáncer ocurre frecuentemente en las tumoraciones lo que lleva a pérdida de su función reguladora y promueve la carcinogénesis. El silenciamiento de la expresión génica está estrechamente relacionado a la hipermetilación de regiones promotoras, de hecho es uno de los mecanismos de inactivación de genes supresores de tumor. <sup>(31, 32, 33)</sup>

Aunque no se ha demostrado completamente la relación entre las desregulaciones epigenéticas de la expresión génica y la progresión de los tumores, la hipermetilación y su subsecuente silenciamiento de los genes supresores de cáncer se ha identificado en esta neoplasia.

Los genes hipermetilados cubren un amplio espectro de procesos celulares, que incluyen control del ciclo celular (p16, p15), apoptosis (p14, DAPK, p73 y RASSF1A), señalización por Wnt (APC, WIF1, RUNX3), adhesión celular (E-caderina) y reparación del ADN (MGMT y hMLH1). <sup>(33)</sup>

#### **CDKN2A** <sup>(34, 33, 36, 37)</sup>

La tasa de metilación de CDKN2A se ha investigado ampliamente. Se conoce que se encuentra en el cromosoma 9p21 y codifica la proteína reguladora del ciclo células p16; que inhibe las cinasas dependiente de ciclina 4 y 6, induciendo al arresto células en la fase G1. La incidencia reportada de hipermetilación de p16 varía de 23% a 76% en los tumores de cavidad oral.

La expresión de p16 (secundaria a infección por VPH) se ha relacionado con buena respuesta al tratamiento con radioterapia. Ya se conoce la relación entre la infección viral y esta neoplasia, sobre todo en tumores de base de la lengua y amígdalas palatinas.

En un subgrupo del estudio RTOG 02.02 de pacientes con expresión de p16, se encontró beneficio en sobrevida global, sobrevida libre de progresión y menores tasas de recurrencia locoregional.

#### **CADERINA Y E-CADERINA** <sup>(38, 39)</sup>

La ausencia de E-caderina se relaciona a alteraciones de la movilidad tisular y la pérdida de su expresión se relaciona con metástasis. En los tumores de cavidad oral, se ha relacionado la baja expresión de E-caderina con un comportamiento agresivo de la neoplasia; en estos estudios la hipermetilación del gen E-caderina se reporta entre un 7% a 46%.

#### **PTEN** <sup>(40)</sup>

Se ha analizado su expresión mediante inmunohistoquímica en tumores escamosos de cavidad oral, encontrando diferencias entre estos y tejidos normales, sin embargo no se conoce su importancia clínica.

#### **P53** <sup>(41)</sup>

Se encuentra mutado en la mayoría de los cánceres humanos, incluyendo los de cavidad oral en una frecuencia de 25% a 69%. En algunas instancias, p53 muestra pérdida de su función debido a eventos epigenéticos, este es el caso de su inactivación por proteínas no mutadas por la proteína E6 de VPH (generalmente 16 y 18).

#### **DAPK1** <sup>(42)</sup>

La frecuencia de la hipermetilación del promotor de DAPK en tumores de cavidad oral varía de un 18% - 27%.

#### **MGMT** <sup>(39)</sup>

La silenciación de este gen permite la acumulación de la guanina alquilada, restaurando la apoptosis. La frecuencia de su hipermetilación en tumores escamosos de cavidad oral varía de 7% a 68%.

#### **RARB2** <sup>(43)</sup>

La metilación del promotor de RARB2 se ha observado hasta en 67% de los tumores escamosos de cavidad oral, independientemente del subsitio y estadio clínico; aunque se encuentra de mayor manera en los pacientes ancianos y se relaciona con pobre pronóstico.

#### **RASSF1 Y RASSF2** <sup>(44)</sup>

Se encuentran metilados hasta en 26% de los tumores escamosos de cavidad oral, sin embargo su hipermetilación no se ha relacionado con la recurrencia o agresividad de dichos tumores.

#### **GENES HOX**

Se han identificado alteraciones en la expresión de miembros de la familia de genes HOX en cáncer de cabeza y cuello. Por ejemplo, se ha reportado la sobreexpresión de HOXB9 asociada a migración, invasión y proliferación <sup>(45)</sup>, mientras que la sobreexpresión de HOXC6 modula la expresión de BCL-2 e incrementa la resistencia a la apoptosis inducida por paclitaxel <sup>(46)</sup>. Ensayos in vitro han demostrado que modificaciones en el código de histonas y en la metilación del DNA están asociados a la desregulación de la expresión de genes HOX en un modelo de cáncer de cabeza y cuello <sup>(47)</sup>. Estudios en cáncer cervicouterino, el cual se encuentra relacionado a VPH, se ha identificado un grupo de genes HOX cuyo perfil de metilación se asocia a la respuesta al tratamiento <sup>(48)</sup>. Adicionalmente, se ha identificado que los genes HOXB7 y HOXB13 se encuentran sobre expresados en cáncer cervicouterino <sup>(49)</sup>. Por lo que es posible que este mismo patrón se encuentre en otros tumores asociados a VPH, ya que se ha demostrado que la infección por genotipos de VPH impone marcas específicas de metilación, las cuales involucran a la familia HOX. En un estudio realizado en cáncer cervicouterino, se encontró que la hipermetilación de HOXB2, HOXB3, HOXB7, HOXB13, HOXC4, HOXC5, HOXD4, HOXD9, HOXD10, HOXD12 y HOXD13 se asociaron a mala respuesta al tratamiento con quimioradioterapia <sup>(50)</sup>.

#### **PDL-1**

En los últimos años ha surgido la inmunoterapia como un tratamiento efectivo en diversas neoplasias con objetivo en los receptores de PDL-1 (programmed death ligand 1) en enfermedad recurrente y metastásica; sin embargo solo un estudio ha mostrado relación entre su expresión y mala respuesta al tratamiento con radioterapia en enfermedad localmente avanzada en pacientes VPH negativos <sup>(51)</sup>. Esto tiene relevancia clínica ya que si se demuestra fehacientemente esta

relación podría utilizarse como biomarcador y sugerir el uso de inmunoterapia en este subgrupo de pacientes.

### **BIOLOGIA TUMORAL**

El desarrollo tumoral en cabeza y cuello es desencadenado por mutaciones genéticas específicas causado por la exposición continua a carcinógenos. La presencia de mutaciones en la proteína tumoral p53 (TP53) se ha reportado en aproximadamente 40% a 70% de los pacientes, con mayor frecuencia al presentar antecedente de exposición a tabaco y alcohol. Las mutaciones en p53 se asocian a la progresión tumoral de una lesión premaligna a enfermedad invasiva y con riesgo de recurrencia locorregional; asimismo existe asociación entre esta y la sobrevida, independientemente del estadio clínico. <sup>(52,53)</sup>

El Atlas Genómico de Cáncer en su análisis de tumores de cabeza y cuello confirmó que la mutación en TP53 se encuentra entre las anormalidades moleculares más comunes en los tumores negativos a virus de papiloma humano (VPH). Adicionalmente, las mutaciones en los supresores tumorales NOTCH e inactivación de p16 (CDKN2A) se asocian comúnmente a tumores VPH negativos, mientras que la mutación en PIK3Ca se encuentra en 30% de los tumores asociados a la infección. <sup>(54,55)</sup>

Ciclina D1 (CCDN1) es un oncogén que activa la progresión del ciclo celular. CCDN1 se encuentra amplificado en aproximadamente un tercio de los pacientes con tumores de cabeza y cuello; lo que se ha asociado a enfermedad avanzada, recurrencia temprana y peor pronóstico. <sup>(56)</sup>

El gen p16 (CDKN2A) es un inhibidor de las cinasas dependientes de ciclinas, que tiene un papel importante en la regulación del ciclo celular. Su inactivación resulta en la desregulación de la proliferación celular y tumorigenesis, su expresión se encuentra aumentada en los tumores asociados la infección por VPH debido al aumento en la degradación de la proteína RB propiciado por la sobreexpresión de la proteína E7 del VPH. <sup>(29)</sup>

El receptor del factor epidérmico de crecimiento (EGFR) se ha encontrado altamente expresado en más del 95% de los tumores de cabeza y cuello. <sup>(56)</sup>

### **TRATAMIENTO**

El tratamiento y pronóstico de la enfermedad localmente avanzada ha cambiado en los últimos 20 años, previamente el tratamiento quirúrgico era la piedra angular del manejo; actualmente quienes continúan siendo candidatos a dicho manejo tiene mejores opciones de rehabilitación y reconstrucción para reducir la morbilidad asociada. En los últimos años ha aumentado la aceptación del tratamiento con radioterapia o quimioradioterapia como una opción no quirúrgica efectiva para la enfermedad localmente avanzada. <sup>(56)</sup>

La resección del tumor depende de las estructuras involucradas en el mismo, el uso de cirugía robótica y microcirugía láser transoral en tumores de cabeza y cuello ha aumentado en Estados Unidos. Estos abordajes pueden utilizarse en tumores asociados a VPH.

El tratamiento quirúrgico se prefiere en cavidad oral, con un abordaje directo transoral o transcervical, sin diferencias en sobrevida global o tasas de recurrencia al utilizar abordajes mínimamente invasivos. En caso de presentar márgenes positivos, si es posible se recomienda la re intervención. <sup>(57)</sup>

Después de la intervención quirúrgica, se recomienda la radioterapia post operatoria con o sin quimioterapia concomitante, ya que tienen alto riesgo de recurrencia local. Los factores de riesgo particularmente asociados a recurrencia son: ruptura extra capsular nodal, márgenes positivos, enfermedad nodal N2 y N3, enfermedad nodal en los niveles IV y V, invasión perineural e invasión vascular. La presencia de enfermedad T3 o T4 sin algún otro factor de riesgos es indicación de RT solamente.<sup>(57)</sup>

La radioterapia se utiliza en el tratamiento de tumores localmente avanzados, el fraccionamiento convencional es definido típicamente entre 1.8 – 2.0 Gy por fracción 5 días a la semana con una dosis total de 45 – 50 Gy para enfermedad microscópica y 66 – 70 Gy para enfermedad macroscópica.<sup>(58)</sup>

En los pacientes no candidatos a tratamiento quirúrgico inicial ya sea por irsecabilidad o pérdida de función de un órgano útil se puede optar por radioterapia, quimioradioterapia o quimioterapia de inducción.

El uso de quimioradioterapia concomitante es el tratamiento estándar en la enfermedad localmente avanzada ya que aumenta la sobrevida y el control locorregional al compararse con radioterapia sola. En el meta analisis MACH-NC de 16.485 pacientes mostró beneficio en control locorregional al utilizar el tratamiento concomitante al compararse con quimioterapia de inducción seguido de radioterapia, con un beneficio absoluto en sobrevida global del 9%.<sup>(59)</sup>

Los pacientes mayores de 70 años son pobres candidatos a la concomitancia y generalmente se ofrece radioterapia únicamente.<sup>(60)</sup>

Diversos estudios retrospectivos han mostrado beneficio en las tasas de conversión con el uso de quimioterapia de inducción en tumores potencialmente resecables basada en platino (duplete con fluoracilo o triplete con taxano) con tasas de conversión de 17% a 43%, siendo mayores con uso de triplete, por lo que parece una alternativa apropiada a la quimio radiación.<sup>(61)</sup>

Asimismo se puede utilizar la quimioterapia de inducción en tumores irsecables con el objetivo de conocer la respuesta a la quimioterapia de la neoplasia; si esta es menos que parcial serían candidatos a radioterapia sola o mantenimiento.<sup>(62)</sup>

Los tumores con positividad para VPH tienen una mejor respuesta al tratamiento. En un análisis retrospectivo del estudio RTOG 0129, los tumores VPH positivos tuvieron mejor respuesta a la quimioradioterapia en comparación con los negativos. Por ende, existe un interés especial en desescalar el tratamiento en los pacientes VPH positivos. En el estudio ECOG 1308 de 90 pacientes con tumores de oro faringe VPH positivos, todos recibieron quimioterapia de inducción con un triplete (paclitaxel, cisplatino y cetuximab) por 3 ciclos de estos, 56 pacientes presentaron respuesta clínica completa y a 51 se les otorgó quimioterapia a dosis bajas (54Gy) concomitante con cetuximab, presentando sobrevida a 2 años de 96%.<sup>(63,64)</sup>

Las guías NCCN sugieren la valoración con tomografía computada o resonancia magnética tras 8 – 12 semanas del tratamiento o bien el uso de PET-CT tras 10 – 12 semanas del tratamiento radical.<sup>(59)</sup>

## **PRONOSTICO**



De los tumores de cabeza y cuello reportados en la base de datos SEER 1973 a 2006 la mayoría correspondía a tumores primarios de lengua, cavidad oral y amígdalas <sup>(65)</sup>

En la misma base de datos del año 2014 la sobrevida a 5 años en cáncer de lengua en estadio clínico local fue de 78%, localmente avanzado 63% y metastásico 36%; en tumores amigdalinos la sobrevida global en todos los estadios fue de 66%. <sup>(65)</sup>

Asimismo existen factores pronósticos individuales: <sup>(66)</sup>

Tamaño tumoral: Se ha considerado de manera tradicional un factor de riesgo importante para la presencia de metástasis ganglionares, recurrencia local y pobre sobrevida.

Estado postoperatorio de los márgenes: La presencia de carcinoma residual tras la resección quirúrgica es un factor de riesgo importante para recurrencia local.

Invasión peri neural: Se encuentra hasta en 52% de los tumores, es un predictor pobre pronóstico que se asocia a peores tasas de control local, regional, sobrevida específica y sobrevida global.

Invasión vascular: Se encuentra en más del 50% de los tumores de cabeza y cuello e identifica a los tumores de naturaleza biológica agresiva debido a su habilidad para invadir estructuras anatómicamente normales.

Ganglios positivos: Provee uno de los factores pronósticos más importantes en tumores de cabeza y cuello, siendo un factor predictor independiente de sobrevida global.

Extensión extracapsular: Se encuentra aproximadamente en 60% de los pacientes con ganglios positivos a nivel cervical. Es un factor determinante de pobre pronóstico por aumentar el riesgo de recurrencia locales y metástasis a distancia.

Infección por VPH: Aunque existen más de 200 subtipos de VPH, el 90% de los tumores en cabeza y cuello relacionados son originados por la cepa 16. Los tumores asociados a su infección se relacionan a mejor pronóstico.

## **FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA**

Se han propuesto diversos marcadores de posible falla al tratamiento con radioterapia, sin embargo en la práctica clínica actual ninguno se ha establecido como un estándar:

Factor inducible de hipoxia 1 alfa (HIF1a): En un estudio de 75 pacientes se asoció su sobreexpresión mediante inmunohistoquímica se asocia a un comportamiento agresivo loco regionalmente <sup>(67)</sup>, sin embargo no es un hallazgo consistente teniendo resultados controversiales <sup>(68)</sup>.

P53: Es una mutación en los tumores de cabeza y cuello, encontrándose hasta en 69% de los casos, sin embargo los estudios que quieren examinar su valor como factor predictivo para tratamiento muestran resultados conflictivos, siendo asociado algunas veces a menores tasas de control locoregional <sup>(69,70)</sup> y en otros no ha sido concluyente <sup>(71,72)</sup>.

Factor de crecimiento endotelial (EGFR): Su expresión se ha asociado a pobres desenlaces tras el tratamiento con radioterapia en tumores de cabeza y cuello, tomando en cuenta valores por inmunohistoquímica mayores del 25% de expresión, sin embargo no se ha podido demostrar en todos los estudios clínicos<sup>(73,74,75)</sup>.

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El tratamiento inicial en los pacientes con tumores de cabeza y cuello irresecables y en algunos casos con intención adyuvante es a base de quimioterapia con cisplatino y radioterapia concomitante.

Sin embargo, existe un grupo de pacientes que tienen pobre respuesta o recaen dentro de los primeros 6 meses tras el tratamiento. No se conocen exactamente los mecanismos de resistencia en tumores de cabeza y cuello, sin embargo se han investigado posibles biomarcadores en esta situación.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

**¿La expresión de HOX D4, HOX B13, PDL-1 o p16 se relacionan a la resistencia al tratamiento con quimio radioterapia o radioterapia en los carcinomas escamosos de cabeza y cuello?**

### **JUSTIFICACION**

Los tumores de cabeza y cuello son una de las neoplasias más mórbidas con secuelas importantes para la alimentación y mecánica respiratoria en los pacientes.

Las toxicidades asociadas a la quimio radioterapia concomitante son importantes y obligan al retraso del tratamiento hasta en 50% de los pacientes, con abandonos de hasta del 30%, asimismo la radioterapia lleva secuelas que pueden llegar a ser incapacitantes a largo plazo.

Es importante conocer quienes no se benefician de la concomitancia o radioterapia para evitar exponerlos a toxicidades innecesarias en intentar buscar otro tratamiento menos agresivo.

### **HIPOTESIS**

La expresión mediante inmunohistoquímica de HOXD4, HOXB13, p16 y PDL-1 se relacionan a la resistencia al tratamiento con quimio radioterapia o radioterapia en los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello.

### **OBJETIVOS**

#### **Primarios:**

Conocer si la expresión de p16, HOX D4, HOX B13 o PDL-1 se relacionan a la resistencia en tratamiento con quimio radioterapia en carcinomas epidermoides de cabeza y cuello.

Conocer si la expresión de p16, HOX D4, HOX B13 o PDL-1 se relacionan a la resistencia al tratamiento con radioterapia en carcinomas epidermoides de cabeza y cuello.

#### **Secundarios:**

1. Detallar los aspectos epidemiológicos de los pacientes con tumores de cabeza y cuello tratados en el HO CMN SXXI en el año 2016.

2. Reportar la epidemiología y características clínicas de los casos refractarios
3. Buscar si existe diferencias en las expresiones de p16, PDL-1, HOXD4 y HOXB 13 en pacientes pareados no refractarios

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Diseño estadístico**

Estudio observacional, retrospectivo, transversal.

### **Universo de estudio**

Pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello atendidos en el Hospital de Oncología de Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el año 2016 tratados con radioterapia a dosis radical o adyuvante con o sin quimioterapia concomitante basada en cisplatino. Este estudio se realizó en el laboratorio de Oncología Molecular de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### **Tipo de muestreo**

No probabilístico

### **Criterios de selección**

#### **Inclusión**

- a. Pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello en cualquier estadio clínico corroborado histológicamente.

#### **Exclusión**

- a) Tumores de subsitio nasofarínge, glándulas salivales y piel.
- b) Antecedente de neoplasia de cabeza y cuello tratada previamente.

#### **Eliminación:**

- c) Sin criterios de eliminación

## **OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES**

### ***Edad***

**Tipo de variable:** Cuantitativa discreta.

**Definición conceptual:** Tiempo de vida de una persona medida en años.

**Definición operacional:** Número de años de vida que el paciente refiere tener a la valoración inicial en la Consulta Externa del Servicio de Oncología Médica.

**Escala de medición:** Número de años

### ***Género***

**Tipo de variable:** Cualitativa nominal

**Definición conceptual:** Fenotipo que define el género al cual se pertenece, hombre o mujer.

**Definición operacional:** Género del paciente

**Escala de medición:**

1. Masculino
2. Femenino

### ***Estadio clínico***

**Tipo de variable:** Cualitativa ordinal

**Definición conceptual:** Estadificación de la tumoración mediante clasificación de TNM AJCC 8va edición.

**Definición operacional:** Estadificación de la tumoración realizada por cualquier médico del hospital de oncología de centro médico nacional siglo XXI.

**Escala de medición:** Cualitativa Nominal

1. I
2. II
3. III
4. IV

### ***Enfermedad irresecable***

**Tipo de variable:** Cualitativa nominal

**Definición conceptual:** Enfermedad que no se pueda extirpar mediante una cirugía.

**Definición operacional:** Enfermedad considerada no manejable mediante tratamiento quirúrgico por médico cirujano adscrito al servicio de cabeza y cuello.

**Escala de medición:** Cualitativa Nominal dicotómica

1. Si
2. No

### ***Expresión de HOX D4***

**Tipo de variable:** Cuantitativa nominal dicotómica

**Definición conceptual:** La expresión mediante inmunohistoquímica de la proteína HOX D4 en los tejidos estudiados.

**Definición operacional:** Expresión de la proteína HOXD4 en membrana celular

**Escala de medición:**

1. Si
2. No

### ***Expresión de HOX B13***

**Tipo de variable:** Cuantitativa nominal dicotómica

**Definición conceptual:** La expresión mediante inmunohistoquímica de la proteína HOX B13 en los tejidos.

**Definición operacional:** Expresión de la proteína HOX B 13 en membrana tumoral mayor al 1%

**Escala de medición:**

1. Sí
2. No

### ***Expresión de PDL1 (CD 273)***

**Tipo de variable:** Cuantitativa nominal dicotómica

**Definición conceptual:** La expresión mediante inmunohistoquímica de la proteína PDL-1 en los tejidos.

**Definición operacional:** Porcentaje de expresión de la proteína PDL-1 en membrana tumoral mayor del 50%

**Escala de medición:**

1. Si
2. No

### ***Expresión de p16***

**Tipo de variable:** Cuantitativa nominal dicotómica

**Definición conceptual:** La expresión mediante inmunohistoquímica de la proteína p16 en los tejidos.

**Definición operacional:** Expresión mediante inmunohistoquímica de la proteína p16

**Escala de medición:**

1. Sí
2. No

### ***ECOG***

**Tipo de variable:** Cualitativa ordinal

**Definición conceptual:** Escala de evaluación del desempeño funcional del paciente con cáncer en relación a la sintomatología por la enfermedad.

**Definición operacional:** Número del estado funcional del paciente de acuerdo a la escala ECOG a la valoración inicial en la Consulta Externa del Servicio de Oncología Médica.

**Escala de medición:**

3. 0

4. 1

5. 2

### ***Respuesta al tratamiento***

**Tipo de variable:** Cualitativa nominal

**Definición conceptual:** Medición de la respuesta clínica de la tumoración primaria por estudio de radiología (tomografía computada o resonancia magnética) al menos 8 semanas después del término de tratamiento con radioterapia o quimio radioterapia.

**Definición operacional:** Valoración de respuesta al tratamiento realizada al menos 8 semanas después del tratamiento con quimio radioterapia o radioterapia valorada por médico cirujano adscrito al servicio de cabeza y cuello o radioterapia del Hospital de Oncología del CMNSXXI

**Escala de medición:**

Respuesta completa: Desaparición de la tumoración primaria después de 8 semanas tras el último tratamiento con quimioradioterapia o radioterapia.

Sin respuesta: Cualquier incremento en el tamaño de la lesión, sin cambios en el tamaño de la tumoración primaria o disminución en el tamaño que no cumpla con respuesta completa después de 8 semanas tras el último ciclo de tratamiento con quimioradioterapia o radioterapia.

### ***Refractariedad al tratamiento***

**Tipo de variable:** Cualitativa nominal

**Definición conceptual:** Sin respuesta o recurrencia local o a distancia de la enfermedad en los primeros 6 meses tras el tratamiento con quimiorradiación o radioterapia mediante estudio de tomografía computada, resonancia magnética o biopsia.

**Definición operacional:**

**En tratamiento adyuvante:** Diagnóstico de recurrencia realizado en los primeros 6 meses después del término del tratamiento con quimioradioterapia o radioterapia valorado mediante tomografía computada, resonancia magnética o biopsia de lesión valorada por médico cirujano adscrito al servicio de cabeza y cuello o radioterapia del Hospital de Oncología del CMNSXXI.

**En tratamiento radical:** Diagnóstico de incremento clínico de la lesión, sin cambios o disminución en el tamaño de la tumoración primaria que no cumpla con criterio de respuesta completa valorado mediante tomografía computada o resonancia magnética de la lesión valorada por

médico cirujano adscrito al servicio de cabeza y cuello o radioterapia del Hospital de Oncología del CMNSXXI.

**Escala de medición:**

1. Sí
2. No

**PROCEDIMIENTOS**

Se contó con una base de datos con el registro de los reportes histopatológicos realizados en pacientes tratados en la unidad en el año 2016, se depuraron aquellos pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide primario de cabeza y cuello. Se revisaron los expedientes clínico (físicos o electrónicos) de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se recopiló la información en una base de datos y se hizo el análisis estadístico, se tomaron prestados del servicio de patología los bloques de parafina de los pacientes seleccionados y se analizó mediante inmunohistoquímica la expresión de HOX D4, HOX B13, PDL-1 y p16; posteriormente se realizó un reporte con el análisis y discusión de los datos comparándolos con similares pareados por subsitio, estadio clínico y tratamiento. Para el análisis de pacientes refractarios y controles, se tomaron en cuenta solo los pacientes con bloque de parafina disponible, expediente clínico completo, que hayan recibido al menos 50% del tratamiento propuesto con dosis radicales de radioterapia con o sin quimioterapia concomitante y que contaran con seguimiento de al menos 6 meses. Los demás pacientes se tomaron en cuenta solo para descripción epidemiológica.

**INMUNOHISTOQUIMICA PARA PDL-1, HOX D4, HOX B13 y p 16**

Se realizaron cortes histológicos de 4 micras, los cuales fueron colocados en laminillas electrocargadas, los cuales se desparafinaron e hidrataron. Se realizó exposición de los antígenos con buffer de citratos. La actividad de la peroxidasa endógena se bloqueó con peróxido de hidrógeno al 3% en salino fosfatasa-buffer (PBS) por 15 minutos, seguido de tres lavados de PBS. Las secciones se bloquearon con BSA al 3% por 5 minutos, posteriormente se incubaron en los anticuerpos específico toda la noche a 4°C. La inmunoreactividad se reveló con tetrahidroclorido 3'3 diaminobenzidina, las secciones se contrastaron con hematoxilina, se deshidrato y aclaró con xilol, se montaron con resina sintética. Los laminillas se escanearon en el sistema de patología digital APERIO, posteriormente se realizó el análisis de imágenes.

La determinación de HOX D4 y HOX B13 se realizó mediante núcleos positivos en el tejido teñido, los anticuerpos utilizados fueron de tipo policlonal para humano NBP2-4963 (Novus Biologicals, USA) bajo distintas diluciones. Para HOX B13 una dilución 1:1000 y para HOX D4 una dilución de 1:600 en un tiempo de incubación de 16 horas a 4°C.

La determinación de p16 se realizó mediante el anticuerpo monoclonal CINtec p 16 Histology VENTANA (Hoffman-LaRoche Ltd) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Todas las tinciones fueron clasificadas dicotómicamente como p16 positivas (tinción fuerte y difusa) o p16 negativas (ausencia de tinción o tinción en parches).

La determinación de PDL-1 se realizó mediante el anticuerpo monoclonal GTX104763 se realizó su cuantificación en la membrana tumoral y se tomó como positivo la expresión mayor al 50% en las células, tomando en cuenta el porcentaje de células inflamatorias y neoplásicas que tengan expresión en membrana de PDL-1.

## ANALISIS ESTADISTICO

Con los datos clínicos y moleculares de cada paciente se realizó una base de datos en el programa SPSS versión 17, se evaluó la correlación entre la expresión mediante inmunohistoquímica de p16, HOX D4, PDL-1. HOXB13 y refractariedad mediante chi cuadrada con un 95% de intervalo de confianza (IC) para la determinación de la sensibilidad y especificidad de la expresión de las proteínas mencionadas con la refractariedad al tratamiento y se compararon con similares pareados por subsitio, tratamiento y estadio clínico. Para la diferencia de medias se utilizó una prueba de *t-student* con un 95% de intervalo de confianza (IC), además para el análisis de correlación se utilizó la prueba de Pearson con un 95% de IC, entre las características clínicas y porcentaje de expresión.

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se trató de un estudio retrospectivo que no requiere contacto con el paciente por lo que no amerita consentimiento informado. Sigue los lineamientos establecidos por la declaración de Helsinki y la Ley General de Salud de México. Se contó con todos los recursos físicos (expediente físico y electrónico).

Se hizo uso de la información, sin mencionarse los nombres ni la afiliación de los pacientes con lo que se conserva su carácter de confidencialidad.

Se sometió evaluación por el Comité local de Investigación en Salud.

## RECURSOS

Humanos

Asesor clínico:

Dra. María de la Luz García Tinoco

Médico adscrito a oncología médica

Asesor metodológico:

Dra. Patricia Piña Sánchez

Colaboradora:

Dra. Alejandra Mantilla Morales

Presenta

Dra. María Helena Villalobos Gómez

Residente de último año de oncología médica

## FACTIBILIDAD Y RECURSOS FINANCIEROS:

El laboratorio de Oncología Molecular a cargo de la Dra. Patricia Piña cuenta con la infraestructura necesaria para el desarrollo del proyecto, así se cuenta en archivo los expedientes clínicos con un respaldo electrónico en sistema SICEH.

Análisis estadístico con el programa SPSS versión 17.0



## RESULTADOS

En el año 2016 se revisaron 214 casos de tumores de cabeza y cuello en el servicio de patología del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, de los cuales 91 no cumplieron con criterios de selección (37 por tratarse de recurrencias tardías, 27 no recibieron tratamiento oncológico por mal estado funcional, 4 por haber recibido tratamiento fuera de la unidad y no contar expediente clínico, 13 por tratarse de histología diferente a carcinoma epidermoide y 10 por otorgarse tratamiento paliativo de inicio).

De los 123 pacientes restantes, 22 (18%) se consideraron refractarios al tratamiento y al cumplirse 12 meses de seguimiento se encontraban en mejores cuidados de soporte o egresados de la unidad. Las características clínicas de los mismos se describen en las tablas 1 y 2.

Edad	63.76 años (rango 41 a 88 años)
Sexo	Masculino 92 (74.7%) y Femenino 31 (25.2%)
Estadío clínico	
I	6 (5%)
II	6 (5%)
III	54 (44%)
IVa	41 (34%)
IVB	16 (13%)
Subsitio	
Cavidad oral	49 (39.8%)
Laringe/Faringe	59 (47.9%)
Parotida	1 (0.81%)
Antro maxilar	2 (1.62%)
Amígdala	6 (4.8%)
Otros	6 (4.8%)
Tratamiento quirúrgico	83 (67.47%)
Quimioterapia de inducción	46 (37.39%)
Radioterapia radical	33 (26.8%)
Radioterapia adyuvante	90 (73.2%)
Concomitancia con quimioterapia	48 (39.05%)

Edad	61.36 años (rango 41 a 78 años)
Sexo	Masculino 15 (68%) y

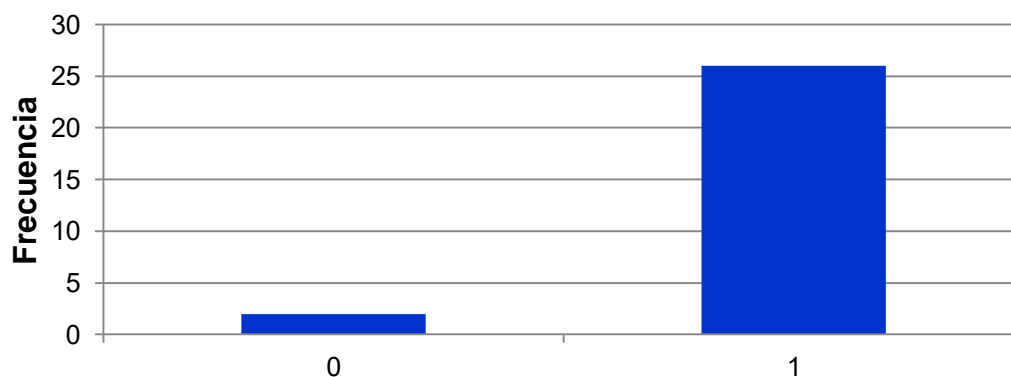
	Femenino 7 (32%)
Estadío clínico	
II / III	5 (22.72%)
IVA	11 (50%)
IVB	6 (27.27%)
Subsitio	
Cavidad oral	13 (59.09%)
Laringe/Faringe	5 (22.72%)
Parotida	1 (4.5%)
Antro maxilar	2 (9%)
Amígdala	1 (4.5%)
Tratamiento quirúrgico	16 (72.72%)
Quimioterapia de inducción	9 (40.90%)
Radioterapia radical	8 (36.36%)
Radioterapia adyuvante	14 (63.64%)
Concomitancia con quimioterapia	11 (50%)
PLE (promedio)	3.72 meses

De los pacientes sometidos a tratamiento concomitante (48) 23 fueron suspendidos por toxicidad (47.9%), siendo las más comunes gastrointestinales y hematológicas.

De estos 22 pacientes, se obtuvieron 14 casos pareados con bloques de parafina, se eliminaron 8 casos al no contar con muestra para analizar, con los siguientes resultados.

Los pacientes con ECOG de 0 representaron el 7.1%(2), y los pacientes con ECOG de 1 representaron el 92.9%(26), (Gráfica 1).

### ECOG



**Gráfica 1:** Distribución de ECOG.

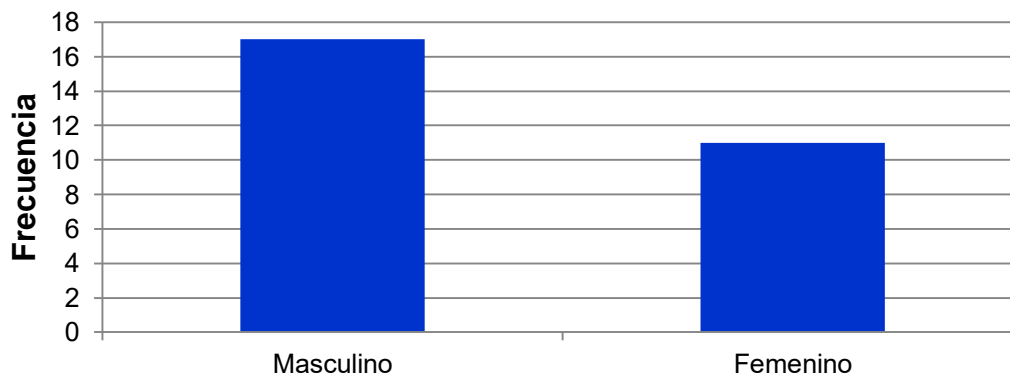
Los pacientes con ECOG de 0, el 50.0% (1) fue respondedor, y el 50.0%(1) fue refractario; los pacientes con ECOG de 1, el 50.0%(13) fueron respondedores, y el 50.0%(13) refractario, valor de  $p= 1.0$  (Tabla 1).

Respuesta	ECOG		
	0	1	Total
Respondedores	1 50.0%	13 50.0%	14 50.0%
Refractarios	1 50.0%	13 50.0%	14 50.0%
<b>Total</b>	2 100.0%	26 100.0%	28 100.0%

**Tabla 1:** Comparación de Respuesta y ECOG.

Los pacientes Masculinos representaron el 60.7%(17), y los pacientes Femeninos representaron el 39.3%(11), (Gráfica 2).

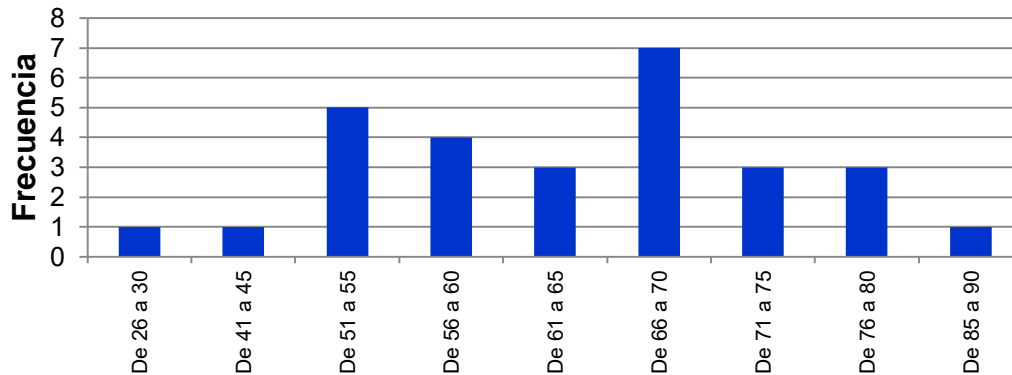
### Genero



**Gráfica 2:** Distribución de género.

Las edades de los pacientes ingresados en el estudio mostró una media de edad de 63.32 años, con un mínimo de edad de 29 y un máximo de 87 años, desviación estándar de 11.95. Los datos son asimétricos, ya que los valores muestran desviación hacia los datos menores de la media, lo que se concluye que no se comporta como una curva normal. Los pacientes con edad de 26 a 30 años representaron el 3.6% (1), los pacientes con edad de 41 a 45 años representaron el 3.6% (1), los pacientes con edad de 51 a 55 años representaron el 17.9% (5), los pacientes con edad de 56 a 60 años el 14.3% (4), los pacientes con edad de 61 a 65 años representaron el 10.7% (3), los pacientes con edad de 66 a 70 años representaron el 25.0% (7), los pacientes con edad de 71 a 75 años representaron el 10.7% (3), los pacientes con edad de 76 a 80 años representaron el 10.7% (3), y los pacientes con edad de 85 a 90 años representaron el 3.6% (1), (Gráfica 3).

### Edad en quinquenio



**Gráfica 3:** Distribución de edad en quinquenio.

Los pacientes Masculinos, el 47.1%(8) fueron del grupo de respondedores, y el 52.9%(9) refractarios; los pacientes Femeninos, el 54.5%(6) fueron respondedores, y el 45.5%(5) para refractarios, valor de  $p= 0.500$  (Tabla 2).

Respuesta	Género		
	Masculino	Femenino	Total
Respondedores	8 47.1%	6 54.5%	14 50.0%
Refractarios	9 52.9%	5 45.5%	14 50.0%
<b>Total</b>	17 100.0%	11 100.0%	28 100.0%

**Tabla 2:** Comparación de respuesta y Género.

Los pacientes con edad en quinquenio de 26 a 30 años, el 100.0%(1) fueron respondedores; los pacientes con edad en quinquenio de 41 a 45 años, el 100.0%(1) fueron refractarios; los pacientes con edad en quinquenio de 51 a 55 años, el 40.0%(2) fueron respondedores, y el 60.0%(3) refractarios; los pacientes con edad en quinquenio de 56 a 60 años, el 100.0%(4) fueron refractarios; los pacientes con edad en quinquenio de 61 a 65 años, el 66.7%(2) fueron para respondedores, y el 33.3%(1) refractarios; los pacientes con edad en quinquenio de 66 a 70 años, el 57.1%(4) fueron para Respondedores, y el 42.9%(3) para Refractarios; los pacientes con edad en quinquenio de 71 a 75 años, el 100.0%(3) fueron para Respondedores; los pacientes con edad en quinquenio de 76 a 80 años, el 33.3%(1) fueron para Respondedores, y el 66.7%(2) para Refractarios; los pacientes con edad en quinquenio de 85 a 90, el 100.0%(1) fueron para Respondedores, valor de  $p= 0.201$  (Tabla 3).

Respuesta	Edad en quinquenio									Total
	De 26 a 30	De 41 a 45	De 51 a 55	De 56 a 60	De 61 a 65	De 66 a 70	De 71 a 75	De 76 a 80	De 85 a 90	
Respondedores	1 100.0%	0 0.0%	2 40.0%	0 0.0%	2 66.7%	4 57.1%	3 100.0%	1 33.3%	1 100.0%	14 50.0%

<b>Refractarios</b>	0 0.0%	1 100.0%	3 60.0%	4 100.0%	1 33.3%	3 42.9%	0 0.0%	2 66.7%	0 0.0%	14 50.0%
<b>Total</b>	1 100.0%	1 100.0%	5 100.0%	4 100.0%	3 100.0%	7 100.0%	3 100.0%	3 100.0%	1 100.0%	28 100.0%

**Tabla 3:** Comparación de respuesta y edad en quinquenios.

Los pacientes con 60 años y menos, el 27.3%(3) fueron respondedores, y el 72.7%(8) refractarios; los pacientes con más de 60 años, el 64.7%(11) fueron respondedores, y el 35.3%(6) refractarios, valor de  $p=0.060$  (Tabla 4).

Respuesta	Edad		
	60 años y menos	Más de 60 años	Total
<b>Respondedores</b>	3 27.3%	11 64.7%	14 50.0%
<b>Refractarios</b>	8 72.7%	6 35.3%	14 50.0%
<b>Total</b>	11 100.0%	17 100.0%	28 100.0%

**Tabla 4:** Comparación respuesta y edad a 60 años.

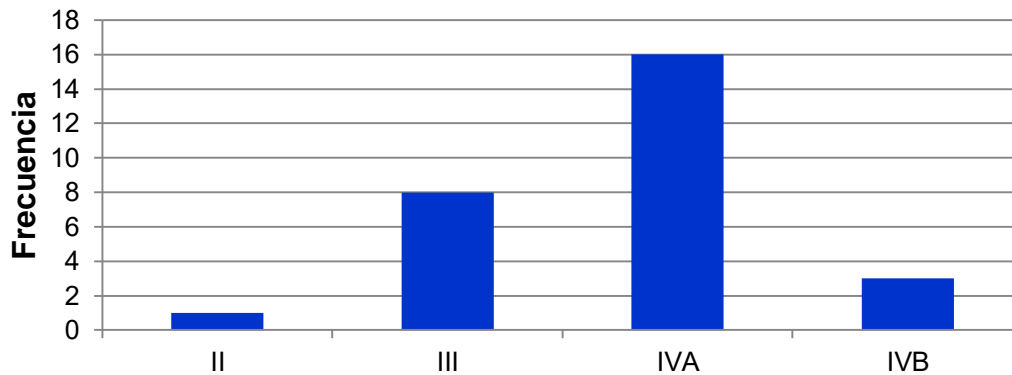
Los pacientes con Estado Clínico II representaron el 3.6%(1), los pacientes con Estado Clínico III representaron el 28.6%(8), los pacientes con Estado Clínico IVA representaron el 57.1%(16), y los pacientes con Estado Clínico IVB representaron el 10.7%(3), (Gráfica 4).

Los pacientes con Estado Clínico de II, el 100.0%(1) fueron refractarios; los pacientes con Estado Clínico de III, el 50.0%(4) fueron respondedores, y el 50.0%(4) refractarios; los pacientes con Estado Clínico de IVA, el 56.3%(9) fueron respondedores, y el 43.8%(7) refractarios; los pacientes con Estado Clínico de IVB, el 33.3%(1) fueron respondedores, y el 66.7%(2) refractarios, valor de  $p=0.663$  (Tabla 5).

Respuesta	Estado Clínico				
	II	III	IVA	IVB	Total
<b>Respondedores</b>	0 0.0%	4 50.0%	9 56.3%	1 33.3%	14 50.0%
<b>Refractarios</b>	1 100.0%	4 50.0%	7 43.8%	2 66.7%	14 50.0%
<b>Total</b>	1 100.0%	8 100.0%	16 100.0%	3 100.0%	28 100.0%

**Tabla 5:** Comparación de respuesta y estado clínico.

### Estado Clínico



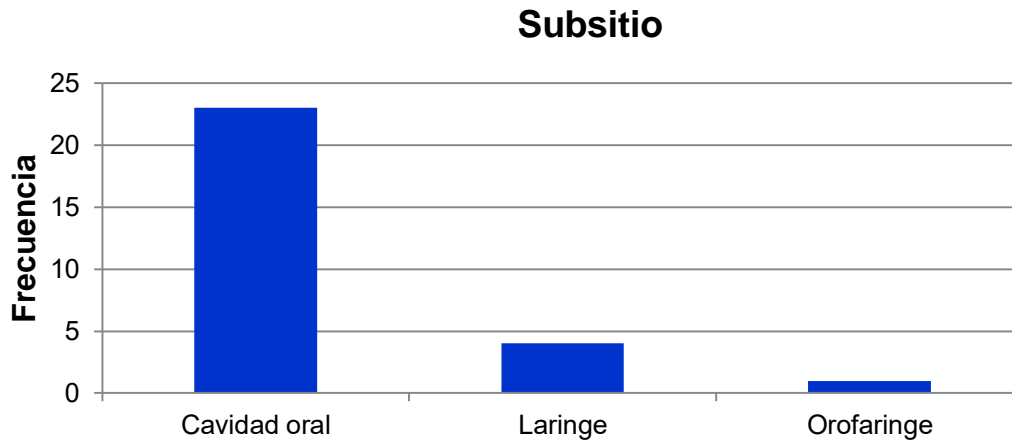
**Gráfica 4:** Distribución de estado clínico.

Los pacientes con subsitio en cavidad oral representaron el 82.1%(23), los pacientes con subsitio en Laringe representaron el 14.3%(4), y los pacientes con subsitio en Orofaringe representaron el 3.6% (1), (Gráfica 5).

Los pacientes con Subsitio en Cavidad oral, el 52.2%(12) fueron respondedores, y el 47.8%(11) refractarios; los pacientes con Subsitio en Laringe, el 50.0%(2) fueron respondedores, y el 50.0%(2) refractarios; los pacientes con Subsitio en Orofaringe, el 100.0%(1) fueron refractarios, valor de p= 0.593 (Tabla 6).

Respuesta	Subsitio			
	Cavidad oral	Laringe	Orofaringe	Total
<b>Respondedores</b>	12 52.2%	2 50.0%	0 0.0%	14 50.0%
<b>Refractarios</b>	11 47.8%	2 50.0%	1 100.0%	14 50.0%
<b>Total</b>	23 100.0%	4 100.0%	1 100.0%	28 100.0%

**Tabla 6:** Comparación de respuesta y subsitio.



**Gráfica 5:** Distribución de subsitio.

Los pacientes con antecedente de Tabaquismo representaron el 50.0% (14), (Gráfica 6), el 42.9%(6) fueron respondedores, y el 57.1%(8) refractarios; los pacientes sin antecedente de Tabaquismo, el 57.1%(8) fueron respondedores, y el 42.9%(6) refractarios, valor de  $p= 0.450$  (Tabla 7).

Respuesta	Tabaquismo		
	Sí	No	Total
Respondedores	6 42.9%	8 57.1%	14 50.0%
Refractarios	8 57.1%	6 42.9%	14 50.0%
<b>Total</b>	14 100.0%	14 100.0%	28 100.0%

**Tabla 7:** Comparación respuesta y tabaquismo.



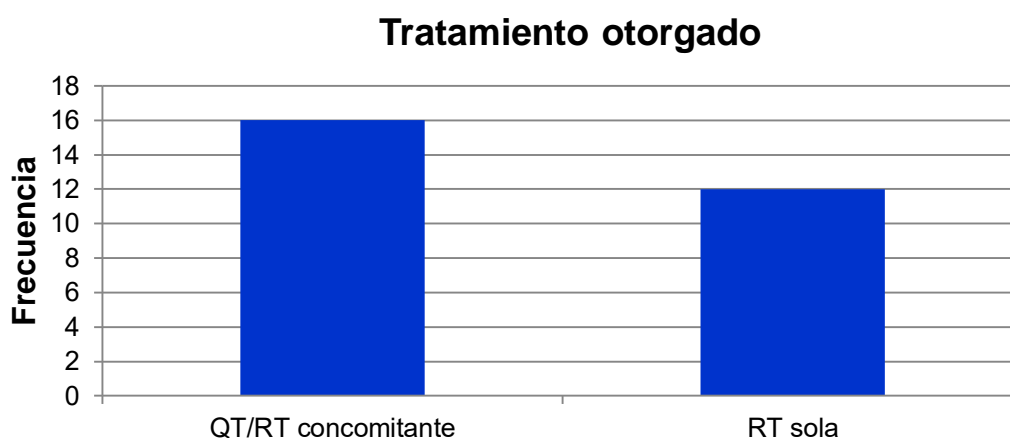
**Gráfica 6:** Distribución de Tabaquismo.

Los pacientes con quimio radioterapia concomitante representaron el 57.1%(16), y los pacientes con radioterapia representaron el 42.9%(12), (Gráfica 7).

En los pacientes con quimio radioterapia concomitante, el 56.3%(9) fueron respondedores, y el 43.8%(7) refractarios; los pacientes con radioterapia sola, el 41.7%(5) fueron respondedores, y el 58.3%(7) refractarios, valor de  $p= 0.445$  (Tabla 8).

Respuesta	Tratamiento otorgado		
	QT/RT concomitante	RT sola	Total
Respondedores	9 56.3%	5 41.7%	14 50.0%
Refractarios	7 43.8%	7 58.3%	14 50.0%
Total	16 100.0%	12 100.0%	28 100.0%

**Tabla 8:** Comparación de respuesta y Tratamiento otorgado.



**Gráfica 7:** Distribución de Tratamiento.

Los pacientes con tumores bien diferenciados representaron el 3.6%(1), los pacientes con tumores moderadamente diferenciados representaron el 85.7%(24), y los pacientes con tumores poco diferenciados representaron el 10.7%(3), (Gráfica 8). Los pacientes con tumores bien diferenciados, el 100.0%(1) fueron respondedores; los pacientes con Grado de diferenciación moderado, el 50.0%(12) fueron respondedores, y el 50.0%(12) refractarios; los pacientes con tumores poco diferenciados, el 33.3%(1) fueron respondedores, y el 66.7%(2) refractarios, valor de  $p= 0.513$  (Tabla 9).

Respuesta	Grado de diferenciación			
	Bien diferenciado	Moderado	Poco diferenciado	Total
Respondedores	1 100.0%	12 50.0%	1 33.3%	14 50.0%
Refractarios	0 0.0%	12 50.0%	2 66.7%	14 50.0%
Total	1 100.0%	24 100.0%	3 100.0%	28 100.0%

**Tabla 9:** Comparación respuesta y grado de diferenciación.



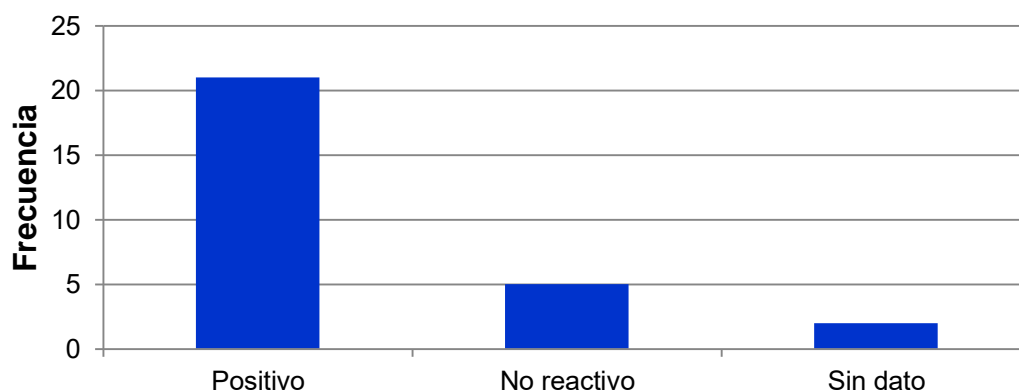
Los pacientes con positividad a HOX B13 representaron el 75.0%(21), los pacientes negativos a HOX B13 representaron el 17.9%(5), en 2 pacientes (7.1%) no se pudo realizar la prueba por insuficiencia de muestra (Gráfica 8).

Los pacientes con positividad a HOX B13, el 52.4%(11) fueron respondedores, y el 47.6%(10) refractarios; en los pacientes negativos a HOX B13, el 20.0%(1) fueron respondedores, y el 80.0%(4) refractarios, valor de  $p=0.146$  (Tabla 10).

Respuesta	HOX B13			Total
	Positivo	Negativo	Sin dato	
Respondedores	11 52.4%	1 20.0%	2 100.0%	14 50.0%
Refractarios	10 47.6%	4 80.0%	0 0.0%	14 50.0%
Total	21 100.0%	5 100.0%	2 100.0%	28 100.0%

**Tabla 10:** Comparación de respuesta y HOX B13.

### HOX B13

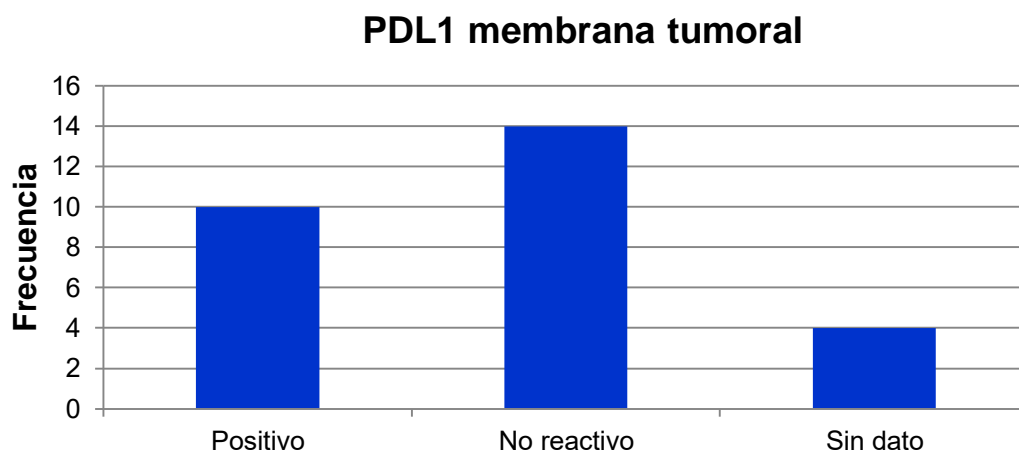


**Gráfica 8:** Distribución de HOX B13.

Los pacientes con positividad a PDL1 en membrana tumoral representaron el 35.7%(10), los pacientes no reactivos a PDL1 en membrana tumoral representaron el 50.0%(14), en 4 pacientes 14.3% no se pudo realizar la prueba por insuficiencia de muestra (Gráfica 9). De los pacientes positivos a PDL1 en membrana tumoral, el 50.0%(5) fueron respondedores, y el 50.0%(5) refractarios; los pacientes no reactivos a PDL1, el 50.0%(7) fueron respondedores, y el 50.0%(7) refractarios, valor de  $p=1.0$  (Tabla 10).

Respuesta	PDL1 membrana tumoral			Total
	Positivo	Negativo	Sin dato	
Respondedores	5 50.0%	7 50.0%	2 50.0%	14 50.0%
Refractarios	5 50.0%	7 50.0%	2 50.0%	14 50.0%
Total	10 100.0%	14 100.0%	4 100.0%	28 100.0%

**Tabla 10:** Comparación de respuesta y PDL1.

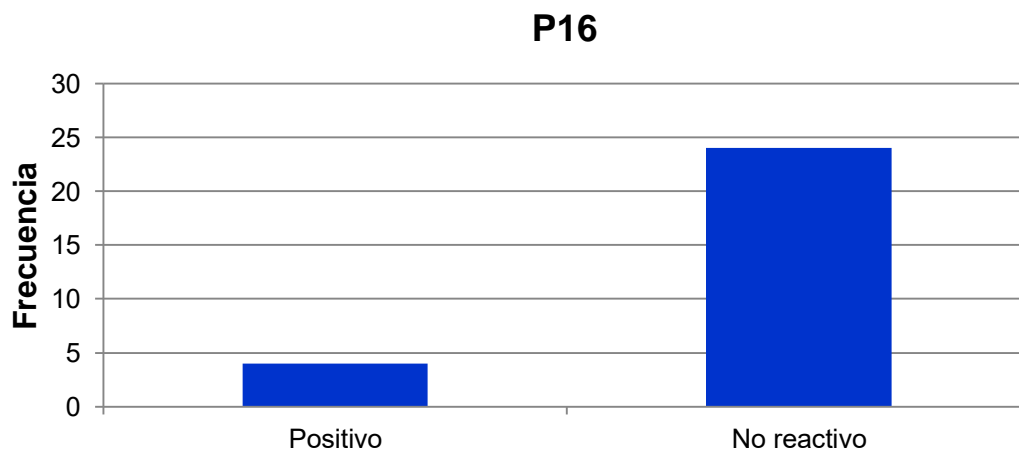


**Gráfica 9:** Distribución de PDL 1.

Los pacientes con positividad a P16 representaron el 14.3%(4), y los pacientes negativos a P16 representaron el 85.7%(24), (Gráfica 10). En los pacientes positivos a P16, el 25.0%(1) fue respondedor, y el 75.0%(3) refractario; los pacientes negativos a P16, el 54.2%(13) fueron respondedores, y el 45.8%(11) refractarios, valor de  $p= 0.280$  (Tabla 11).

Respuesta	P16		
	Positivo	Negativo	Total
Respondedores	1 25.0%	13 54.2%	14 50.0%
Refractarios	3 75.0%	11 45.8%	14 50.0%
<b>Total</b>	4 100.0%	24 100.0%	28 100.0%

**Tabla 11:** Comparación de respuesta y P16.



**Gráfica 10:** Distribución de P16.

Cuando analizamos a los pacientes respondedores, aquellos con tratamiento de quimio radioterapia concomitante, el 77.8%(7) fueron para positivos a HOX B13, y el 0.0%(0) negativos a HOX B13; los pacientes con tratamiento de radioterapia sin concomitancia, el 80.0%(4) fueron para positivos a HOX B13, y el 20.0%(1) no reactivos a HOX B13, valor de  $p= 0.274$  (Tabla 12).

<b>Respondedores</b>			
<b>HOX B13</b>	<b>Tratamiento otorgado</b>		
	<b>QT/RT concomitante</b>	<b>RT sola</b>	<b>Total</b>
<b>Positivo</b>	7 77.8%	4 80.0%	11 78.6%
<b>Negativo</b>	0 0.0%	1 20.0%	1 7.1%
<b>Sin dato</b>	2 22.2%	0 0.0%	2 14.3%
<b>Total</b>	9 100.0%	5 100.0%	14 100.0%

**Tabla 12:** Comparación de tratamiento otorgado y HOX B13, en pacientes respondedores.

En los pacientes refractarios, aquellos con tratamiento de quimio radioterapia concomitante, el 57.1%(4) fueron positivos a HOX B13, y el 42.9%(3) negativos a HOX B13; los pacientes con tratamiento de radioterapia sin concomitancia, el 85.7%(6) fueron positivos a HOX B13, y el 14.3%(1) no reactivos a HOX B13, valor de  $p= 0.237$  (Tabla 13).

<b>Refractarios</b>			
<b>HOX B13</b>	<b>Tratamiento otorgado</b>		
	<b>QT/RT concomitante</b>	<b>RT sola</b>	<b>Total</b>
<b>Positivo</b>	4 57.1%	6 85.7%	10 71.4%
<b>Negativo</b>	3 42.9%	1 14.3%	4 28.6%
<b>Total</b>	7 100.0%	7 100.0%	14 100.0%

**Tabla 13:** Comparación de tratamiento otorgado y HOX B13, en pacientes refractarios.

En pacientes Respondedores, con QT/RT concomitante, el 33.3%(3) fueron positivos a PDL1, y el 44.4%(4) no reactivos a PDL1; los pacientes con RT sola, el 40.0%(2) fueron positivos a PDL1, y el 60.0%(3) no reactivos a PDL1, valor de  $p= 0.520$  (Tabla 14).

<b>Respondedores</b>			
<b>PDL1 membrana tumoral</b>	<b>Tratamiento otorgado</b>		
	<b>QT/RT concomitante</b>	<b>RT sola</b>	<b>Total</b>
<b>Positivo</b>	3 33.3%	2 40.0%	5 35.7%
<b>Negativo</b>	4 44.4%	3 60.0%	7 50.0%
<b>Sin dato</b>	2 22.2%	0 0.0%	2 14.3%

<b>Total</b>	9 100.0%	5 100.0%	14 100.0%
--------------	-------------	-------------	--------------

**Tabla 14:** Comparación de tratamiento otorgado y PDL1, en pacientes respondedores.

En los pacientes refractarios, aquellos con tratamiento de quimio radioterapia concomitante, el 28.6%(2) fueron positivos a PDL1, y el 57.1%(4) negativos a PDL1; los pacientes con radioterapia sola, el 42.9%(3) fueron positivos a PDL1, y el 42.9%(3) negativos a PDL1, valor de  $p= 0.842$  (Tabla 15).

<b>Refractarios</b>			
<b>PDL1 membrana tumoral</b>	<b>Tratamiento otorgado</b>		
	<b>QT/RT concomitante</b>	<b>RT sola</b>	<b>Total</b>
<b>Positivo</b>	2 28.6%	3 42.9%	5 35.7%
<b>No reactivo</b>	4 57.1%	3 42.9%	7 50.0%
<b>Sin dato</b>	1 14.3%	1 14.3%	2 14.3%
<b>Total</b>	7 100.0%	7 100.0%	14 100.0%

**Tabla 15:** Comparación de tratamiento otorgado y PDL1, en pacientes refractarios.

En los pacientes respondedores, con tratamiento de quimio radioterapia concomitante, el 11.1%(1) fueron positivos a P16, y el 88.9%(8) negativos a P16; los pacientes con radioterapia sola, el 100.0%(5) fueron no reactivos, valor de  $p= 0.439$  (Tabla 16).

<b>Respondedores</b>			
<b>P16</b>	<b>Tratamiento otorgado</b>		
	<b>QT/RT concomitante</b>	<b>RT sola</b>	<b>Total</b>
<b>Positivo</b>	1 11.1%	0 0.0%	1 7.1%
<b>Negativo</b>	8 88.9%	5 100.0%	13 92.9%
<b>Total</b>	9 100.0%	5 100.0%	14 100.0%

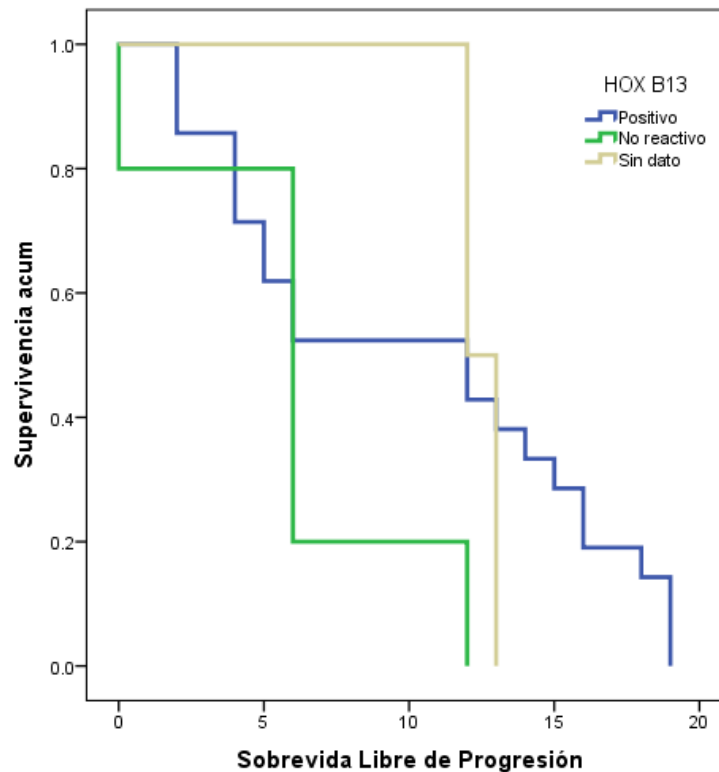
**Tabla 16:** Comparación de tratamiento otorgado y P16, en pacientes respondedores.

En los pacientes refractarios con tratamiento de quimio radioterapia concomitante, el 28.6%(2) fueron positivos a P16, y el 71.4%(5) negativos a P16; los pacientes con radioterapia sin concomitancia, el 14.3%(1) fueron positivos a P16, y el 85.7%(6) negativos a P16, valor de  $p= 0.515$  (Tabla 17).

Refractarios			
P16	Tratamiento otorgado		
	QT/RT concomitante	RT sola	Total
Positivo	2 28.6%	1 14.3%	3 21.4%
Negativo	5 71.4%	6 85.7%	11 78.6%
Total	7 100.0%	7 100.0%	14 100.0%

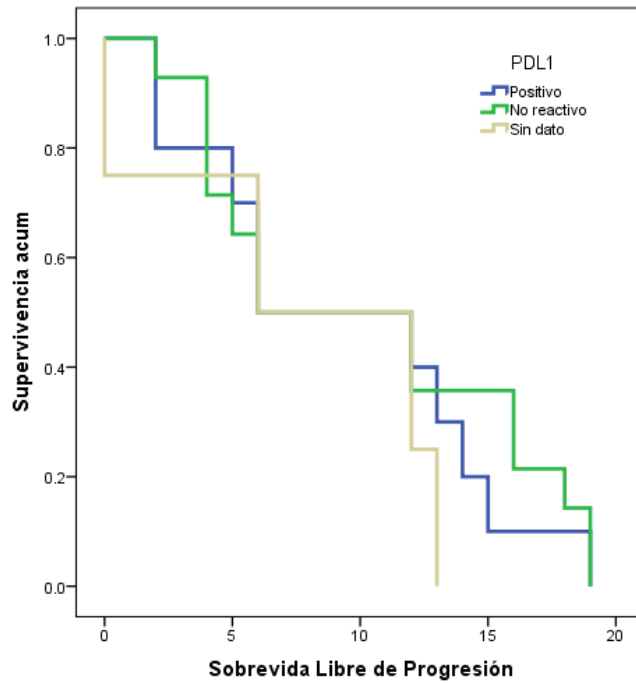
**Tabla 17:** Comparación de tratamiento otorgado y P16, en pacientes refractarios.

Se analizó la SLP con el método de Kaplan Meier, en donde se observó que los pacientes con HOX B13 presentaron mayor permanencia de sobrevida, valor de  $p = 0.311$  (Gráfica 11).

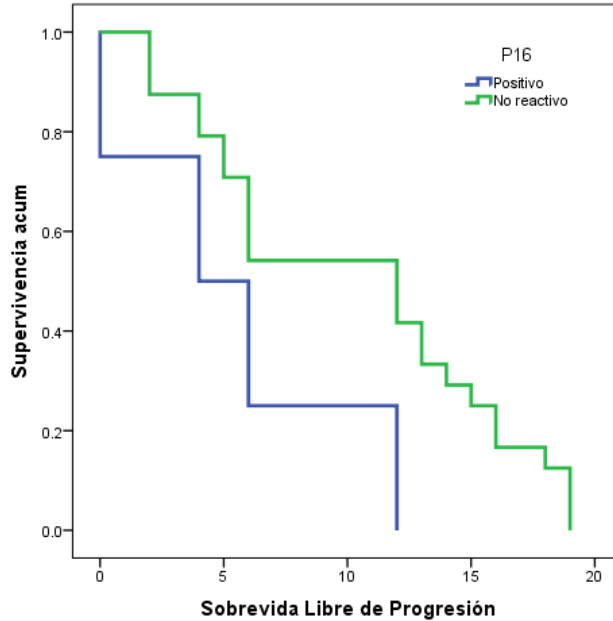


**Gráfica 11:** Sobrevida libre de progresión en pacientes con HOX B13.

El análisis de SLP en pacientes con PDL1, se observa que los pacientes no reactivos tuvieron mayor tiempo de sobrevida.  $P = 0.582$  (Gráfico 12).

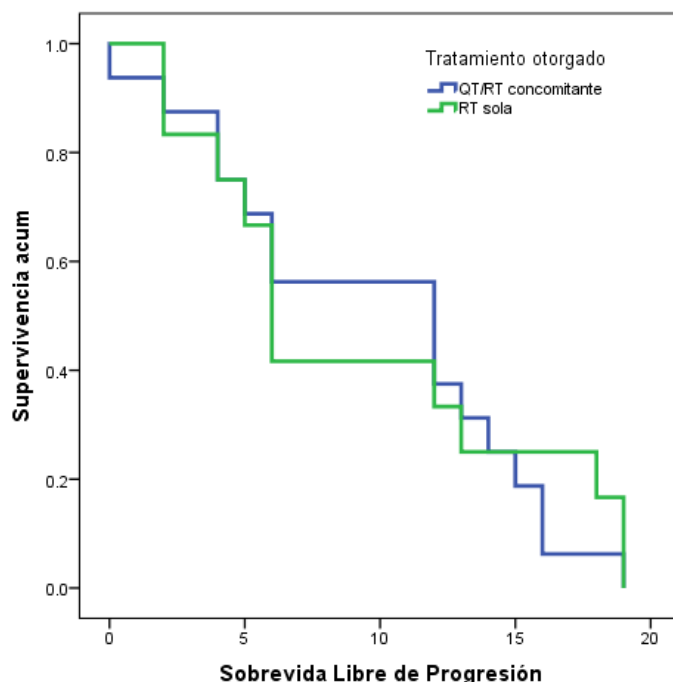


**Gráfica 12:** Sobrevida libre de progresión en pacientes con PDL1 positivo. El análisis de SLP en pacientes con P16, se observa que los pacientes no reactivos tuvieron mayor permanencia en sobrevida. P= 0.073 (Gráfico 13).



**Gráfica 13:** Sobrevida libre de progresión en pacientes con P16 positivo.

El análisis de SLP se observa que los pacientes con quimioterapia y radioterapia concomitante tuvieron mayor permanencia en sobrevida. P= 0.740 (Gráfico 13).



**Gráfica 14:** Sobrevida libre de progresión en pacientes y tratamiento otorgado.

## DISCUSIÓN

A nivel mundial, los tumores de cabeza y cuello son la 7ma causa de cáncer y la 9va de mortalidad, en nuestro país representan 17.3% de los cánceres diagnosticados. La primera causa de muerte a la recurrencia es la falla locorregional.

En este estudio, encontramos en un 17% de pacientes refractarios al tratamiento primario (recurrencia locorregional o a distancia en los primeros 6 meses) que concuerda con lo descrito en literaturas previas (20% y hasta 50% recurrencia a 5 años en tumores localmente avanzado) <sup>(76)</sup>.

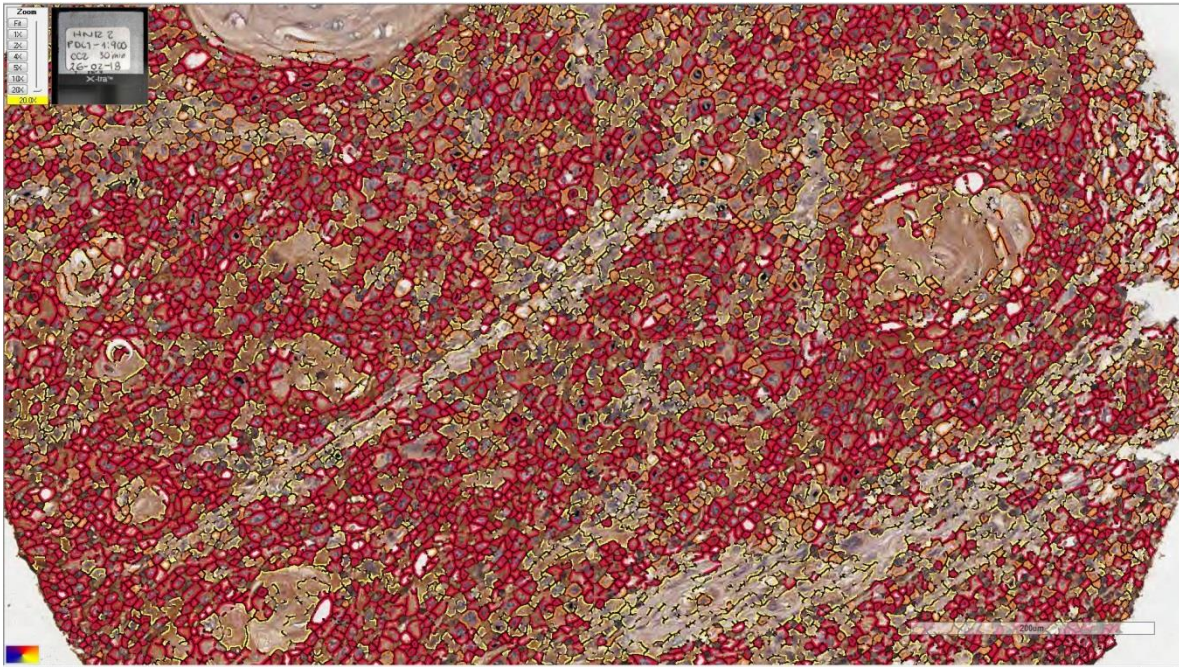
La edad promedio de los pacientes fue de 63 años, predominantemente en varones y enfermedad localmente avanzada, coincidente con lo reportado por SEER en el año de 2017 <sup>(77)</sup>.

En nuestra población no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la expresión de p16, PDL-1 o HOXB7 entre el grupo de pacientes refractarios y control.

Esto pudiera ser subsecuente de la poca cantidad de muestra de pacientes (28 totales) lo que representa un sesgo y no necesariamente descartar la posibilidad, ya que se tiene evidencia que la expresión de p16 se relaciona con buena respuesta al tratamiento de radioterapia en estudios previos con RTOG 0123 o ECOG E3311, intentándose incluso protocolos de desescalación de dosis de radioterapia y suspensión o cambio de cisplatino por cetuximab debido a las toxicidades a largo plazo.

Previamente, un estudio de Skinner <sup>(51)</sup> en líneas celulares de tumores de cabeza y cuello negativos a p16 resistentes a radioterapia encontró relación entre la expresión de PDL-1 en las células tumorales y dicha resistencia, dependiente de la vía PI3K; siendo este el único estudio que sugiera

dicha relación. En caso de nuestro estudio se tomó como positivo un valor mayor al 50% en membrana celular (imagen 1), como en el estudio KEYNOTE-001/010 (cáncer de pulmón de células no pequeñas) ya que todas las muestras tenían al menos 2% de expresión.



**Figura 1. Tinción PDL-1 en membrana celular**

#### HOX B13

En este estudio no se pudo relacionar su expresión con enfermedad refractaria en tumores de cabeza y cuello, aunque en un estudio previo se había asociado la expresión de HOXB13 a pobre pronóstico en tumores de cavidad oral en pacientes bajo tratamiento con quimio radioterapia. <sup>(78)</sup>

La mutación de este gen se encuentra relacionada a cáncer de próstata hereditario, encontrándose mutado en 5% de pacientes de una cohorte europea. <sup>(79)</sup>

Se ha ligado la expresión de la proteína HOX B7 con resistencia a quimioradioterapia, sin embargo no es un biomarcador utilizado actualmente. Otras proteínas HOX estudiadas en estos tumores son: HOXD10 asociada a proliferación y migración, HOX C6 asociada a metástasis ganglionares, HOX B8 asociada a proliferación y migración. <sup>(80)</sup>

#### HOX D4

Aunque se realizó la tinción de HOX D4, no hizo reacción con ninguna de las muestras de tumores de cabeza y cuello, esto pudo ser secundario a falla en la estandarización del anticuerpo utilizado o que el uso de la clona NBP2-4963 que no se ha reportado previamente en tumores de cabeza y cuello y no conocemos su utilidad en dichos tumores.



En otras neoplasias como cáncer cervicouterino su expresión se ha asociado a mala respuesta al tratamiento con quimio radioterapia. <sup>(50)</sup>

## CONCLUSIONES

Aunque es un estudio negativo, tiene el sesgo importante de poca muestra estadística, así como la tinción de PDL-1 en membrana celular sin diferenciar entre células infiltrantes y tumor; asimismo la clona utilizada en este protocolo aún no se encuentra validada para uso clínico, por lo que con los estudios actuales no se puede descartar el posible uso de biomarcadores como HOX o PDL-1 para predecir la respuesta a quimio radioterapia o radioterapia en pacientes con tumores de cabeza y cuello. Los datos epidemiológicos de los pacientes de nuestro hospital concuerdan con lo reportado en la literatura americana.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, et al. Global, Regional and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2017; 3(4):524-48.
- 2.- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017; 67:7-30.
- 3.- Bray F, Ren JS, Masuyer E, et al. Global Estimates of Cancer Prevalence for 27 sites in the Adult Population in 2008. *Int J Cancer* 2013; 132(5): 1133–45.
- 4.- Lambert R, Sauvaget C, de Camargo-Cancela M, et al. Epidemiology of Cancer from the Oral Cavity and Oropharynx. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23(8):633-41.
- 5.- DGE. SSA, Registro Histopatológico de las Neoplasias en México, 2002.
- 6.- Globocan 2012. IARC
- 7.-Martinez-Sanchez YL, Escudero-de los Ríos PM, Ariás-Flores R, et al. Epidemiología del Cáncer en Pacientes Adultos del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. *Cir Cir* 2013; 81:508-16.
- 8.- Goldenberg D, Lee J, Koch VM, et al. Habitual Risk Factors for Head and Neck Cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 131(6): 986-93
- 9.- Lee CH, Ko YC, Huang HL, et al. The Precancer Risk of Betel Quid Chewing, Tobacco use and Alcohol consumption in Oral Leukoplakia and Oral Submucous Fibrosis in Southern Taiwan. *Br J Cancer* 2003; 88(3): 366 -72.
- 10.- Head and Neck Cancers. NCCN 2017 Version 1.2017
- 11.- Lassen P, Eriksen JG, Hamilton-Dutoit S, et al. Effect of HPV-associated p16INK4A Expression on Response to Radiotherapy and Survival in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *J Clin Oncol* 2009; 27(12): 1992 – 8
- 12.- DeVita Jr VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. *Cancer Principles and Practice of Oncology*. 10<sup>th</sup> Edition. Walters Kluwer Health, Philadelphia 2011, p. 681-691

- 13.- Araid MB. Part II Head and Neck: AJCC Staging Manual. Springer, New York 2017, p. 53
- 14.- Stelow EB, Jo VY, Stoler MH, et al. Human Papillomavirus-associated Squamous Cell Carcinoma of the Upper Aerodigestive Tract. *Am J Surg Pathol* 2010; 34(7): 15-24
- 15.- Gallegos-Hernández JF, Paredes-Hernández E, Flores-Díaz R, et al. Virus del Papiloma Humano Asociado con Cáncer de Cabeza y Cuello. *Cir Ciruj* 2007; 75:151 – 55
- 16.- Schlect NF, Brandwein-Gensler M, Nuovo GJ, et al. A Comparison of Clinically Utilized Human Papillomavirus Detection Methods in Head and Neck Cancer. *Mod Pathol* 2011; 24(10): 1295 – 305
- 17.- Addante RR, McKenna SJ. Verrucous Carcinoma. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2006; 18(4): 513
- 18.- Szentirmay Z, Polus K, Tamas L, et al. Human Papillomavirus in Head and Neck Cancer: Molecular Biology and Clinicopathological Correlations. *Cancer Metastasis Rev* 2005; 24(1): 19
- 19.- Orvidas LJ, Olsen KD, Lewis JE, et al. Verrucous Carcinoma of the Larynx: A Review of 53 patients. *Head Neck* 1998; 20(3):197
- 20.- Fakhry C, Westra WH, Li S, et al. Improved Survival of Patients with Human Papillomavirus-positive Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in a Prospective Clinical Trial. *J Natl cancer Inst* 2008; 100(4): 261
- 21.- Thariat J, Ahamad A, El-Naggar AK, et al. Outcomes after Radiotherapy for Basaloid Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: A Case-Control Study. *Cancer* 2008; 112(12): 2698.
- 22.- Spector ME, Wilson Kf, Light E, et al. Clinical and Pathological Predictors of Recurrence and Survival in Spindle Cell Squamous Cell Carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 145(2): 242.
- 23.- Lopez-Saavedra A, Lizano-Soberon M. Cáncer Cervicouterino y el Virus del Papiloma Humano: La Historia que no termina. *Cancerología* 2006; 1: 31-55
- 24.- Poeta ML, Manola J, Goldwasser MA, et al. TP53 Mutations and Survival in Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med* 2007; 357(2): 2533-61
- 25.- Pai SI, Westra WH. Molecular Pathology of Head and Neck Cancer: Implications for Diagnosis, Prognosis and Treatment. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2009; 4:49-70.
- 26.- The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive Genomic Characterization of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Nature* 2015; 517: 576 – 82
- 27.- Forastiere A, Koch W, Trotti A, et al. Head and Neck Cancer. *N Engl J Med* 2001; 345(26): 1890-900.
- 28.- Wang JW, Roden RB. L2, The Minor Capsid Protein of Papillomavirus. *Virology* 2013; 445(1-2): 175-86.
- 29.- Reed AL, Califano J, Cairns P, et al. High Frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) Inactivation in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Res* 2006; 56(16): 3630-3.
- 30.- Weber M, Hellman I, Stadler MB, et al. Distribution, Silencing Potential and Evolutionary Impact of Promoter DNA Methylation in the Human Genome. *Nat Genet* 2007; 39 (4): 457 - 66

- 31.- Mascolo M, Siano M, Ilardi G, et al. Epigenetic Disregulation in Oral Cancer. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 2331-53
- 32.- Antequera F, Boyes J, Bird A. High Levels of De Novo Methylation and Altered Chromatin Structure at CpG Islands in Cell Lines. *Cell* 1990, 62 (3): 510-14
- 33.- Viswanathan M, Tsuchida N, Shanmugam G. Promoter Hypermethylation Profile of Tumour Associated genes p16, p15, hMLH1, MGMT and E-Cadherin in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Int J Cancer* 2003; 105: 41-46
- 34.- Díaz Perez R, Campos-Trapero J, Cano-Sanchez J, et al. A Methylation in Oral Cancer and Pre-Cancerous Lesions. *Oncol Rep* 2011;25:1203-09.
- 35.- Chang Hw, Chow V, Lam KY, et al. Loss of E-Cadherin Expression Resulting from Promoter Hypermethylation in Oral Tongue Carcinoma and its Prognostic Significance. *Cancer* 2002; 94:386-92
- 36.- Lassen P, Eriksen JG, Hamilton S, et al. Effect of HPV-Associated p16 (INK4A) Expression on Response to Radiotherapy and Survival in Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck. *J Clin Oncol* 2009; 27:1992-8
- 37.- Rischin D, Young RJ, Fisher R, et al. Prognostic Significance of p16 (INK4A) and Human Papillomavirus in Patients with Oropharyngeal Cancer Treated on TROG 02.02 Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4142 – 48
- 38.- Nakayama S, Sasaki A, Meses H, et al. The E-Cadherin Gene is Silenced by CpG Methylation in Human Oral Squamous Cell Carcinomas. *Int J Cancer* 2001; 93: 667 – 73
- 39.- Kurasawa Y, Shiiba M, Nakamura M, et al. PTEN Expression and Methylation Status in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oncol Rep* 2008: 19: 1429 – 34.
- 40.- Cheek CF, Verma CS, Baselga J, et al. Translating p53 into the Clinic. *Nature Rev Clin Oncol* 2011; 8: 25 – 37.
- 41.- Sánchez-Céspedes M, Esteller M, Wu, L, et al. Gene Promoter Hypermethylation in Tumors and Serum of Head and Neck Cancer Patients. *Cancer Res* 2000: 60: 982-95
- 42.- Sawhney M, Rohatgi N, Kaur J, et al. MGMT Expression in Oral Precancerous and Cancerous Lesions: Correlation with Progression, Nodal Metastasis and Poor Prognosis. *Oral Oncol* 2007; 43: 515-22
- 43.- Youssef EM, Lotan D, Issa J, et al. Hypermethylation of the Retinoic Acid Receptor B2 Gene in Head and Neck Carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1733 – 42
- 44.- Imai T, Toyota M, Suzuki H, et al. Epigenetic Inactivation of RASSF2 in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 958 – 66
- 45.- Yuang W, Zhang X, Xu Y, et al. Role of HOXB7 in Regulation of Progression and Metastasis of Human Lung Adenocarcinoma. *Mol Carcinog* 2014; 53(1):49-57.
- 46.- Lappin TR, Grier DG, Thompson A, et al. HOX genes: Seductive Science, Mysterious Mechanisms. *Ulster Med J* 2006;75(1):23-31
- 47.- Tschopp P, Fraudeau N, Bena F, et al. Reshuffling Genomic Landscapes to Study the Regulatory Evolution of HOX gene Clusters. *PNA* 2011; 108: 10632 – 37

- 48.- Kimple RJ, Harari PM. Is Radiation Dose Reduction the Right Answer for HPV- Positive Head and Neck Cancer?. *Oral Oncology* 2014; 50: 560-64.
- 49.- Britten RA, Tessier DL, Hutchison MJ, et al. ERRC1 Expression as a Molecular Marker of Cisplatin Resistance in Human Cervical Tumor Cells. *Int J Cancer* 2000; 89: 453 – 57
- 50.- Langer CJ. Exploring Biomarkers in Head and Neck Cancer. *Cancer* 2012; 118: 3882-92
- 51.- Skinner HD, Giri U, Yang LP, et al. Integrative Analysis Identifies a Novel AXL-PI3 kinase –PDL-1 Signaling Axis Associated with Radiation Resistance in Head and Neck Cancer. *Clin Cancer Res* 2017; 1-10.
- 52.- Vokes EE, Agrawal N, Seiwert TY. HPV-Associated Head and Neck Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(12): 344
- 53.- O Sullivan, Huang B, Su J, et al. Development and Validation of a Staging System for HPV-related Oropharyngeal Cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal Cancer Network Staging (ICON-S): A Multicentre Cohort Study. *Lancet Oncol* 2016; 17(4):440.
- 54.- Kreimer Ar, Johansson M, Waterboer T, et al. Evaluation of Human Papillomavirus Antibodies and Risk of Subsequent Head and Neck Cancer. *J Clin Oncol* 2013;3(21): 2708
- 55.- Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, et al. Epidemiology of HPV Infection among Mexican Woman with Normal Cervical Cytology. *Int J Cancer* 2001; 91(3): 412-20.
- 56.- Vande Pol SB, Klingelhutz AJ. Papillomavirus E6 Oncoproteins. *Virology* 2013; 445(1-2):115-
- 57.- Grandis JR, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGF- $\alpha$  and EGFR Protein in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Patient Survival. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 824-32.
- 58.- Sinha P, Hackmann T, Nussenbaum B, et al. Transoral laser Microsurgery for Oral Squamous Cell Carcinoma: Oncologic Outcomes and Prognostic Factors. *Head Neck* 2014; 36(3): 430-51.
- 59.- Blanchard P, Baujat B, Holostenco V, et al. Met-analysis of Chemotherapy in Head and Neck Cancer (MACH-NC): A Comprehensive Analysis by Tumour Site. *Radiotherapy and Oncology* 2011; 100: 33-40.
- 60.- Vishak S, Rangarajan B, Kakatpure VD. Neoadjuvant Chemotherapy in Oral Cancers: Selecting the Right Patients. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2015; 148 – 53
- 61.- Gallegos-Hernández JF. ¿Cuál es el mejor Esquema de Quimioterapia asociado a Radioterapia en el Cáncer Epidermoide Localmente Avanzado de Cabeza y Cuello? Reflexiones sobre una Sesión Académica. *Gaceta Mexicana de Oncología* 2015; 14(4): 193-95
- 62.- Nguyen-Tan PF, Zhang Q, Ang KK, et al. Randomized Phase III Trial to Test Accelerated Versus Standard Fractionation in Combination with Concurrent Cisplatin for Head and Neck Carcinomas in the Radiation Therapy Oncology Group 0129: Long-Term Report of Efficacy and Toxicity. *J Clin Oncol* 2015; 32(34): 3858-67
- 63.- Marur S, Li S, Cmelak AJ, et al. E1308: Phase II Trial of Induction Chemotherapy Followed by Reduced-Dose Radiation and Weekly Cetuximab in Patients with HPV-Associated Resectable Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx – ECOG-ACRIN Cancer Research Group. *J Clin Oncol* 2017; 35:490-97

- 64.- Pulte D, Brenner H. Changes in Survival in Head and Neck Cancers in the Lates 20<sup>th</sup> and Early 21<sup>st</sup> Century. A Period Analysis. *The Oncologist* 2010; 15:994-1001
- 65.- Kim S, Smith BD, Haffy BG. Prognostic Factors in Patients with Head and Neck Cancer, *General Principles of Management of Head and Neck Cancer*. Harrison Oncology Walters Kluwer Health, Philadephia 2011, p. 87-111
- 66.- Kyrgidis A, Tzellos TG, Triaridis S. Melanoma: Stem Cells, Sun Exposure and Hallmarks for Carcinogenesis, *Molecular Concepts and Future Clinical Implications*. *J Carcinog* 2010; 1: 3.
- 67- Nordsmark M, Eriksen JG, GebSKI V, et al. Differential Risk Assessments from Five Hypoxia Specific Assays: The Basis for Biologically Adapted Individualized Radiotherapy in Advanced Head and Neck Cancer Patients. *Radiother Oncol*. 2007;83(3):389–397.
- 68.- Begg AC. Predicting Recurrence after Radiotherapy in Head and Neck Cancer. *Semin Radiat Oncol*. 2012;22(2):108–118.
- 69.- Alsner J, Sorensen SB, Overgaard J. TP53 Mutation is Related to Poor Prognosis after Radiotherapy, but not surgery, in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Radiother Oncol*. 2001;59(2):179–185.
70. Koch WM, Brennan JA, Zahurak M, et al. p53 Mutation and Locoregional Treatment Failure in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88(21):1580–1586.
71. Eriksen JG, Alsner J, Steiniche T, Overgaard J. The Possible role of TP53 Mutation Status in the Treatment of Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck (HNSCC) with Radiotherapy with Different Overall Treatment Times. *Radiother Oncol*. 2005;76(2):135–142.
72. Csuka O, Remenar E, Koronczay K, Doleschall Z, Nemeth G. Predictive value of p53, BCL-2 and BAX in the Radiotherapy of Head and Neck Cancer. *Pathol Oncol Res*. 1997;3(3):204–210.
- 73.- Demiral AN, Sarioglu S, Birlik B, Sen M, Kinay M. Prognostic Significance of EGF Receptor Expression in Early Glottic Cancer. *Auris Nasus Larynx*. 2004; 31(4):417–424.
- 74.- Pivot X, Magne N, Guardiola E, et al. Prognostic Impact of the Epidermal Growth Factor Receptor Levels for Patients with Larynx and Hypopharynx Cancer. *Oral Oncol*. 2005;41(3):320–327.
- 75.- Marioni G, Blandamura S, Loreggian L, et al. Laryngeal Carcinoma Prognosis after Postoperative Radiotherapy Correlates with CD105 Expression, but not with Angiogenin or EGFR Expression. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2011; 268(12):1779–1787.
76. - Patel AN, Mehnert JM, Kim S. Treatment of Recurrent Metastatic Head and Neck Cancer: Focus on Cetuximab. *Clinical Medicine Insights: Ear, Nose and Throat* 2012, 5: 1-6.
- 77.- SEER Statics 2017 <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/oralcav.html>
- 78.- Aquino G, Franco R, Sabatino R, et al. Deregulation of Paralogous 13 HOX Genes in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Am J Cancer Res* 2015; 5(19): 3042 – 55.
- 79.- Beebe-Dimmer JL, Hathcock M, Yee, et al. The HOXB13 G84E Mutation is Associated with an Increased Risk for Prostate Cancer and Other Malignancies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015;73:169–75.

80.- Platais C, Hakami F, Darda L, et al. The Role of HOX Genes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma.  
(Tesis doctoral) Universidad de Sheffield, Reino Unido.