



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**EXPRESIÓN DE SOX2 Y OCT3/4 EN CARCINOMA DE
CÉLULAS ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD ORAL.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

NICOLE BERENICE SORIA ORTEGA

Vo. Ba.

TUTORA: Dra. SILVIA MALDONADO FRÍAS
ASESOR: Dr. ALEJANDRO MANUEL GARCÍA CARRANCÁ

MÉXICO, Cd. Mx.

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



EXPRESIÓN DE SOX2 Y OCT3/4 EN CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD ORAL



DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a todos los pacientes
mexicanos que han luchado contra el cáncer oral.



AGRADECIMIENTOS

A mis padres Adriana Ortega Luna y Jaime Soria Torres, gracias por ser mi apoyo incondicional en cada etapa de mi vida, sin ustedes nada de esto sería posible.

A mi compañero de vida Ricardo Belmont Arce, gracias a la vida que te puso en mi camino, vivir esta etapa a tu lado lo hizo más ameno, gracias por tu cariño y apoyo incondicional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Odontología por abrirme sus puertas y brindarme las herramientas para ejercer esta hermosa carrera.

Este trabajo fue realizado gracias a la tutoría de la Dra. Silvia Maldonado Frías, gracias por brindarme la confianza para realizar este proyecto, su dedicación, tiempo, atención y enseñanzas durante todo el proceso.

Agradezco el apoyo del Dr. Alejandro Manuel García Carrancá por su asesoría y facilidades otorgadas para este proyecto de investigación. Así como al Instituto Nacional de Cancerología.

Este trabajo fue realizado en la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología en el Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos, agradezco al Dr. Marco Antonio Álvarez Pérez las facilidades y atenciones otorgadas durante la realización de este proyecto.

Agradezco a la Dra. Claudia Patricia Mejía Velázquez, Dra. Lila Areli Domínguez Sandoval y a la Dra. Isabel Martínez Sanabria por su tiempo y dedicación para la revisión de esta tesis.

Investigación realizada gracias al Programa **UNAM-PAPIIT <IA206921>**



ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUCCIÓN	5
4. ANTECEDENTES	7
4.1 Cáncer.....	7
4.2 Signos distintivos del cáncer.....	7
4.2.1 Potencial replicativo ilimitado.....	8
4.2.2 Evasión de los factores supresores de crecimiento.....	9
4.2.3 Invasión y metástasis.....	10
4.2.4 Activación de replicación inmortal.....	11
4.2.5 Angiogénesis.....	11
4.2.6 Evasión de la apoptosis.....	12
4.2.7 Reprogramación metabólica: efecto Warburg.....	13
4.2.8 Evasión de la respuesta inmune.....	13
4.2.9 Inestabilidad genética e inflamación crónica.....	14
5. CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS	14
5.1 Epidemiología.....	22
5.2 Factores de riesgo.....	24
5.2.1 Tabaco.....	25
5.2.2 Alcohol.....	26
5.2.3 Virus del papiloma humano (VPH).....	27
5.2.4 Susceptibilidad genética.....	28
5.2.5 Dieta y nutrición.....	29
6. CÉLULAS TRONCALES CANCEROSAS (CTC)	30
6.1 Células troncales (CT).....	30
6.2 Células troncales y factores Yamanaka.....	32
6.3 Diferencias entre células troncales sanas y cancerosas.....	33
6.4 Teorías del desarrollo del cáncer.....	34



6.5	Biomarcadores en COCE.....	37
6.6	Oct3/4 y SOX2 como biomarcadores en COCE.....	38
6.7	Expresión de Oct3/4 y SOX2 y estadificación de COCE.....	43
7.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	44
8.	JUSTIFICACIÓN.....	45
9.	HIPÓTESIS.....	45
10.	OBJETIVOS.....	46
10.1	Objetivo general.....	46
10.2	Objetivos específicos.....	46
11.	MATERIAL Y MÉTODO.....	46
11.1	Material, reactivos y equipos.....	46
11.2	Metodología.....	47
11.2.1	Tipo de estudio.....	47
11.2.2	Tipo y tamaño de la muestra.....	47
11.2.3	Método de registro y procesamiento de datos.....	47
11.2.4	Variables y criterios de inclusión/exclusión.....	48
11.2.5	Inmunohistoquímica.....	48
11.2.6	Análisis estadístico.....	49
12.	RESULTADOS.....	49
12.1	Características generales de la población de estudio.....	49
12.2	Marcadores de troncalidad y supervivencia.....	55
13.	DISCUSIÓN.....	59
14.	CONCLUSIÓN.....	61
15.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
16.	ANEXOS.....	71



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Las seis características distintivas del cáncer, propuestas en el año 2000 por Hanahan y Weinberg.....	8
Figura 2. Características adicionales del cáncer.....	9
Figura 3. Cascada invasión-metástasis.....	10
Figura 4. Sitios anatómicos de desarrollo de HNSCC.....	15
Figura 5. Progresión de HNC y procesos génicos clave.....	17
Figura 6. Clasificación a nivel de los ganglios linfáticos cervicales.....	21
Figura 7. Incidencia del cáncer de cavidad oral entre ambos sexos expresada por nivel de tasa estandarizada por edad en el mundo.....	23
Figura 8. Distribución de los sitios específicos que conforman las neoplasias malignas de las vías aerodigestivas superiores.....	23
Figura 9. Clasificación de células troncales de acuerdo con su potencial de multilinaje.....	31
Figura 10. Modelos de heterogeneidad tumoral. Modelo estocástico vs Modelo de CTC.....	35
Figura 11. Origen de las CTC, descrita en tres teorías.....	36
Figura 12. Localización subcelular de Oct3/4 en CTC.....	39
Figura 13. A. Esquema del grupo SoxB1 de la familia SOX. B. Estructura cristalina de SOX.....	40
Figura 14. Funciones de SOX2 en el COCE.....	42
Figura 15. Ejemplificación de tinción SOX2 en muestras de HNC.....	44
Figura 16. A. Gráfico por sexo de la población de estudio. B. Gráfico por edades de la población de estudio.....	51
Figura 17. Sitios anatómicos donde se presentó el carcinoma oral de células escamosas en la población de estudio.....	52



Figura 18. Estadificación TNM de la población de estudio.....	52
Figura 19. Gráfico de recurrencia de la población de estudio.....	53
Figura 20. A. Casos donde no hay consumo de alcohol y tabaco.....	54
Figura 21. Supervivencia de la población de estudio.....	54
Figura 22. Gráfico de barras donde se representa la supervivencia de la población de estudio que no consume alcohol y tabaco.....	55
Figura 23. Tinción por inmunohistoquímica para identificar la expresión de SOX2 y Oct3/4.....	56
Figura 24. Análisis de supervivencia de pacientes con COCE.....	57
Figura 25. Análisis de supervivencia y su relación con SOX2 en pacientes con COCE.....	58
Figura 26. Análisis de supervivencia y su relación con Oct3/4 en pacientes con COCE.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Presentación clínica de tumores presentes en el HNC, ubicación y sintomatología.....	19
Tabla 2. Estadificación del CO.....	19
Tabla 3. Sistema de estadificación TNM para COCE.....	20
Tabla 4. Variantes de la población de estudio.....	50



ABREVIATURAS

OMS. Organización Mundial de la Salud.

DNA. Ácido desoxirribonucleico.

EMT. Transición epitelial–mesenquimal.

HIF1. Factor inducido por hipoxia.

VEGF. Factor de crecimiento del endotelio vascular.

FCF2. Factor de crecimiento de fibroblastos 2.

TNF. Factor de necrosis tumoral.

HNSCC. Carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello.

HNC. Cáncer de cabeza y cuello.

COCE. Carcinoma oral de células escamosas.

CO. Cáncer oral.

AJCC. American Joint Committee on Cancer.

UICC. International Union for Cancer Control.

QRT. Quimioradioterapia.

VPH. Virus del papiloma humano.

RHNM. Registro Histopatológico de las Neoplasias en México.

VEB. Virus de Epstein Barr.

CTC. Células troncales cancerosas.

AR. Alto riesgo.

IARC. Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer.

CT. Células troncales.



CTA. Células troncales adultas.

CTE. Células troncales embrionarias.

CTH. Células troncales hematopoyéticas.

CTM. Células troncales mesenquimales.

CTC. Células troncales cancerosas.

hCTE. Células troncales embrionarias humanas.

iPTC. Células troncales pluripotentes inducidas.

FDA. Administración de Alimentos y Medicamentos.

NIH. Instituto Nacional de Salud.

BEST. Biomarcadores, puntos finales y otras herramientas.

Oct3/4. Octamer binding protein 3/4.

Sry. Gen Y de la región determinante del sexo.

HMG. Dominio de grupo de alta movilidad.

H/E. Hematoxilina/eosina.



GLOSARIO

Angiogénesis. Formación de nuevos vasos sanguíneos, necesarios para el acceso de nutrientes e intercambio de gases en el tumor.

Apoptosis. Proceso de muerte estructurado que ocurre en etapas, en células cancerosas la apoptosis libera señales de peligro que reactivan el sistema inmune.

Biomarcador. Indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas biológicas a una exposición o intervención, incluidas las intervenciones terapéuticas.

Cáncer oral. Proceso que comprende una serie de alteraciones graduales que ocurren en la superficie epitelial de la cavidad oral, seguido de la invasión de células tumorales.

Cáncer. Grupo de enfermedades donde existe un desorden de células que se dividen anormalmente, invadiendo partes adyacentes del cuerpo y órganos, alterando su fisiología.

Célula troncal. Célula indiferenciada de larga vida que da lugar a numerosos tipos de células maduras y conducen a la organogénesis.

Célula troncal cancerosa. Células con capacidad de iniciar un tumor y mantener su propiedad de autorrenovación, con alto potencial tumorigénico, crecimiento rápido, invasión y metástasis.

Carcinoma oral de células escamosas. Carcinoma oral que se origina en el epitelio de revestimiento mucoso del tracto aerodigestivo superior.

Factor de transcripción. Proteínas de unión a secuencias específicas de DNA que controlan el nivel de transcripción de la información genética, caracterizadas por inducir pluripotencia y autorrenovación.



Factor Yamanaka. Factores de transcripción utilizados para la reprogramación directa de una célula diferenciada sin afectar su integridad.

Migración celular. Movimiento de las células cancerosas desde su ubicación normal hacia el tejido no canceroso circundante.

Metástasis. Tránsito de las células cancerosas a través de los sistemas linfático y hematógeno, dando como resultado la formación de nódulos de células cancerosas y el crecimiento de tumores.

Quimiorresistencia. Resistencia de las células cancerosas a las sustancias utilizadas para su tratamiento.

Transición epitelial – mesenquimal. Proceso en el que una célula epitelial sufre múltiples cambios para transformarse en una célula con capacidad para migrar e invadir la matriz extracelular.

Oncogénesis. Formación inicial de un tumor a partir de la ganancia de propiedades malignas como la metástasis, mantenimiento de troncalidad, proliferación, apoptosis, quimiorresistencia y migración celular.

Proliferación. Aumento del número de células como resultado del crecimiento y la multiplicación celular.



1. RESUMEN

El cáncer es un problema de salud mundial y una de las causas más comunes de mortalidad humana. El carcinoma oral de células escamosas (COCE) es una neoplasia maligna que se origina histológicamente en las células escamosas, es una enfermedad multifactorial; ocupa el sexto lugar como el cáncer más frecuente a nivel mundial, y se estima un incremento de casos para las siguientes décadas.

El pronóstico para estos pacientes es de 5 años, en el 50% de los casos, por lo que uno de los objetivos de la investigación actual, es el contar con biomarcadores para determinar el pronóstico de la enfermedad y tener un mejor manejo clínico de los pacientes, con la finalidad de incrementar la supervivencia y calidad de vida.

Existen biomarcadores como Oct3/4 y SOX2 en carcinoma de células escamosas de cavidad oral pero los datos en la literatura son controversiales, por ello, es necesario identificar la expresión de estos biomarcadores en tumores de pacientes en última etapa de la enfermedad para determinar si su comportamiento es similar al de otras poblaciones y observar el rol de estas proteínas en el pronóstico y supervivencia de los mexicanos.

El objetivo de este trabajo fue identificar la expresión de Oct3/4 y SOX2 como potencial biomarcador y su asociación con el estadio IV y supervivencia de pacientes con carcinoma oral de células escamosas.

Este estudio se realizó en una cohorte de 140 casos, fue retrospectivo, transversal y descriptivo e identificó las características de la población de estudio. Se seleccionó una muestra de 10 casos con diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas estadio IV para determinar la expresión de biomarcadores de troncalidad como SOX2 y Oct3/4 por inmunohistoquímica y



relacionó estos marcadores con una estadificación tardía y supervivencia de los pacientes.

Los resultados obtenidos indican que la población de estudio (n= 140) va de 35 a 90 años con predominio del 56% en varones y el 49% fueron fumadores de tabaco y el 59% de alcohol. En el caso de la asociación de los marcadores de la muestra (n=10) seleccionada y la supervivencia, la expresión negativa de Oct3/4 muestra un dato más robusto con una mediana mayor a los 5 años de supervivencia y en caso de SOX2, aunque el 30% de la población fue positiva, el porcentaje tumoral para cada caso no fue mayor al 20%, sin embargo, la muestra seleccionada es baja por lo que es importante escalar este estudio a una población mayor para poder confirmar que la expresión negativa de estos marcadores está asociada a una mayor supervivencia de los pacientes con COCE.



2. ABSTRACT

The Cancer is a global health problem and one of the most common causes of human mortality. Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is a malignant neoplasm histologically originate is squamous cells. This multifactorial disease is the sixth most common cancer worldwide and has increase of case estimated by next decade.

The prognosis for these patients is 5 years in 50% of the cases, so aims of research was identify biomarkers of prognosis of the disease and have a better clinical management of the patients to increase survival and quality of life.

There are biomarkers such as Oct3/4 and SOX2 in OSCC, but the research is controversial, therefore, is important identify the expression of these biomarkers in tumors of patients on last stage of the disease for determine if its compartment is like to other population and observed their roll of this proteins in the prognosis and survival of mexican people.

The aim of this work was to identify the expression of Oct3/4 and SOX2 as potential biomarkers and determine your association with the stage IV and survival of patients with diagnosis of OSCC.

This study was performed out in a cohort of 140 cases, was retrospective, cross-sectional and descriptive and identified the characteristics of the study population. We selected 10 samples diagnosed with stage IV oral squamous cell carcinoma to identify the expression of stem cell biomarkers as SOX2 and Oct3/4 by immunohistochemistry and correlated these markers with late staging and patient survival.



We results indicate that the study population (n= 140) has between 35 to 90 years and the 56% are men, 49% were tobacco smoked and 59% drinking alcohol. In the case of the association of the markers (n=10) and the patient's survival, the negative expression of Oct3/4 shows data with a median greater than 5 years and in the case of SOX2, although 30% of the population was positive, the percentage was not greater than 20%, however, the selected sample is low, so it is important to scale this study to a bigger population and confirm that negative expression of this proteins are associated with an increase of the survival of patients with OSCC.



3. INTRODUCCIÓN

El cáncer es un problema de salud a nivel mundial y es una de las causas más comunes de mortalidad humana. Según la Organización Mundial de la Salud define al cáncer como “un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células, que puede aparecer en cualquier lugar del cuerpo e invadir el tejido circundante y este a su vez puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo”.

El término cáncer se emplea para hacer referencia a distintas enfermedades con más de mil variedades histopatológicas que comparten una característica en común, la proliferación anormal y descontrolada de las células que invaden tejidos y órganos. Un distintivo de esta enfermedad es la multiseccionalidad que implica una serie de alteraciones discretas, irreversibles y complementarias en los genes que controlan el crecimiento, la muerte y la diferenciación celular.

Respecto al cáncer de cabeza y cuello, el carcinoma oral de células escamosas (COCE) es el de mayor prevalencia siendo una neoplasia maligna que se origina histológicamente en las células del epitelio y el cual se desarrolla en la mucosa oral; se diagnostica frecuentemente en individuos mayores de 40 años, de los cuales el 50% de estos son mayores de 65 años y ocupa el sexto lugar como el cáncer más frecuente a nivel mundial representando el 2 al 4% de todos los cánceres diagnosticados, con un incremento anual de 5,000 nuevos casos por año. No obstante, se presentan variaciones en la prevalencia, incidencia y mortalidad respecto a la localización regional, presentando una mayor incidencia en la región de Asia sudoriental.

El cáncer es una enfermedad multifactorial, causada por alteraciones genéticas y también por factores no genéticos, si bien la etiología aún no se describe claramente, el desarrollo de esta enfermedad se atribuye a la exposición de ciertos factores de riesgo como lo es el tabaco, el alcohol, el Virus del Papiloma Humano, etc.



En México el diagnóstico tardío de COCE en los pacientes, representa una desventaja en el tratamiento, ya que el estadio avanzado de la enfermedad se asocia a la metástasis, por lo que el tratamiento suele ser agresivo e invasivo disminuyendo significativamente la calidad de vida de los pacientes.

El uso de biomarcadores ha sido una herramienta muy útil en el diagnóstico de COCE y recientemente la propuesta del papel de las células troncales en el desarrollo del cáncer es un tópico obligatorio. Descifrar la relación entre el avance de la enfermedad y la presencia de células troncales podrían dar información valiosa del comportamiento de esta enfermedad en la población mexicana.



4. ANTECEDENTES

4.1 Cáncer

El cáncer es una de las principales enfermedades que afectan a la población a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el término “cáncer”, designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar cualquier parte del organismo, una característica que define al cáncer es la multiplicación rápida de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos. (1,2)

El cáncer agrupa entidades clínicas de diverso origen, a pesar de las distintas manifestaciones clínicas de esta enfermedad, existen ciertos principios en común que se observan en las distintas entidades clínicas. (1)

En el año de 1838, se describió que el tejido canceroso estaba formado por células con morfología alterada, y se postuló que la causa de la enfermedad yacía en lesiones celulares. Actualmente, el cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente, lo que conduce a la formación de agregados que crecen dañando tejidos vecinos, se nutren del organismo y alteran su fisiología. Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos originando una metástasis, que en muchas ocasiones es la causa de muerte de los individuos afectados. (1)

4.2 Signos distintivos del cáncer

Los signos distintivos del cáncer son características que permiten el crecimiento tumoral y diseminación metastásica. Esta es la base para comprender la biología del cáncer. (3)

Gracias al desarrollo de nuevas tecnologías se ha mejorado el manejo de distintos aspectos clínicos de la enfermedad, como el crecimiento tumoral, invasividad y metástasis. (1)

En una revisión en el año 2000, Hanahan y Weinberg propusieron un modelo que define las seis principales características de las células neoplásicas, que aseguran la progresión tumoral, las cuales son: potencial replicativo ilimitado, evasión de los factores supresores de crecimiento, invasión y metástasis, activación de replicación inmortal, angiogénesis y evasión de la apoptosis (figura 1). (3)

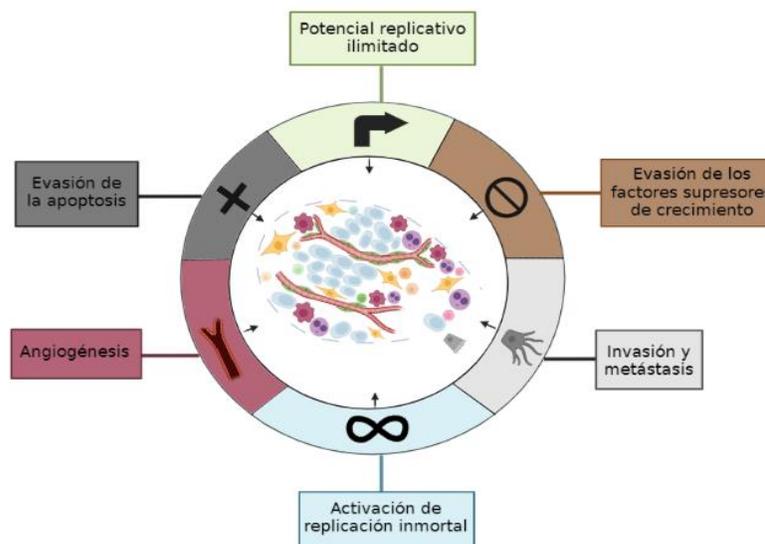


Figura 1. Las seis características distintivas del cáncer, propuestas en el año 2000 por Hanahan y Weinberg. Tomada de Hanahan D. et al. 2011 y modificada en BioRender.

Una década más tarde se agregaron dos características distintivas: reprogramación metabólica y evasión de la respuesta inmune. La inflamación crónica se incluyó junto a la inestabilidad genética como cualidades habilitantes (figura 2). (3)

4.2.1 Potencial replicativo ilimitado

Las células en estado de homeostasis producen y liberan mediadores que activan mecanismos de señalización que promueven la regulación del ciclo celular, controlando el crecimiento a través de la división y proliferación, lo que permite mantener la arquitectura y la función de los tejidos. Las células cancerosas presentan mutaciones en oncogenes y adquieren la capacidad de ignorar estas señales y se replican independientemente manteniendo la

señalización proliferativa de manera anormal por uno o varios mecanismos. (1, 3, 4)

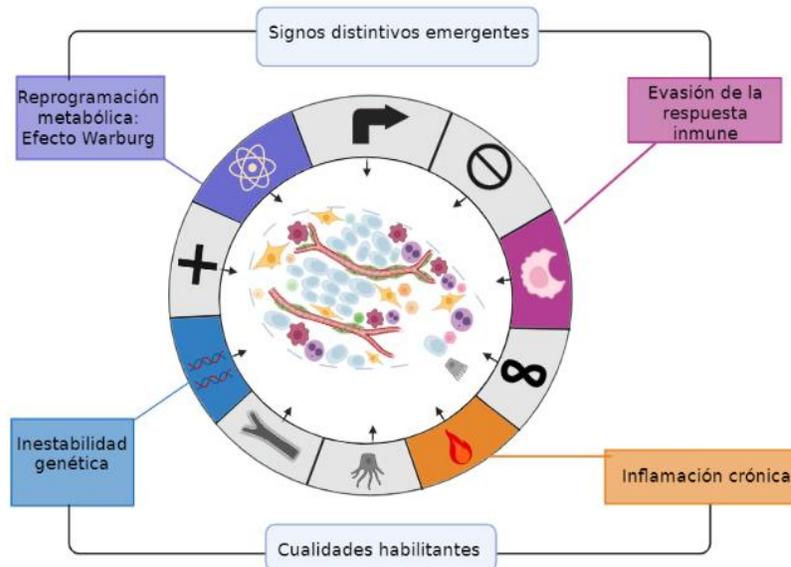


Figura 2. Características adicionales del cáncer. Tomada de Hanahan D. et al. 2011 y modificada en BioRender.

4.2.2 Evasión de los factores supresores de crecimiento

La tasa de proliferación aumentada de las células cancerosas se encuentra favorecida por la evasión de los sistemas que regulan la proliferación celular, controlados por los genes supresores de tumores. (1)

Las mutaciones o la inhibición parcial o total de la expresión de estas moléculas estimulan la proliferación celular, al reducir la efectividad de los puntos de control que regulan el ciclo celular, de las vías de retroalimentación negativa de las cascadas de señalización celular y de los mecanismos de reparación del ácido desoxirribonucleico (DNA). Lo anterior contribuye a la evasión de los mecanismos que controlan la carcinogénesis y la adaptación de las células neoplásicas al microambiente donde se desarrollan. (4)

Las proteínas más reconocidas en el control del ciclo celular, vinculadas a la progresión tumoral son p53, proteína de retinoblastoma y Lkb1. (4)

4.2.3 Invasión y metástasis

El proceso de invasión y metástasis es una secuencia de pasos denominada “cascada de metástasis e invasión”. Este proceso es una sucesión de cambios biológicos celulares, comenzando con la invasión local, luego la penetración de las células cancerosas en los vasos sanguíneos y linfáticos cercanos, el tránsito de las células cancerosas a través de los sistemas linfático y hematógeno, seguido por el escape de las células cancerosas de la luminaria de los vasos en el parénquima de los tejidos distantes, la formación de pequeños nódulos de células cancerosas, y finalmente el crecimiento de lesiones micrometastásicas en tumores macroscópicos, este último se denomina “colonización” (figura 3). (3)

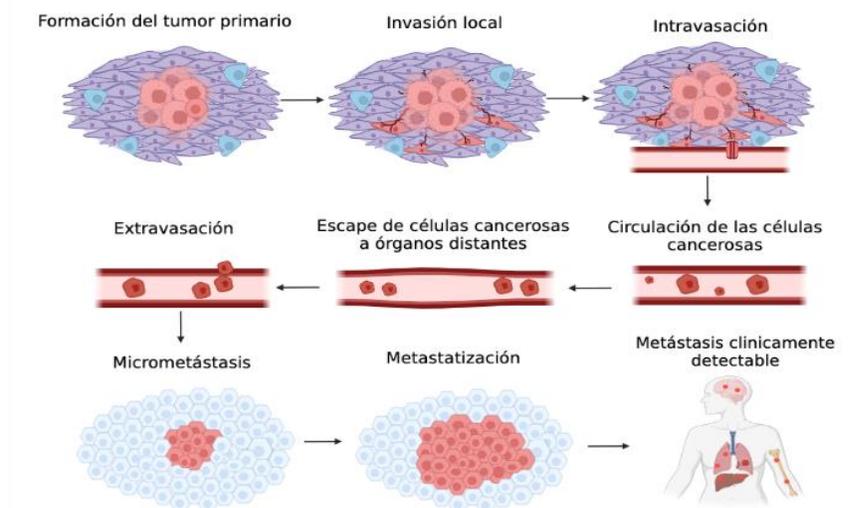


Figura 3. Cascada invasión – metástasis. Tomada de Sánchez C. 2013 y modificada en BioRender.

La transición epitelial–mesenquimal (EMT) permite a las células metastásicas adoptar una serie de propiedades características de las células troncales que facilita su adaptación, de modo que se adapten a proliferar en tejidos diferentes al del origen. (4)



4.2.4 Activación de replicación inmortal

Las células pasan por un número limitado de divisiones celulares, denominado límite de Hayflick, cuando las células alcanzan este punto, pueden entrar en dos puntos no proliferativos, la senescencia, un paso irreversible a un estado no proliferativo pero viable y la fase de crisis que implica la muerte celular. Si la célula sobrevive a la crisis y exhibe un potencial replicativo ilimitado, se llama immortalización. En los extremos de los cromosomas hay secuencias múltiples de hexanucleótidos en tandem, denominados telómeros, que se acortan en cada división celular hasta un punto que amenaza la estabilidad celular, ocasionando la crisis celular. Solo algunas células del organismo pueden sobrepasar este límite y dividirse de manera indefinida (células germinales reproductivas), al igual que las células tumorales. En estas células se expresa la proteína telomerasa, un DNA polimerasa que adiciona segmentos repetitivos a los extremos del DNA telomérico, evitando su acortamiento. (1,3)

4.2.5 Angiogénesis

Al igual que los tejidos normales, los tumores requieren sustento en forma de nutrientes y oxígeno, la neoangiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos y es una necesidad de los tumores para asegurar el acceso de nutrientes, el intercambio de gases, el crecimiento tumoral y la metástasis, sin embargo, la vasculatura que se forma en los procesos oncogénicos es frágil y desordenada en comparación con los tejidos normales. (1,4)

Existen dos condiciones que estimulan la neoangiogénesis:

1. Activación del factor inducido por hipoxia (HIF1): Como consecuencia de un estado de hipoxia en el microambiente tumoral.
2. Activación constitutiva de este mismo factor por alteraciones genéticas.



En ambos casos se producen citocinas angiogénicas como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FCF2), y factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$). (1)

El proceso de neoangiogénesis transcurre en 6 etapas principales que incluyen: 1) liberación de VEGF y otros factores de crecimiento, 2) degradación proteolítica de la matriz extracelular, 3) migración de las “células punta”, 4) proliferación de células endoteliales y formación del nuevo tubo vascular, 5) regulación del diámetro del tubo vascular y 6) asociación de los pericitos y flujo de sangre hacia el tumor. (4)

4.2.6 Evasión de la apoptosis

La apoptosis es un proceso de muerte estructurado que ocurre por etapas, sin embargo, la muerte masiva por apoptosis libera señales de peligro que estimulan la reactividad del sistema inmune. (4)

El crecimiento de los tumores no sólo depende de cuánto se dividen las células que lo componen sino también está condicionado por la tasa de muerte celular. La disminución del número de células ocurre principalmente por apoptosis, un mecanismo normal que mantiene la homeostasis tisular. Las células tumorales desarrollan mecanismos que les permiten evadir la apoptosis. 1) alteración en el balance de proteínas pro y anti apoptóticas, 2) disminución de la actividad de las caspasas, y 3) falla en la señalización del receptor de muerte. (1)

El desbalance en las señales pre y anti-apoptóticas es una característica de las células neoplásicas. Esta condición se origina por el incremento en la expresión de moléculas como Bcl-2 y Bcl-x, a la par que se reducen los mediadores pro-apoptóticos como Bim, Bid y PUMA. Otro evento que favorece la resistencia a la apoptosis es la pérdida de la actividad de p53. (4)



4.2.7 Reprogramación metabólica: efecto Warburg

La proliferación celular no solo implica el control desregulado de la proliferación celular sino también tiene que ver el metabolismo energético para alimentar el crecimiento celular. (3)

Otto Warburg observó por primera vez una característica anómala del metabolismo energético de las células cancerosas. En condiciones normales aeróbicas, las células procesan la glucosa hasta su degradación completa a dióxido de carbono en la mitocondria, sin embargo, en células cancerosas se demostró que tienen un consumo elevado de glucosa que se incorpora a la ruta glucolítica para producir ácido láctico, en presencia de un medio pobre en oxígeno. Este fenómeno, se asoció con alteraciones en la función mitocondrial en las células neoplásicas. Se plantea la hipótesis que los tumores requieren una modificación en su metabolismo para cumplir las demandas bioenergéticas y biosintéticas derivadas del rápido crecimiento. Hoy se reconoce que esta alteración es parte de una adecuación metabólica, que propicia la formación de intermediarios para la síntesis de macromoléculas que soportan la replicación celular. (4)

4.2.8 Evasión de la respuesta inmune

Cuando se desarrollan clones tumorales, estos normalmente son detectados y eliminados por mecanismos del sistema inmune, dado que expresan un patrón proteico distinto al expresado por células normales. Debido a las mutaciones, el reconocimiento de las células tumorales no es sencillo, ya que por ser células del mismo individuo, existe cierto grado de inmunotolerancia y debido a la inestabilidad genómica las células cancerosas cambian constantemente, acompañada con la sobreexpresión de citocinas y quimiocinas, que actúan como inmunomoduladores regulando su microambiente y favoreciendo el reclutamiento de monocitos, macrófagos y



células inflamatorias, suprimiendo la actividad del sistema inmune y regulando la neovascularización. (1)

4.2.9 Inestabilidad genética e inflamación crónica

La inestabilidad genética y la inflamación crónica son propiedades determinantes para que la progresión tumoral tenga éxito. La inestabilidad genética se manifiesta a nivel genético, e incluye mutaciones, traslocaciones, amplificaciones, e inestabilidad cromosomal. (4)

La inflamación crónica y el desarrollo de neoplasias fue descrita por primera vez en el siglo XIX por el doctor Rudolf Virchow, este proceso condiciona la presencia de mediadores proinflamatorios moleculares y celulares en el microambiente tumoral. La inflamación crónica puede ser causa o consecuencia de la transformación neoplásica. La activación de oncogenes y la pérdida de actividad de genes supresores de tumores, favorece la inflamación crónica que condiciona la activación de factores de transcripción, incrementando la concentración de citocinas como IL1B, IL6 y TNF en el ambiente tumoral, modificando la expresión y actividad de microARNs con actividad protumoral y favoreciendo el infiltrado al microambiente tumoral de macrófagos proinflamatorios M1, conocidos como macrófagos asociados a tumor, y de células mieloides con actividad supresora. (4)

5. CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS

Uno de los carcinomas que afecta a los seres humanos es el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (por sus siglas en inglés HNSCC) se desarrollan a partir del epitelio de la mucosa en la cavidad oral, senos paranasales, cavidad nasal, faringe, laringe, glándulas salivales, ganglios linfáticos y piel, esta es la neoplasia más común que surge en cabeza y cuello (figura 4). (5,6)

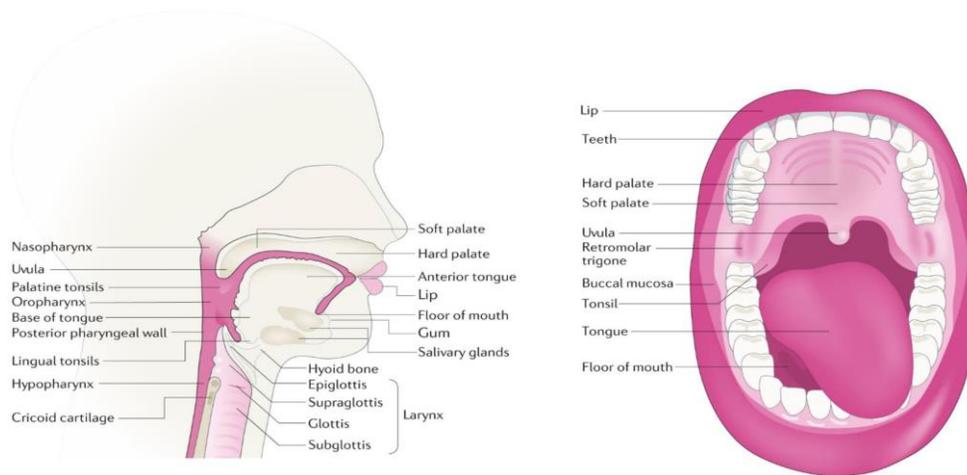


Figura 4. Sitios anatómicos de desarrollo de HNSCC. Tomada de Johnson D.E. et al. 2020.

El cáncer de cabeza y cuello (HNC) ocupa el sexto lugar, siendo el más común en países en desarrollo. Más del 90% de los HNC son carcinoma oral de células escamosas (COCE), variante que se origina en el epitelio de revestimiento mucoso del tracto aerodigestivo superior. (5,7,8)

El COCE es una neoplasia maligna, que se presenta en lengua, labios, encía, paladar, piso de boca y mucosa bucal, es una enfermedad multifactorial afectada por diversas alteraciones genéticas y factores ambientales. (9)

Las encías, paladar, zona retromolar, mucosa bucal y labial son las zonas bucales menos afectadas, por el contrario, la superficie ventral de la lengua y el piso de boca son los sitios más comúnmente afectados por el COCE, ya que están revestidos por un epitelio delgado no queratinizado. (10)

El COCE se origina a partir de las células epiteliales de la mucosa, puede desarrollarse a partir de una mucosa aparentemente normal o comúnmente se presenta como una llaga o úlcera bucal que no cicatriza, también puede desarrollarse a partir de lesiones orales potencialmente malignas, como la leucoplasia oral, eritroplasia, fibrosis submucosa y liquen plano oral. (6,10,11)



- Leucoplasia. Término clínico definido como “placa o mancha blanca que no puede caracterizarse clínica o patológicamente como ninguna otra enfermedad”. Es una lesión asociada con el tabaquismo y consumo de alcohol. Se observan cambios displásicos en solo 2 a 5% de los pacientes. La tasa anual de transformación maligna es del 1%. (12)
- Eritroplasia. Término clínico definido como “mancha aterciopelada de color rojo brillante que no puede caracterizarse clínica o patológicamente como causa por otra afección”. Esta lesión tiene un mayor potencial maligno que la leucoplasia y se asocia con displasia y carcinoma in situ. (12)
- Fibrosis submucosa. Esta enfermedad progresiva, afecta cualquier parte de la cavidad oral y a veces la faringe, en la que se forman bandas fibrosas en la mucosa oral que conduce a la rigidez de esta, y a su vez provoca trismus, restricción del movimiento de la boca y lengua, e incapacidad para comer. También se caracteriza por la formación de vesículas, e inflamación epitelial. Se ha informado que los pacientes con fibrosis submucosa oral tienen un mayor riesgo de desarrollar carcinoma oral. (13)
- Liquen plano oral. Enfermedad mucocutánea crónica del epitelio escamoso estratificado que afecta las membranas mucosas orales. Esta enfermedad autoinmune mediada por células T, inicialmente se manifiesta con la aparición de pápulas filiformes blancas, grises y aterciopeladas en una disposición lineal, anular y reticular formando parches. Las lesiones generalmente son asintomáticas (aunque hay pacientes que manifiestan ardor leve o dolor), bilaterales y simétricas. Aparecen comúnmente en la mucosa bucal, lengua, labios, encía, piso de boca y paladar, estas lesiones al ser persistentes conllevan un riesgo de transformación maligna a COCE. (14)

Histológicamente, la progresión a HNC invasor sigue una serie ordenada de pasos que comienza con hiperplasia de células epiteliales, seguida de displasia (leve, moderada y grave), carcinoma *in situ* y, finalmente a carcinoma invasor (figura 5). (6)

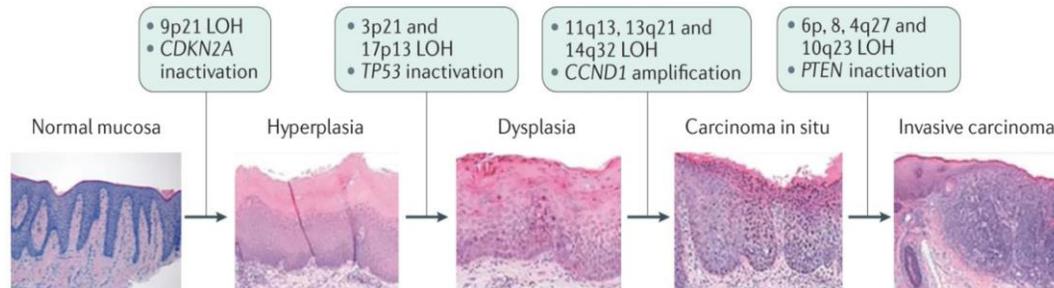


Figura 5. Progresión de HNC y procesos génicos clave. Tomada de Johnson D.E. et al. 2020.

Algunas anomalías cromosómicas en las diferentes etapas de progresión del HNC, inician con la pérdida de 9p21 durante la progresión de la mucosa epitelial normal de la cabeza y cuello a la hiperplasia. La región 9p21 incluye los genes supresores de tumores CDKN2A y ARF. La progresión de hiperplasia a displasia está marcada por la pérdida de 3p21 y 17p13, el sitio de TP53. La transición de displasia a carcinoma in situ implica la pérdida de 11q13, 13q21 y 14q32, mientras que la pérdida de 6p, 8, 4q27 y 10q23 se observa en la progresión a carcinoma invasor. Por otro lado, se desconoce si la progresión del HNC depende de la secuencia temporal de estas alteraciones, o de su acumulación colectiva. (6)

Las mutaciones asociadas a HNC están estadísticamente enfocadas en 11 genes, de los cuales con frecuencia está dominada por supresores de tumores, como TP53, CDKN2A, FAT1, NOTCH1, KMT2D, NSD1 y TGFBR2, lo que indica que el HNC podría ser impulsado con mayor frecuencia por la pérdida de supresores de tumores. TP53 y otros genes como TP63 y TP73, se alteran con frecuencia en el HNC. TP63 codifica dos isoformas principales, Δ Np63 y Tap63 y se sobre expresan en la mayoría de los tumores del HNC.



Δ Np63 promueve el crecimiento del tumor por múltiples mecanismos, incluida la supresión de la apoptosis, la expresión de p16^{INK4A} y la inducción de la señalización mitogénica. Por el contrario, TAp73, tiene actividad supresora de tumores y la función de Tap73 se anula, y da como resultado la inducción de NANOG, SOX2 y Oct3/4, lo que promueve las propiedades similares a las células troncales de las células tumorales. (6)

Cabe destacar que ninguna estrategia de detección ha demostrado ser eficaz, y el examen físico cuidadoso sigue siendo el enfoque principal para la detección temprana debido a la autoidentificación del paciente de la lesión. (6)

Aunque un porcentaje de lesiones premalignas orales progresan a cáncer invasor, la mayoría de los pacientes que presentan COCE en estadio avanzado son sin antecedentes clínicos de premalignidad. (6)

Para algunos casos la localización anatómica del HNC está asociada a cierta sintomatología (tabla 1). La etapa de avance del COCE es el factor pronóstico más importante para el diagnóstico y tratamiento general de la enfermedad, ya que regularmente se diagnostica en una etapa tardía del curso de la enfermedad. (10)

La estadificación clínica de los tumores de la cavidad oral consta de características del tumor primario, el cuello y la evaluación de metástasis a distancia. Los elementos básicos en la estadificación del sitio primario son el tamaño del tumor y la invasión de estructuras profundas (tabla 2). (12)



Tumor	Localización	Sintomatología
Cavidad oral	<ul style="list-style-type: none"> Lengua Piso de boca Mucosa bucal Trígono retromolar Paladar duro 	<ul style="list-style-type: none"> Llaga que no cicatriza Úlcera bucal que no cicatriza Disfagia Odinofagia Disartria
Orofaringeo e hipofaringeo negativo a VPH	<ul style="list-style-type: none"> Base de la lengua Amígdalas palatinas Paladar blando Hipofaringe 	<ul style="list-style-type: none"> Disfagia Odinofagia Otalgia
Orofaringeo e hipofaringeo positivo a VPH		<ul style="list-style-type: none"> Masa indolora en el cuello de nivel II Tumor primario asintomático
Laringe	<ul style="list-style-type: none"> Laringe 	<ul style="list-style-type: none"> Disfonía Laringitis Disnea Obstrucción vías aéreas
Nasofaringeo	<ul style="list-style-type: none"> Nasofaringe 	<ul style="list-style-type: none"> Epistaxis Obstrucción nasal unilateral Otalgia Parálisis de los nervios

Tabla 1. Presentación clínica de tumores presentes en el HNC, ubicación y sintomatología. Tomada de Johnson D.E. et al 2020.

Estadio	T	N	M
Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1-T3	N1	M0
Estadio IV A	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1-T4a	N2	M0
Estadio IV B	Cualquier T	N3	M0
	T4b	Cualquier N	M0
Estadio IV C	Cualquier T	Cualquier N	M1

Tabla 2. Estadificación del CO. Tomada de Montero P.H. et al 2015.



EXPRESIÓN DE SOX2 Y OCT3/4 EN CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD ORAL



Estadio	Características
T – Tumor primario	
Labios y Cavidad Oral	
TX	Datos insuficientes para evaluar el tumor primario.
T0	Sin evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ. Cáncer incipiente en el que las células cancerosas se detectan solo en una capa de tejido.
T1	Tumor de 2 cm o menos en su dimensión mayor, con PDI ≤5mm.
T2	Tumor de más de 2 cm y menos de 4 cm en su dimensión mayor, con PDI ≤10mm.
T3	Tumor de más de 4 cm en su dimensión mayor, con PDI ≤10mm.
T4A	Enfermedad local moderadamente avanzada.
T4B	Enfermedad local muy avanzada. El tumor invade el espacio masticador, apófisis pterigoides o base de cráneo y/o rodea la arteria carótida interna.
Orofaringe	
TX	No se puede evaluar el tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ. Cáncer incipiente en el que las células cancerosas se detectan solo en una capa de tejido.
T1	Tumor de 2 cm o menor.
T2	Tumor de más de 2 cm, pero menor de 4 cm.
T3	Tumor de más de 4 cm.
T4A	Tumor invade: Laringe, músculos de la lengua, músculos de la mandíbula, bóveda de la boca y la mandíbula.
T4B	Tumor invade: Músculos y huesos de la boca, nasofaringe, base de cráneo y recubre la arteria carótida.
N - Ganglios linfáticos regionales	
NX	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos.
N0	Sin metástasis en los ganglios linfáticos regionales.
N1	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral de 3 cm o menor de diámetro mayor sin EEG.
N2A	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, entre 3 y 5 cm de diámetro mayor sin EEG.
N2B	Metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsolaterales, ninguno mayor de 6 cm sin EEG.
N2C	Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor de 6 cm sin EEG.
N3A	Metástasis en un ganglio linfático mayor de 6 cm sin EEG.
N3B	Metástasis en cualquier nódulo y clínicamente manifiesta EEG.
M - Metástasis	
M0	El cáncer no se ha diseminado a otras partes del cuerpo.
M1	El cáncer se ha diseminado a otras partes del cuerpo.

Tabla 3. Sistema de estadificación TNM para COCE. Tomada de Montero P.H. et al 2015 y Amin M. B. et al 2017. PDI – profundidad de invasión. EEG – extensión extraganglionar.

El American Joint Committee on Cancer (AJCC) y el International Union for Cancer Control (UICC) proveen el Sistema de estadificación TNM como un recurso para determinar la etapa de diferentes tipos de cáncer según ciertas normas (tabla 3). (15).

El COCE muestra un patrón de crecimiento agresivo con un alto grado de invasión local y una propensión a hacer metástasis a los ganglios linfáticos cervicales, incluso en etapas tempranas. (11)

La metástasis a ganglios linfáticos del cuello ocurre en el 40% de los casos, esto sigue siendo el principal factor asociado a un mal pronóstico, además, entre el 26% y el 80% de los pacientes con COCE en estadio temprano desarrollan recidiva loco regional o metástasis a distancia. (11)

La diseminación linfática al cuello ocurre de manera escalonada, ordenada y predecible. Estos se describen utilizando la terminología estandarizada por las Directrices de la American Head and Neck Society (figura 6). (12)

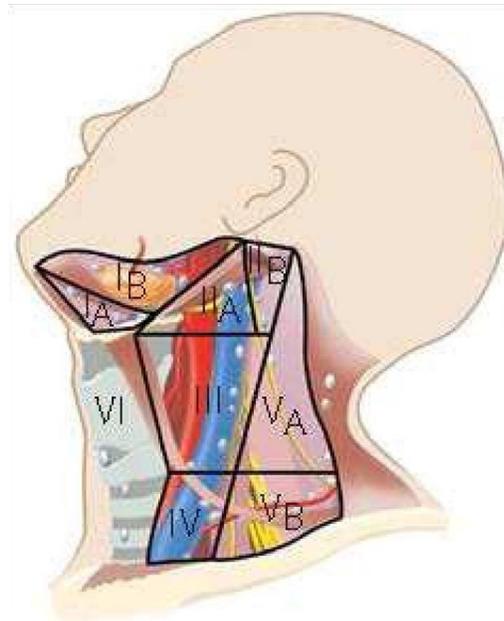


Figura 6. Clasificación a nivel de los ganglios linfáticos cervicales. Tomada de American Cancer Society 2015.

- Nivel I. Ganglios linfáticos submentonianos y submandibulares.
- Nivel II. Ganglios linfáticos yugulares superiores, ubicados encima del músculo digástrico.



- Nivel III. Ganglios linfáticos yugulares medios, ubicados entre el músculo omohioideo y músculo digástrico.
- Nivel IV. Ganglios linfáticos yugulares inferiores.
- Nivel V. Ganglios linfáticos del triángulo posterior, ganglios linfáticos retrofaríngeos. (15)

El COCE se trata con resección quirúrgica, seguida de radiación o quimioterapia o tratamiento en conjunto con quimioradioterapia (QRT) según el estadio de la enfermedad. El CO positivo para virus del papiloma humano (VPH) generalmente tienen un pronóstico más favorable que el CO negativo para VPH. (6)

5.1 Epidemiología

Las tasas de incidencia y mortalidad de los HNSCC varían entre países y regiones, en general se encuentra que el COCE es más común en países en desarrollo como el sur y sureste de Asia, debido a la alta exposición a carcinógenos derivados del tabaco, y el consumo de alcohol en esta región. (5,6,9)

Los datos recientes disponibles en el informe GLOBOCAN 2020 muestra un total de 377,713 casos nuevos y 177,757 muertes por COCE las cuales ocurrieron en todo el mundo en el año 2020 (figura 7). Estas cifras dan una clara indicación de que el CO sigue siendo una enorme carga mundial y el aumento de las tasas es motivo de preocupación. La incidencia de COCE sigue aumentando y se prevé que aumente en un 30% para el año 2030. (6,16)

En México el Registro Histopatológico de las Neoplasias en México (RHNM) en el año 2002 informó que las neoplasias malignas ubicadas en cabeza y cuello representan el 17.6% de la totalidad de las neoplasias malignas reportadas. (17)

Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2020, lip, oral cavity, both sexes, all ages

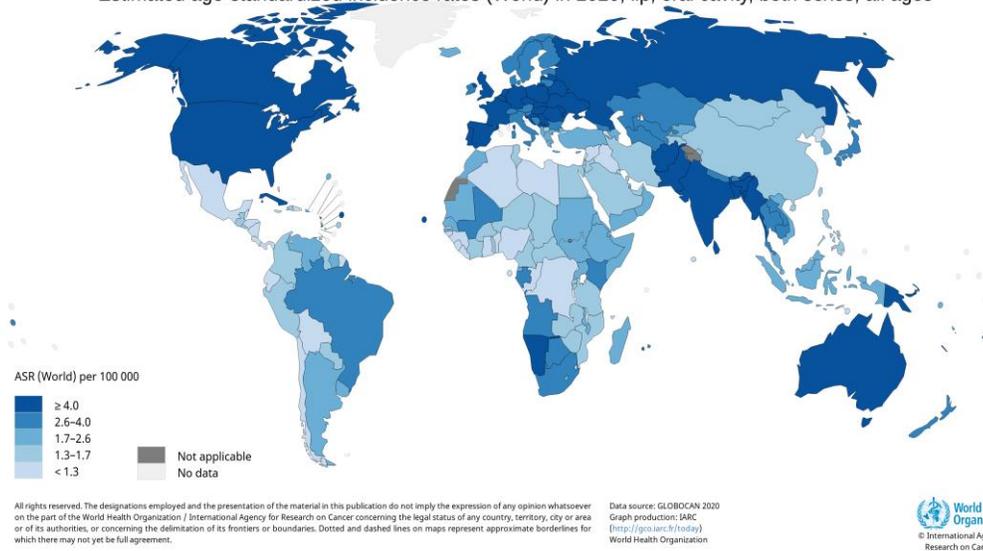


Figura 7. Incidencia del cáncer de cavidad oral entre ambos sexos expresada por nivel de tasa estandarizada por edad en el mundo. Tomada de Globocan, World Health Organization 2020.

De estas neoplasias, el grupo más frecuente lo constituyen los carcinomas no melanocíticos de la piel, con 11,803 casos (62%), el siguiente grupo es el constituido por las neoplasias malignas de las vías aerodigestivas superiores, con 2,269 casos (12%) (figura 8). (17)

Neoplasias malignas de las vías aerodigestivas superiores

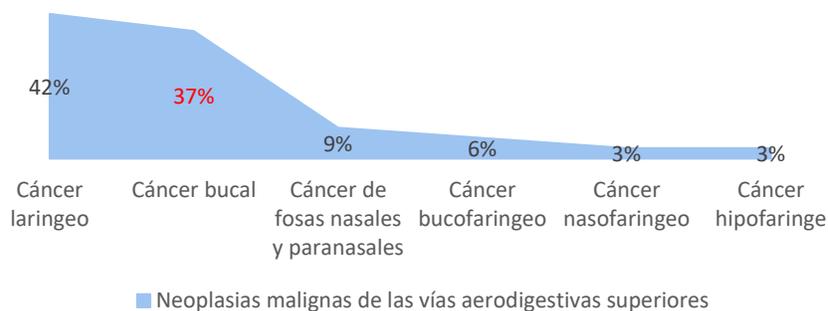


Figura 8. Distribución de los sitios específicos que conforman las neoplasias malignas de las vías aerodigestivas superiores. Tomada de Tirado L. et al 2007.



El CO ocurre en un amplio rango de edad, con una incidencia en la sexta y séptima década de vida, con una mediana de edad al momento del diagnóstico de 66 años para CO VPH negativo, 53 años para CO VPH positivo y 50 años para CO virus de Epstein Barr (VEB) positivo. Sin embargo, recientemente ha habido un aumento en la incidencia de CO en grupos de edad más jóvenes. Esto está parcialmente relacionado con el aumento del tabaquismo y el uso de otras drogas durante la juventud, así como la transmisión del VPH. (5,6,7)

En la mayoría de los países los hombres tienen un riesgo 2 a 4 veces mayor que las mujeres de desarrollar COCE, atribuido a factores de riesgo como el consumo de alcohol y tabaco, así como su período de exposición. Sin embargo, desde la década de 1950 hubo un aumento en la incidencia de CO en las mujeres, asociado con el aumento en el consumo de tabaco en este grupo. (5,6,7,10)

La tasa de supervivencia es de 5 años sin diferencia de género en el 50% de los casos, esto se debe en parte a la resistencia al tratamiento, que se cree es impulsada por poblaciones específicas de células troncales cancerosas (CTC). (10,18)

5.2 Factores de riesgo

La frecuencia de CO en la población mexicana ha aumentado en las últimas décadas, representando entre el 1% y el 5% de las neoplasias malignas. Su elevada incidencia está ligada a diferentes factores como el hábito de fumar, el consumo de alcohol, y la infección por el VPH, sin embargo, aunque estos sean los principales factores de riesgo, la etiología de dicha neoplasia es multifactorial y se han reconocido muchas causas adicionales. (5,19)



5.2.1 Tabaco

El consumo de tabaco es el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de lesiones premalignas y del COCE, ya que aproximadamente el 90% de los pacientes diagnosticados con CO informaron antecedentes de consumo de tabaco. (5,20)

El tabaco es un carcinógeno y un producto adictivo, el cual durante su combustión daña los tejidos, y está compuesto por más de 5,000 sustancias químicas diferentes, de las cuales docenas tienen actividad cancerígena, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, incluido el benzoapireno, y las nitrosaminas, incluida la 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona y N-nitrosornicotina, liberando moléculas cancerígenas, siendo perjudiciales localmente y favoreciendo la absorción de sustancias carcinógenas que combinadas provocan diferentes tipos de cáncer, entre ellos el COCE. (6,19,20,21)

La activación metabólica de carcinógenos da como resultado la formación de metabolitos reactivos que, si no se desintoxican y excretan, pueden dañar el DNA. (6)

El uso de productos de tabaco también se asocia con inflamación en los tejidos expuestos y la producción local de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento que desempeñan un papel importante en la promoción de la proliferación, la angiogénesis y en última instancia la carcinogénesis. (6)

Existe una estrecha correlación entre la duración, intensidad y frecuencia del tabaquismo y la tasa de desarrollo del CO en los pacientes. Los consumidores de tabaco tienen un riesgo 6 veces mayor de desarrollar cánceres de cavidad oral, orofaringe e hipofaringe, y un aumento de 10 veces en el desarrollo de cánceres de laringe, en comparación con las personas no fumadoras. (5,19)



El humo de cigarro recorre un amplio trayecto entre las mucosas de las cavidades oral y nasal, provocando efectos irritantes en estructuras y órganos continuos como son el sistema periodontal, faringe, laringe, senos paranasales y sistema aerodigestivo superior. (19)

Existe un efecto proporcional entre el tiempo de consumo del tabaco y el riesgo de COCE. Este riesgo puede reducirse después de dejar de fumar, pero no desaparece por completo (30% en los primeros 9 años y 50% para los mayores de 9 años). (21)

Entre algunas poblaciones de Asia y el Pacífico, el CO está asociado con la masticación de productos de nuez de areca, incluido el betel quid, término utilizado para una variedad de mezclas que incluyen la nuez de areca, hoja de betel, tabaco y especias según la costumbre de la región. En estos casos el carcinógeno dominante son las nitrosaminas, alcaloides y polifenoles los que provocan que la superficie de la mucosa sea susceptible a diversas infecciones virales y microbianas, las cuales pueden actuar como carcinógenos. (5,6,9)

El uso de productos de nuez de areca o betel quid está relacionado con tasas altas de CO en India, Taiwán y algunas provincias de China continental. (6)

Las personas que consumen el tabaco sin humo tienen un aumento estimado del 80% de riesgo de desarrollar CO. Estas tendencias de uso de diversas formas de tabaco se utilizan principalmente en países en desarrollo, principalmente asiáticos, incluyendo India, Pakistán, China y Taiwán. (5,9)

5.2.2 Alcohol

El consumo excesivo de alcohol es el segundo factor etiológico del COCE, este no ejerce por sí mismo un efecto carcinogénico, pero funciona como solvente para carcinógenos, aumentando la exposición de las células epiteliales a estas sustancias, y una vez ingerido es metabolizado a



acetaldehído, el primer metabolito del etanol, el cual es una sustancia mutagénica y cancerígena, aumentando el riesgo de desarrollar tumores malignos en la cavidad oral en mayor medida cuando se usa en combinación con el tabaco. (9,19)

El contacto del alcohol sobre las áreas de la mucosa y las vías aerodigestivas superiores, hace a la mucosa oral más susceptible a otros carcinógenos y permite el pasaje de sustancias dañinas, como los productos derivados de la combustión del tabaco, causando atrofia epitelial e interferencia en la síntesis y reparación del DNA. (19,22)

El consumo de alcohol a lo largo del tiempo puede provocar lesiones bucales como, desprendimiento del epitelio, ulceraciones en la mucosa, gingivitis, petequias y lesiones blancas, las cuales pueden malignizar, desarrollando CO. (20)

El consumo de alcohol y tabaco tiene un riesgo mayor de desarrollar COCE, ya que el hábito de fumar incrementa el factor de riesgo 6 veces más, y al asociarlo con el consumo de alcohol el riesgo se duplica. La displasia oral epitelial tiene un riesgo de transformación maligna del 36%. (6,12,19)

5.2.3 Virus del papiloma humano (VPH)

Los virus han estado implicados en el desarrollo de tumores malignos del epitelio escamoso. Las infecciones virales suelen ser responsables de inducir la transformación maligna al interferir en el ciclo celular del huésped. Estos genes virales pueden afectar el crecimiento y proliferación celular. (23)

Los tumores que surgen en la orofaringe están vinculados a una infección previa con cepas oncogénicas del VEB, el VPH y el virus del herpes simple. (6,23)



El VEB causa leucoplasia pilosa y “enfermedad linfoproliferativa” en pacientes inmunosuprimidos. La relación del VEB con el COCE aún no está clara. (23)

El VPH es un virus de transmisión sexual, que causa lesiones proliferativas benignas como papilomas, condiloma acuminado, verruga vulgar e hiperplasia epitelial focal. La infección por VPH está asociada con la mayoría de los cánceres orofaríngeos >70% y en menor grado con cánceres en otros sitios anatómicos de cabeza y cuello. (6,23)

Los VPH de alto riesgo (AR) están relacionados con el COCE y lesiones premalignas orales, principalmente el VPH-16, y en menor medida, el VPH-18, VPH-33, y el VPH-52. (6,19,23)

Los pacientes que padecen cáncer de cuello uterino tienen un mayor riesgo de desarrollar un tumor primario en sitios orofaríngeos, especialmente en las amígdalas y la base de la lengua, alrededor del 70-80% del carcinoma de orofaringe se debe a una infección por VPH-16. (9)

5.2.4 Susceptibilidad genética

La alta susceptibilidad al desarrollo del cáncer está estrechamente relacionada con diversas mutaciones genéticas humanas y polimorfismos genéticos. Por ejemplo, las personas con anemia de Fanconi, una enfermedad genética hereditaria rara caracterizada por una reparación deficiente del DNA, tienen un riesgo de 500 a 700 veces mayor de desarrollar HNSCC, principalmente cánceres de la cavidad bucal. (5,6)

Dentro de la susceptibilidad genética los protooncogenes tienen un papel importante ya que estos genes normales, debido a mutaciones, pueden convertirse en un agente inductor de tumores. La presencia de genes hereditarios del cáncer es una característica que predispone a una gran cantidad de tipos de cáncer en los seres humanos, entre ellos el COCE. Por



lo tanto, en estos pacientes, la exposición a ciertos carcinógenos u otros factores de riesgo coadyuva o potencia la probabilidad de presentar algún tipo de neoplasia. (5,19)

Las aberraciones cromosómicas y las modificaciones epigenéticas influyen constantemente en la expresión y función de algunos genes reguladores de tumores como p16 y p53. (9)

5.2.5 Dieta y nutrición

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha afirmado que la baja ingesta de frutas y verduras predispone a un mayor riesgo de desarrollo de cáncer. (23)

Se ha demostrado que ciertos grupos de alimentos están asociados con un mayor riesgo de CO, sin embargo, no existe una atribución a un ingrediente específico del alimento. Esto ha contribuido al estudio centrado en los macronutrientes y micronutrientes presentes en los alimentos. (23)

Se ha demostrado que ciertos micronutrientes disminuyen el riesgo de desarrollar CO, como vitaminas A, C y E; carotenoides, potasio y selenio. El β -caroteno, retinol, retinoides, vitamina C y la vitamina E, son antioxidantes esenciales para reducir las reacciones de los radicales libres que pueden causar mutaciones en el DNA, cambios en la actividad enzimática y peroxidación lipídica de las membranas celulares. (23)

Las deficiencias de vitaminas y minerales favorecen la aparición del cáncer de la cavidad bucal. La anemia ferropénica es la condición nutricional más asociada al cáncer bucal, debido al déficit de hierro, se encuentra una atrofia en la mucosa que, asociada a otros factores de riesgo incrementan la actividad mitótica y disminuyen la capacidad de reparación del epitelio.



También se acompaña de deficiencias de otros micronutrientes que favorecen la carcinogénesis bucal. (24)

Los estados de inmunodepresión relacionados con los trastornos nutricionales también favorecen el desarrollo del cáncer, debido a las dificultades del sistema inmune para proteger al cuerpo. (24)

6. CÉLULAS TRONCALES CANCEROSAS (CTC)

6.1 Células troncales (CT)

Las células troncales (CT) en condiciones de bienestar y homeostasis, son células indiferenciadas de larga vida, su principal característica que las define es la autorrenovación, mediante la cual las CT dan lugar a numerosos tipos de células maduras y conducen a la organogénesis. (21)

Las principales características de las CT son:

1. Diferenciación. Es la capacidad de dar lugar a una progenie heterogénea de células, que se especializan de acuerdo con un proceso jerárquico, necesarias para la función de los órganos. (25,26)
2. Autorrenovación. Es la capacidad de formar nuevas CT con un potencial idéntico de proliferación, autorrenovación y diferenciación, manteniendo la reserva de CT. (26)
3. Potencial proliferativo. Es la capacidad de modular y equilibrar la diferenciación y autorrenovación de acuerdo con los estímulos ambientales y limitaciones genéticas. (26)

Las CT dan lugar a varios linajes de células, esta propiedad es conocida como potencial de multilinaje o potencial de diferenciación. (25,27)

Existen dos tipos principales de CT, las células embrionarias y las células somáticas, también llamadas células troncales adultas (CTA) y se

clasifican jerárquicamente según su potencial de multilinaje, en cuatro tipos (figura 9). (25,27)

1. Totipotentes: Células que se encuentran en la fase de mórula y que son capaces de formar tejidos embrionarios y extraembrionarios.
2. Pluripotentes: Células troncales embrionarias (CTE) recolectadas de la masa celular interna del blastocisto y que forman las tres capas germinales de las cuales se generan tejidos y órganos.
3. Multipotentes: Células troncales somáticas (adultas) con capacidad de autorrenovación limitada y de las cuales se pueden tener un número limitado de células diferenciadas. En este rubro se encuentran las células troncales hematopoyéticas (CTH) y células troncales mesenquimales (CTM).
4. Unipotentes: Células troncales somáticas que solo podrán dar origen a un solo tipo celular y son de tejido específico.

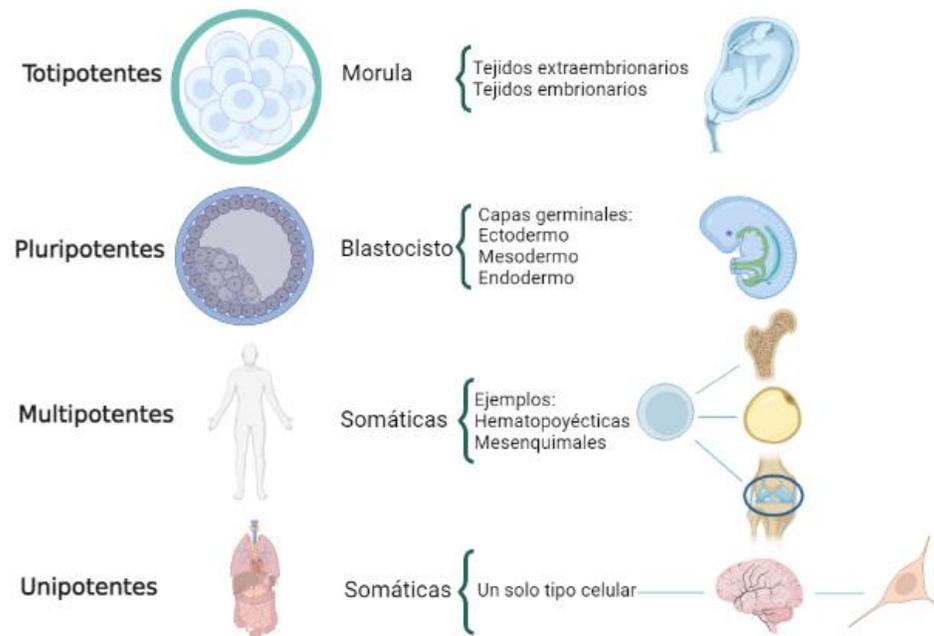


Figura 9. Clasificación de células troncales de acuerdo con su potencial de multilinaje. Realizado en BioRender.



Las CTA derivan de la médula ósea, sangre periférica, vasos sanguíneos, cerebro, músculo esquelético, epitelio del sistema digestivo, piel, córnea, retina, hígado y páncreas. (27)

Se dividen en:

1. CTH. Son la población de células troncales multipotentes que funcionan para generar todo tipo de células sanguíneas, mieloides y linfoides. (27)
2. CTM. Dan lugar a múltiples linajes mesenquimales como cartílago, hueso y grasa. Los principales reservorios de células mesenquimales incluyen, médula ósea, sangre periférica, tejido adiposo, pulmón y tejidos neonatales. (27)

Las CTM tienen tres características principales:

1. Capacidad para proliferar in vitro y diferenciarse en muchos tipos de células.
2. Propiedades de migración y localización a través de las cuales pueden llegar a los tejidos dañados.
3. Propiedades inmunomoduladoras; generando un microambiente inmunosupresor. (27)

6.2 Células troncales y factores Yamanaka

Las CTE se derivan de la masa celular interna del blastocisto, tienen la capacidad única de proliferar mientras mantienen la pluripotencia, es por eso por lo que se consideran fuentes prometedoras para terapias de trasplante de células para diferentes enfermedades intratables. Actualmente se están explorando dos tipos de CTE para uso clínico, las células troncales embrionarias humanas (hCTE) y las células troncales pluripotentes inducidas (iPTC). (28,29)

La reprogramación celular con CTA y CTE tuvieron un avance significativo en el año 2006, cuando Takahashi y Yamanaka publicaron la



reprogramación directa de una célula diferenciada sin afectar su integridad. Reprogramaron fibroblastos mediante la transducción de cuatro factores de transcripción denominados como “factores Yamanaka”: Oct3/4, SOX2, c-myc y Klf4. Es así como estos factores se documentan como piezas que juegan un papel importante en el mantenimiento de la identidad de las CTE, y en la inducción de pluripotencia en las CTA. (30,31)

6.3 Diferencias entre células troncales sanas y cancerosas

En el cáncer existen células similares a las CT que se encuentran en tejidos sanos, estas células presentes en neoplasias malignas se denominan CTC y son poblaciones de células con capacidad de iniciar un tumor y mantener su propiedad de autorrenovación. Esta población de células tiene un alto potencial ONCO y se cree que son responsables de las características biológicas del cáncer, así como de su crecimiento rápido, invasión y metástasis. (18,32)

A diferencia de las células troncales que se encuentran en homeostasis y equilibrio, las CTC presentan una autorrenovación desregulada, posiblemente por un aumento en la división simétrica generando una población creciente de CTC, favoreciendo así el incremento de la masa tumoral. Se observan también mutaciones genéticas con cambios epigenéticos que llevan a la desregulación de vías como NANOG, HEDGEHOG, NOTCH, etc, (vías presentes en CT asociadas al desarrollo embrionario), además que muestran una capacidad de diferenciación de multilinaje, generando tumores con poblaciones celulares heterogéneas con células parcialmente diferenciadas, indicando que las CTC producen tantos tipos celulares diferentes. Los reportes muestran que los xenoinjertos de estas células a ratones son capaces de generar un tumor, evento que no se observa en el trasplante de CT sanas. (25)

Tanto las CT en homeostasis como las CTC comparten marcadores de superficie celular y utilizan vías de señalización relacionadas con la troncalidad, sin embargo, las mutaciones de estas células modifican su



comportamiento biológico y la capacidad de alterar el nicho celular para favorecer su permanencia y supervivencia, dándoles una autorrenovación y diferenciación descontrolada, así como la capacidad de resistencia a quimioterapia, metástasis y recurrencia del tumor. (25)

6.4 Teorías del desarrollo del cáncer

Se ha sugerido que la evolución del HNC se produce a través de la acumulación de varias mutaciones genéticas, que son inducidas por diversos factores, sin embargo, no se comprende bien cómo las alteraciones de múltiples vías moleculares y celulares podrían producir el desarrollo y recurrencia del HNC. Existen modelos teóricos que sugieren como se originan los tumores y a la fecha se describen modelos diferentes, para explicar el desarrollo y crecimiento tumoral:

1. Modelo estocástico. También conocido como evolución clonal o modelo genético clonal del cáncer, postula que todas las células tumorales son biológicamente iguales, sin embargo, factores intrínsecos y extrínsecos afectan su comportamiento provocando una variabilidad. La adquisición de mutaciones y cambios epigenéticos a lo largo del tiempo da como resultado la capacidad a los clones celulares para volverse malignos. Este modelo propone al cáncer como una enfermedad de proliferación, por lo que, la transformación maligna se origina a partir de una mutación genética aleatoria que podría afectar a cualquier célula. (5,25)

2. El modelo de CTC, también conocido como modelo jerárquico es un modelo que postula que la oncogénesis se atribuye exclusivamente a las CTC, así como del desarrollo del tumor y del comportamiento maligno de una célula tumoral, incluidas la invasión y la metástasis. En otras palabras, plantea la existencia de diferentes clases de células, de las cuales cada una tiene su propia función y comportamiento, y solo un subconjunto de células puede iniciar la tumorigenicidad (figura 10). (5,25)

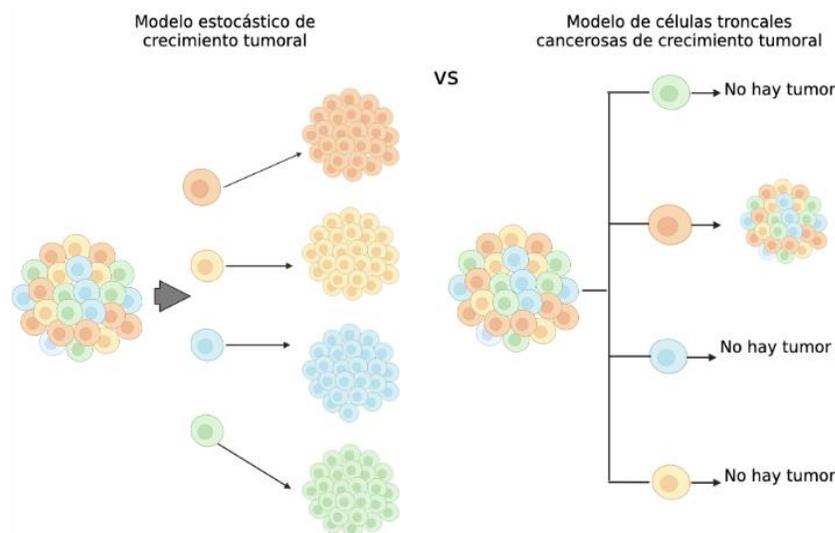


Figura 10. Modelos de heterogeneidad tumoral: Modelo estocástico vs Modelo de CTC. Tomada de Lathia J. D. et al 2017 y modificada en BioRender.

La investigación de estos modelos ha proporcionado información importante sobre los procesos que contribuyen a la oncogénesis. Las células tumorales son heterogéneas, se ha demostrado que las células del mismo tumor pueden diferir en su morfología, genética, marcadores de superficie celular, cinética de proliferación, tumorigenicidad y respuesta a la terapia. (25)

Otro modelo que explica el origen de las CTC bajo tres hipótesis (figura 11):

1. Modelo 1. Una CT sin alteraciones y específica de un tejido sufre alteraciones genéticas y epigenéticas para dar lugar a una CTC. Este modelo se basa en el hecho que las CT y CTC comparten atributos como la autorrenovación.

2. Modelo 2. Las CTC se originan a partir de CT que adquieren un fenotipo precanceroso durante la etapa de desarrollo.
3. Modelo 3. Las CTC se originan a partir de células tumorales maduras que se desdiferencian en una CT a través de modificaciones en las vías de señalización y los mecanismos reguladores. (33)

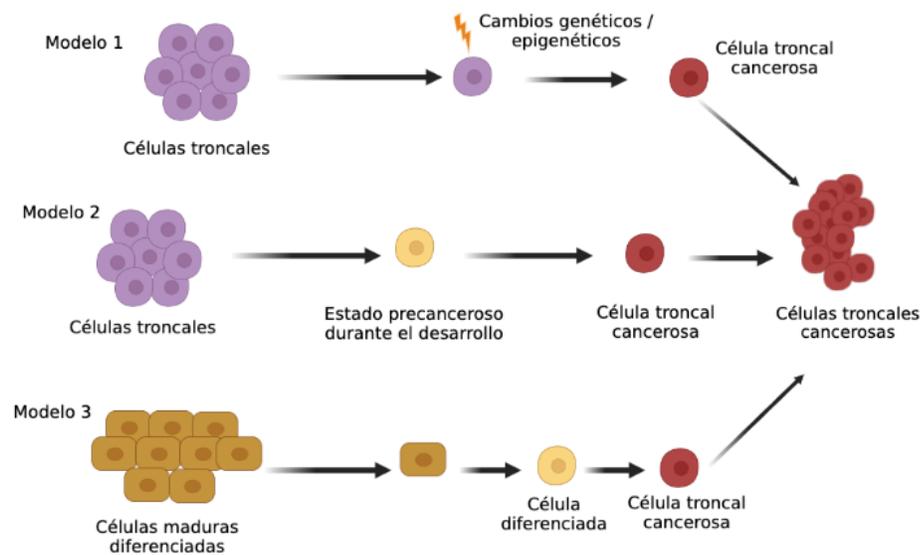


Figura 11. Origen de las CTC, descrita en tres teorías. Tomada de Simple M. et al 2015 y modificada en BioRender.

El COCE sigue siendo un problema creciente en el mundo. Los diversos tratamientos existentes no han mejorado la tasa de supervivencia durante las últimas tres décadas. Dado que las CTC son resistentes al tratamiento convencional, se requieren nuevas estrategias, para mejorar el tratamiento y el pronóstico de la enfermedad. (18,21)

Las investigaciones sugieren que las CTC son responsables de la génesis, crecimiento y diseminación metastásica de los tumores. Los malos resultados de supervivencia en los pacientes con COCE se atribuyen a una mala selección de células diana para el tratamiento, ya que las terapias actuales contra el COCE están dirigidas a la masa global de tumores. (21)



Los principales enfoques de terapia implican mejorar la sensibilización de las CTC a los fármacos, promover la diferenciación de las CTC, bloquear la vía de señalización y destruir los nichos de las CTC. Actualmente la identificación de biomarcadores es el principal avance para fines diagnósticos, pronósticos y terapéuticos. (18)

6.5 Biomarcadores en COCE

Una herramienta importante para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades como el COCE es el uso de biomarcadores, estos son fundamentales en el campo de la biomedicina, en aspectos tan destacados como la innovación de dispositivos con propósitos diagnósticos o el desarrollo de fármacos, sin embargo, el término biomarcador es muy ambiguo, por lo que la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y el Instituto Nacional de Salud (NIH) de los Estados Unidos en colaboración, crearon un grupo de trabajo y en el 2016 se publicó un documento, denominado “Biomarcadores, puntos finales y otras herramientas (BEST, por sus siglas en inglés) en este escrito, se describe a un biomarcador como “una característica definida que se mide como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas biológicas a una exposición o intervención, incluidas las intervenciones terapéuticas”, e incluso se indica que “los biomarcadores pueden incluir características moleculares, histológicas, radiográficas o fisiológicas”. También se indica que “un biomarcador no es una medida de cómo se siente, funciona o sobrevive un individuo”, y finalmente categorizan a los biomarcadores como de susceptibilidad/riesgo, diagnóstico, monitoreo, pronóstico, predictivo, de respuesta y de seguridad. (34,35)

El avance científico en la biomedicina tiene un campo de trabajo dedicado a la búsqueda de biomarcadores de cáncer con un enfoque de medicina personalizada con el fin de dar el mejor tratamiento para cada paciente, buscando que estos marcadores para el caso de cáncer sean



eficaces para en el diagnóstico temprano, que permitan evaluar la terapéutica empleada y que sean indicadores de pronóstico de la enfermedad. Dentro de la gama de marcadores de cáncer se encuentran proteínas y ácidos nucleicos, y de acuerdo con su eficacia se pueden describir como de alta, media o baja sensibilidad/especificidad. (36,37)

La búsqueda de marcadores con alta especificidad sigue, así como el descifrar el papel que desempeñan las CTC en la carcinogénesis, y su responsabilidad en el comportamiento tumoral durante su tratamiento. Existen evidencias contundentes de que estas células juegan un papel importante en la biología del tumor (38,39), y dado que Oct3/4 y SOX2 funcionan como genes que regulan la pluripotencia de las CT, se sugiere que son biomarcadores tumorales. (40)

6.6 Oct3/4 y SOX2 como biomarcadores en COCE

Octamer binding protein 4 (Oct3/4) es un factor de transcripción, miembro de la familia de factores de transcripción de dominio POU, localizado en el cromosoma 6p21.33. Participa en la embriogénesis y en el mantenimiento de la pluripotencia y autorrenovación de las CTE, expresada específicamente en células embrionarias y células germinales, la expresión aberrante de este gen en tejidos adultos se asocia con oncogénesis. (28,41,42)

La expresión de Oct3/4 es evidente en el núcleo y citoplasma de las células tumorales, y se expresa dentro de los nidos tumorales, el estroma peritumoral y los microvasos del estroma peritumoral (figura 12). (18,41)

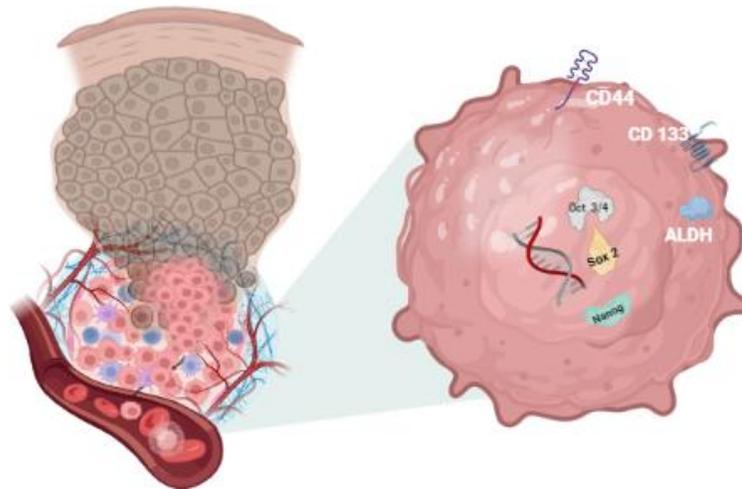


Figura 12. Representación de la localización subcelular de Oct3/4 en CTC. Tomada de Liu K.C. et al 2013 y modificada en Biorender.

Oct3/4 se utiliza como marcador de troncalidad de las células embrionarias, y también se ha relacionado con procesos oncogénicos, ya que promueve la iniciación tumoral al regular el proceso de EMT así como en la invasión y metástasis. (41,43)

La EMT es un proceso en el que una célula epitelial sufre múltiples cambios para transformarse en una célula con capacidad adicional para migrar e invadir la matriz extracelular. Se ha observado que las células que participan en este proceso presentan propiedades de células troncales, incluida la expresión de marcadores. De esta manera Oct3/4, se asocia a la invasividad de las células de COCE y se sugiere son predictores de metástasis. (6,32,42)

Las células tumorales pueden presentar EMT parcial, una adquisición parcial de marcadores o propiedades de EMT. Según análisis transcriptómicos de tumores de HNC se demostró que las células con EMT parcial se localizan en el borde de los tumores, y esto puede servir como predictor independiente de metástasis, grado tumoral y características patológicas perjudiciales. (6)

Por otra parte, SOX2 es un factor de transcripción descubierto en 1990 con dominio de unión al DNA, el gen que codifica esta proteína se localiza en la región determinante del sexo del cromosoma Y, denominado “gen Y de la región determinante del sexo” (Sry), ubicado en el cromosoma 3q26, perteneciente al grupo SOXB1 que codifica una proteína que consta de 317 aminoácidos. (11,32,44)

La proteína Sry se une a secuencias de DNA específicas con su dominio de grupo de alta movilidad (HMG), SOX2 se compone de tres dominios principales: N-terminal, HMG, y dominio de transactivación (figura 13). Actualmente se han encontrado 20 genes SOX diferentes en el genoma murino y humano, que a su vez se han dividido en subgrupos basados en la identidad de secuencia y funciones similares. (32,44)

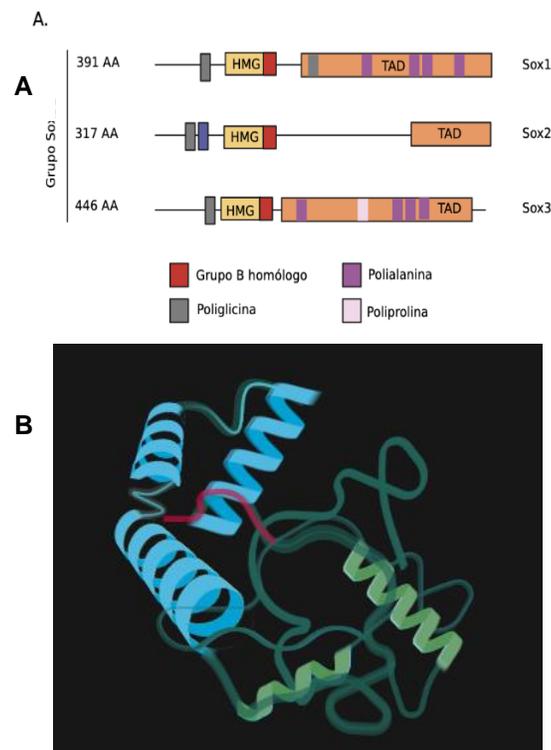


Figura 13. A. Esquema del grupo SOXB1 de la familia SOX, donde pertenece SOX2 junto con SOX1 y SOX3. B. Estructura cristalina de SOX2. Tomada de Novak D. et al. 2020 y modificada en BioRender.



SOX2 está involucrado en diferentes procesos del desarrollo embrionario, principalmente participa en la aparición de la masa celular interna pluripotente durante el desarrollo embrionario, después de este proceso la expresión de SOX2 es primordial en células germinales, endodermo, neuroectodermo, placodas sensoriales y arcos faríngeos. Gracias a la expresión de SOX2 junto a la proteína TBX6 se deriva el sistema nervioso central, la columna vertebral, la musculatura esquelética y la dermis, también participa en la formación de estructuras derivadas del ectodermo como el epitelio dental y el oído interno, y del endodermo deriva el cartílago traqueal, la emergencia de la yema pulmonar primaria, el desarrollo de las células sensoriales de las papilas gustativas de la lengua embrionaria y formación del estómago y esófago. (44)

SOX2 es el factor de transcripción más reconocido, involucrado en múltiples vías de transducción de señales que controlan la proliferación celular, migración, invasión, troncalidad, oncogénesis y anti-apoptosis, ubicado principalmente en el núcleo de la célula. (18,41)

Debido a su papel en la reprogramación de CTA a iCTP, es esencial para el desarrollo embrionario y juega un papel crucial en el mantenimiento de la pluripotencia de las CTE y CTA. (11,41,44)

En las últimas décadas, el pronóstico tanto en el diagnóstico como en el tratamiento para el COCE sigue siendo pobre. Estudios recientes han demostrado que las CTC con propiedades quimio o radio resistentes tienen un mayor potencial de iniciación tumoral y de crecimiento acelerado después de un tratamiento. (8)

Por lo que se ha puesto interés en el desarrollo terapéutico que pueda eliminar por completo las CTC para prevenir la recurrencia y metástasis de los tumores. Es donde surge la necesidad de identificar biomarcadores moleculares que puedan usarse para predecir la progresión de las lesiones

premaligñas del HNC, pronosticar la supervivencia, revelar nuevos objetivos para la intervención y predecir la respuesta a los agentes terapéuticos. (6,8)

Los mecanismos moleculares que regulan el inicio y la troncalidad tumoral aún son poco estudiados, en la última década, SOX2 y Oct3/4 se han utilizado como marcadores de células troncales indicativos del potencial proliferativo y se han establecido como distintivos del desarrollo del cáncer. Se ha estudiado que la expresión de SOX2 actúa como factor pronóstico en varios tipos de tumores, y como un vínculo entre malignidad y troncalidad. (21,32)

SOX2 controla varias características de las células cancerosas, como la proliferación, el crecimiento dependiente del anclaje, la EMT, la migración, invasión, metástasis, formación de esferas y colonias, tumorigénesis, formación de CTC, así como la resistencia a la apoptosis y a los fármacos (figura 14). (8,44)

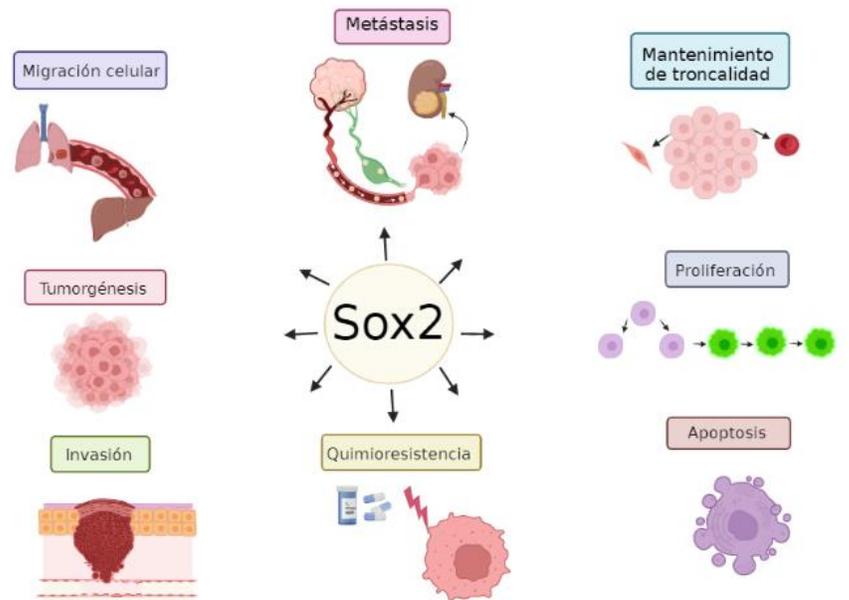


Figura 14. Funciones de SOX2 en el COCE. Tomada de Ren Z. H. et al. 2016 y modificada en BioRender.

El papel de SOX2 en el comportamiento del cáncer ha sido estudiado por muchos autores, Bass y colaboradores, demostraron que el gen SOX2 se amplifica en los carcinomas de células escamosas, lo que aumenta la



proliferación, el crecimiento independiente, troncalidad de las células, tumorigenicidad y radioquimiorresistencia de las células del COCE. (8,21,44)

Las mutaciones genéticas, las interacciones con el microambiente del tumor y la presencia de CTC configuran el tumor y afectan de manera crucial el progreso de la enfermedad, especialmente la respuesta a las medidas terapéuticas y el desarrollo de resistencias a los compuestos antitumorales. (44)

Los factores de transcripción SOX2 y Oct3/4 son marcadores pronósticos del COCE, la expresión de estos marcadores tiene una asociación con el grado del tumor del COCE. SOX2 se expresa dentro de los nidos tumorales, el estroma peritumoral y los microvasos dentro del estroma peritumoral, similar a Oct3/4. La expresión de SOX2 aumenta de manera aberrante e impulsa la progresión del cáncer, por lo tanto, el nivel de expresión de SOX2 es útil para la detección del cáncer en las primeras etapas de la enfermedad, y es crucial para lograr un pronóstico más preciso. (8,11,21,41,44)

6.7 Expresión de Oct3/4 Y SOX2 y estadificación de COCE

Las células del COCE con propiedades de CTC expresan niveles elevados de marcadores de CT como, Oct3/4, SOX2 y NANOG, y los niveles de estas proteínas se correlacionan con el grado tumoral en los cánceres orales. Por otro lado, se ha demostrado que el tejido sano adyacente a los tejidos tumorales y preneoplásicos tienen un aumento en la expresión de marcadores de CTC indicando cambios moleculares en una etapa temprana. (6,32,45,46)

El perfil de expresión de estos marcadores se analiza mediante un ensayo de inmunohistoquímica, la tinción de Oct3/4 Y SOX2 se evalúa de acuerdo el porcentaje de células tumorales que presentan tinción nuclear. La

puntuación de tinción se clasifica como expresión negativa o positiva (figura 15). (45,46)

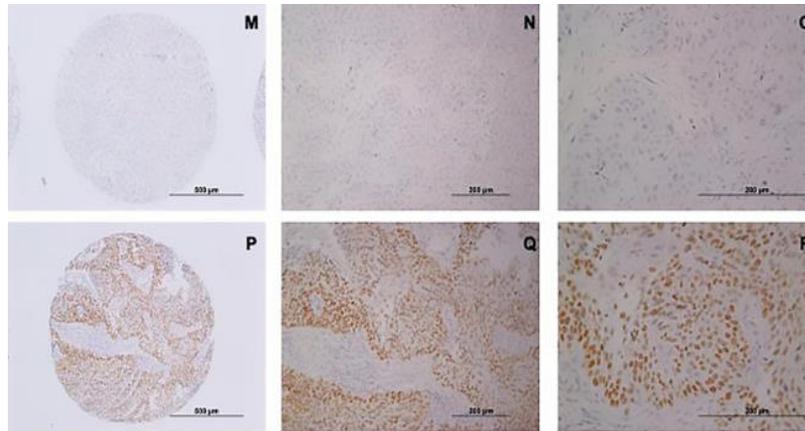


Figura 15. Ejemplificación de tinción SOX2 en muestras de HNC donde (M 100x, N 200x, O 400x) presentan tinción SOX2 nuclear negativa y (P 100x, Q 200x, R 400x) tinción SOX2 nuclear positiva. Tomada de Pedregal D. et al. 2020.

El papel de SOX2 en el COCE sigue siendo poco claro, Züllig y colaboradores demostraron que la baja expresión de SOX2 se asocia con un mal pronóstico y la alta expresión de SOX2 se asocia con un tamaño tumoral pequeño, ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos, un mejor pronóstico y también con un mejor resultado clínico en pacientes con HNC tratados con QRT. (46,47,48)

7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El COCE es una neoplasia que se estima incrementará para el 2030 en un porcentaje considerable, a pesar del avance científico, la tasa de supervivencia no ha mejorado, indicando que el pronóstico de supervivencia para estos pacientes es de 5 años, sin diferencia de género en el 50% de los casos. Uno de los objetivos de las investigaciones sobre esta enfermedad, es el contar con biomarcadores asociados a un pronóstico específico, así como mejorar las terapias médicas, con la finalidad de incrementar la supervivencia y calidad de vida, es por eso por lo que la búsqueda de nuevos blancos



moleculares es una estrategia para mejorar el diagnóstico, pronóstico y el manejo clínico de los pacientes.

8. JUSTIFICACIÓN

Si bien ya se ha reportado la presencia de marcadores como Oct3/4 y SOX2 en carcinoma de células escamosas de cavidad oral, no se describe de manera clara la asociación de estos marcadores con la estadificación de los tumores, y los datos que existen son contradictorios. Por ello, es necesario caracterizar la presencia de estos marcadores, en tumores con una estadificación establecida para determinar sus implicaciones para el pronóstico y supervivencia de los pacientes en México.

Por otra parte, debido a que la estimación de casos de pacientes con esta enfermedad se proyecta al alza, es importante identificar blancos moleculares específicos en cavidad oral, contribuyendo al saber científico, descifrando el papel de las CTC en el desarrollo de esta enfermedad.

Finalmente, la investigación del CO tiene dentro de sus objetivos la obtención de herramientas que permitan tener un diagnóstico temprano y métodos de tratamientos efectivos y personalizados, contribuyendo al bienestar de los pacientes.

9. HIPÓTESIS

Si la alta expresión Oct3/4 y SOX2 en estadios tempranos de la enfermedad se asocia a un mejor pronóstico y supervivencia, los pacientes con estadio avanzado presentarán una baja expresión de estos marcadores y un mal pronóstico en pacientes mexicanos.



10. OBJETIVOS

10.1 Objetivo general

Identificar la expresión de Oct3/4 y SOX2 y su asociación con estadio IV en pacientes con diagnóstico de COCE.

10.2 Objetivos específicos

1. Identificar las características generales de la población de estudio
2. Identificar la expresión de Oct3/4 y SOX2 mediante inmunohistoquímica en muestras de pacientes con diagnóstico de COCE en estadio IV
3. Análisis microscópico de la expresión Oct3/4 y SOX2 en las muestras teñidas por IHQ
4. Determinar la relación entre la expresión de Oct3/4 Y SOX2 con un estadio IV y la supervivencia de los pacientes.

11. MATERIAL Y MÉTODO

11.1 Material, reactivos y equipo

Material: laminillas electrocargadas (Kling On HIER; BIOCARE MEDICAL CA, USA) con cortes histológicos (realizados por histotecnólogo), portalaminillas, juego de coplin termorresistentes, cubreobjetos, puntas para micropipetas de 10 μ L, 200 μ L y 1000 μ L, tubos eppendorf, tubos clínicos 15 mL (Corning; Massachusetts, USA).

Reactivos: Xileno, alcohol etílico absoluto ACS y metanol anhidro (JT Baker; New Jersey USA); PBS 1X (0.14 M NaCl, 10 mM NaH₂PO₄, 10 mM Na₂HPO₄, 0.1% (w/v) pH 7.3); TBST 1X (tris: 20 Mm. NaCl: 150 mM, Tween® 20 detergent: 0.1% w/v); Buffer de citratos (10mM ácido cítrico, 0.05 Tween® 20 pH 7.3); Peróxido de hidrógeno (H₂O₂ [3%]); BSA (Sigma Aldrich. CA, USA) anticuerpo anti-Oct3/4, anticuerpos anti-SOX2 (Santa Cruz Biotechnology; Texas, USA); ultraView universal DAB Detection Kit, One drop of Copper (Roche, Basilea, Suiza); hematoxilina de Harris (Sigma Aldrich. CA, USA);



eosina amarillenta (hycel); resina de montaje (Entellan®, Sigma Aldrich. CA, USA); cubreobjetos (Corning Inc. Massachusetts, USA).

Equipos: horno (Felisa FE293), refrigerador (LG- 2°C a 24°C), microscopio (Zeiss Axiolab), micropipetas unicanal (Labnet, 0.5-2, 0.5-10, 10-100, 100-1000 μ L), balanza analítica (Clay Adam, 120g-0.001g/PW124), pHmetro (Hanna), agitador orbital magnético (thermo scientific cimarec).

11.2 Metodología

11.2.1 Tipo de estudio

Este estudio es retrospectivo, transversal y descriptivo, identificó la expresión de marcadores de troncalidad Oct3/4 y SOX2 en pacientes con diagnóstico de COCE y relacionó estos marcadores con estadio IV asignados durante el diagnóstico de carcinoma de células escamosas que se dictaminó en el Instituto Nacional de Cancerología.

11.2.2 Tipo y tamaño de la muestra

Se utilizó una cohorte integrada por 140 muestras retrospectivas a 5 años (periodo 2009 a 2013), de pacientes que fueron atendidos en el Departamento de Cabeza y Cuello del Instituto Nacional de Cancerología. El uso de estas muestras está autorizado por el comité de ética e investigación y el número que emitió el comité fue: INCAN/CI/674/17 con número de revisión (Rev/35/17).

11.2.3 Método de registro y procesamiento de datos

Se utilizó el expediente clínico de cada paciente con su respectiva biopsia de tejido tumoral incluidas en bloques de parafina. Con la información de los expedientes se creó una base de datos en Excel que contiene para cada caso: fecha de registro, sexo, edad, diagnóstico, estadificación, recurrencia, progresión, seguimiento y fecha de defunción, para determinar analizar las variables del estudio. Los datos



obtenidos fueron trasladados a SPSS V.20 para su procesamiento y análisis estadístico.

11.2.4 Variables y criterios de inclusión /exclusión

Se verificó previamente en la base de datos del Instituto Nacional de Cancerología, la certeza del diagnóstico histopatológico de COCE y se incluyeron muestras disponibles de pacientes femeninos y masculinos con diagnóstico de COCE mayores de 18 años de diferentes regiones anatómicas de la cavidad oral.

Las siguientes variables clínicas relacionadas con la neoplasia fueron consideradas para este estudio:

- a) Pacientes con tumores no tratados previamente con quimioterapia o radioterapia mayores a 18 años
- b) Estadificación: se seleccionaron casos que presenten el más alto grado de estadificación (IV)
- c) Supervivencia global.

Para los criterios de exclusión se contemplaron los bloques que correspondieran a cáncer de labio, con insuficiencia de muestra para realizar cortes histológicos, bloques que estuvieran seleccionados para otro estudio autorizado dentro del Instituto Nacional de Cancerología, así como aquellos que mostraron un proceso de conservación de la biopsia inadecuado.

11.2.5 Inmunohistoquímica

Se prepararon al menos tres secciones de tejido a partir de cada muestra con diagnóstico de COCE, fijadas con formalina e incluidas en parafina. Se obtuvieron secciones (4-5 μm) con un micrótomo convencional y se depositaron en portaobjetos cargados negativamente. En cada portaobjetos, se colocaron controles positivos y negativos junto con secciones de tejido. Para la inmunohistoquímica, las secciones de los portaobjetos se desparafinaron durante una hora a 65°C y se realizaron lavados con xilol y



posteriormente se lavaron con etanol. La recuperación antigénica se realizó con buffer de citratos. Cada sección se procesó para inmunodetección para detectar SOX2 y Oct3/4 con anticuerpos utilizando diluciones 1:100 para cada uno. Después de la tinción las laminillas se sometieron a montaje con resina y cubreobjetos.

Se procedió a realizar análisis por microscopía de la expresión SOX2 y Oct3/4, la cual se evaluó de acuerdo el porcentaje tumoral que presentó tinción. El registro de positividad o negatividad e intensidad al marcador se realizó utilizando el software ImageJ y siguiendo el protocolo ImageJ para microscopia y adecuando el procedimiento para inmunohistoquímica. Como base de referencia de intensidad de tinción se utilizaron tinciones mostradas para ambos anticuerpos en the Human Protein Atlas. (49)

11.2.6 Análisis estadístico

Se realizaron las curvas de supervivencia acumulada mediante el método de Kaplan-Meier utilizando la prueba de rango logarítmico. Se empleó un modelo de riesgos proporcionales de Cox para evaluar el impacto de la expresión de proteínas en la supervivencia.

12. RESULTADOS

12.1 Características generales de la población de estudio

De la cohorte de estudio la población seleccionada para este trabajo de investigación fue de 39 muestras. Se resume la información general a continuación (Tabla 4).

De la población de estudio el 46.1% son de sexo femenino, con edades de entre 35 a 90 años, y el 53.8% de la población son de sexo masculino con edades de entre 38 a 85 años.



Variable	N	(%)
EDAD		
30 a 59	8	20.5%
60 a 79	21	53.8%
80 a 90	10	25.6%
SEXO		
Masculino	21	53.8%
Femenino	18	46.1%
RECURRENCIA		
Si	13	33.3%
No	21	53.8%
Sin datos	5	12.8%
TABAQUISMO		
Si	19	48.7%
≤30 años de consumo	8	
>30 años de consumo	9	
No	16	41%
Sin datos	4	10.2%
ALCOHOLISMO		
Si	23	58.9%
≤30 años de consumo	5	
>30 años de consumo	5	
Social	8	
No	11	28.2%
Sin datos	5	12.8%
TRATAMIENTO		
RT	7	17.9%
QT/RT	17	43.5%
Sin tx	5	12.8%
Sin datos	10	25.6%
SUPERVIVENCIA		
Finado	14	35.8%
Vive	5	12.8%
Se desconoce	20	51.2%

Tabla 4. Variables de la población de estudio. RT- radioterapia. QT- quimioterapia. Sin tx – sin tratamiento.

El 36% de la población sin diferencia de género tienen 70 a 79 años, con una media de edad de 73 años, el 23% de la población está dentro de los 80 a 89 años, el 18% de la población entre los 60 a 69 años, el 13% de la población entre los 50 a 59 años, el 8% de la población está dentro de los 30 a 39 años y el 2% de la población está dentro de los 90 años (figura 16).

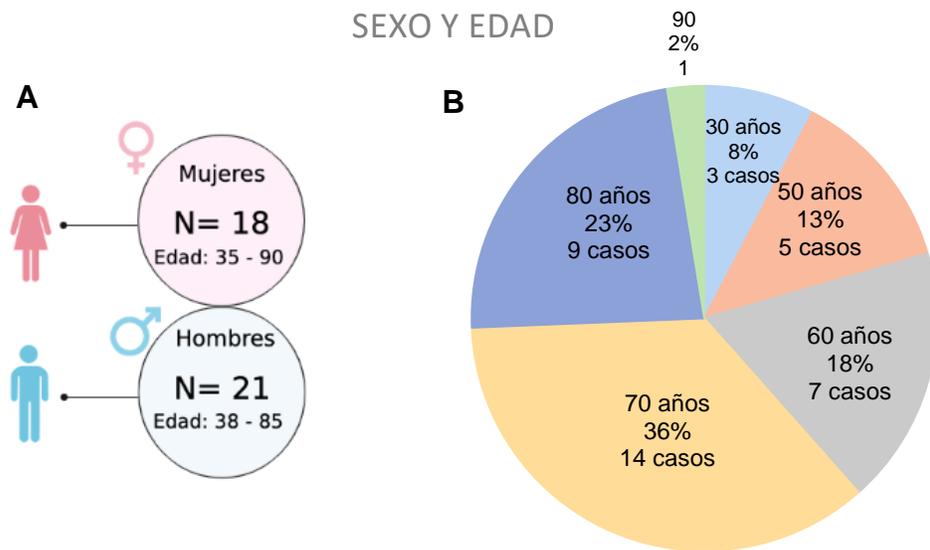


Figura 16. A. Gráfico por sexo de la población de estudio. B. Gráfico por edades de la población de estudio.

El sitio anatómico donde se presentó con mayor frecuencia el COCE fue en la lengua en el 46% de los casos, el segundo sitio con mayor frecuencia fue la encía con un 18% de los casos, el cáncer en el trígono retromolar, paladar y piso de boca se presentó cada uno en el 7.6% de la población, en el labio se presentó en un 5.1% de la población, en la mucosa yugal, amígdala e hipofaringe se presentó cada uno en un 2.5% de la población (figura 17).

SITIOS ANATÓMICOS

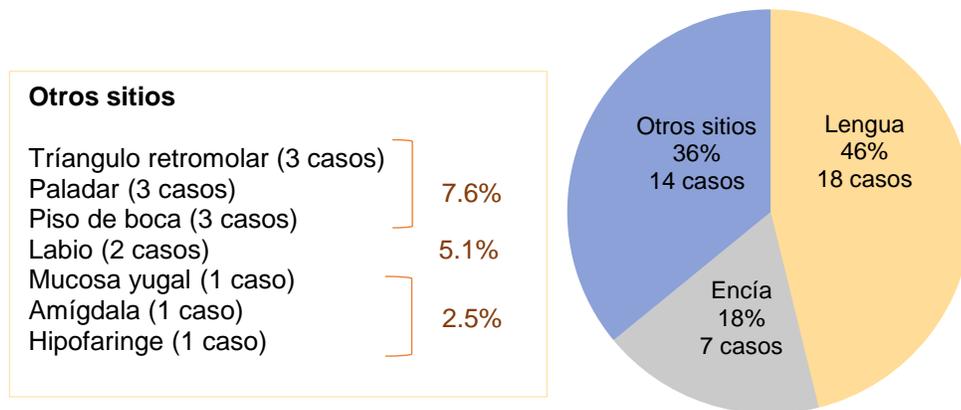


Figura 17. Sitios anatómicos donde se presentó el carcinoma oral de células escamosas en la población de estudio.

De la población de estudio, el estadio que se presentó con mayor frecuencia fue el IV en un 48%, seguido del estadio II en un 15%, el 10% de la población presentó estadio I y en el 27% de la población se desconoce el estadio (figura 18).

ESTADIFICACIÓN TNM

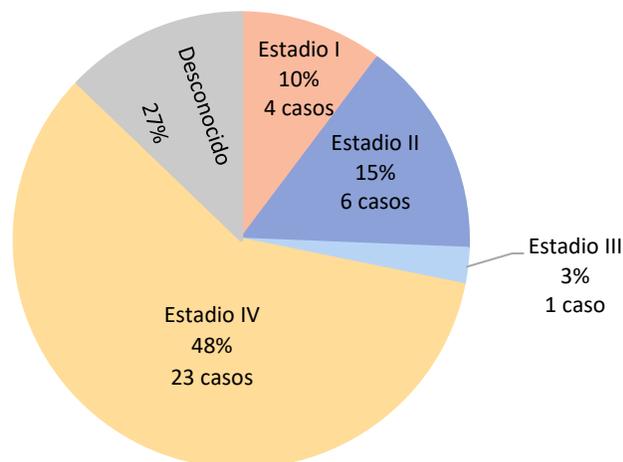


Figura 18. Estadificación TNM de la población de estudio.

La recurrencia del CO en la población se presentó en el 33% de los casos, por otro lado, el 54% de los casos no presentaron recurrencia, en el 13% de los casos se desconoce el dato.

En el 49% de los casos fueron consumidores de tabaco, de los cuales el 42% de la población lo consumió por menos o igual a 30 años, y el 7% de la población lo consumió por más de 30 años. En el 41% de la población niegan haber consumido tabaco y en el 10% de la población se desconoce el dato (figura 19 A).

En el 59% de los casos fueron consumidores de alcohol, de los cuales el 21.7% de la población lo consumió por menos o igual de 30 años, y el 2.6% de la población lo consumió por más de 30 años y en el 34.7% fue un consumo social. En el 28% de la población niegan haber consumido alcohol, y en el 13% de los casos se desconoce el dato (figura 19 B).

FACTORES DE RIESGO

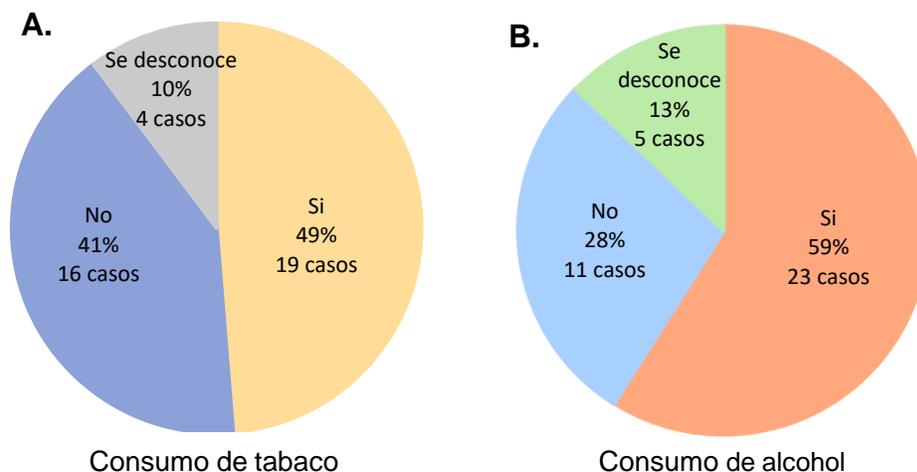


Figura 19. A. Gráfica representativa del consumo de tabaco de la población de estudio. B. Gráfica representativa del consumo de alcohol de la población de estudio.

De la población que no consume alcohol (28%) el 81.8% de los casos son de sexo femenino (figura 20).

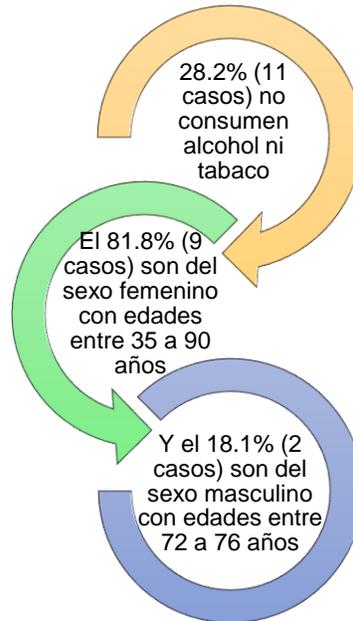


Figura 20. Casos donde no hay consumo de alcohol y tabaco, así como la distribución por sexo y edades.

La supervivencia de la población de estudio es del 10%, por otro lado, el 29% se reporta como finado y el 61% no se tiene el dato o se perdió el contacto, siendo 16 casos los que se reportaron por última vez como vivos (figura 21).



Figura 21. Supervivencia de la población de estudio.



Del 28% de la población que no consumió alcohol y tabaco fallecieron 4 pacientes con estadio IV, se reportaron 6 pacientes vivos y 1 paciente se desconoce la información (figura 22).

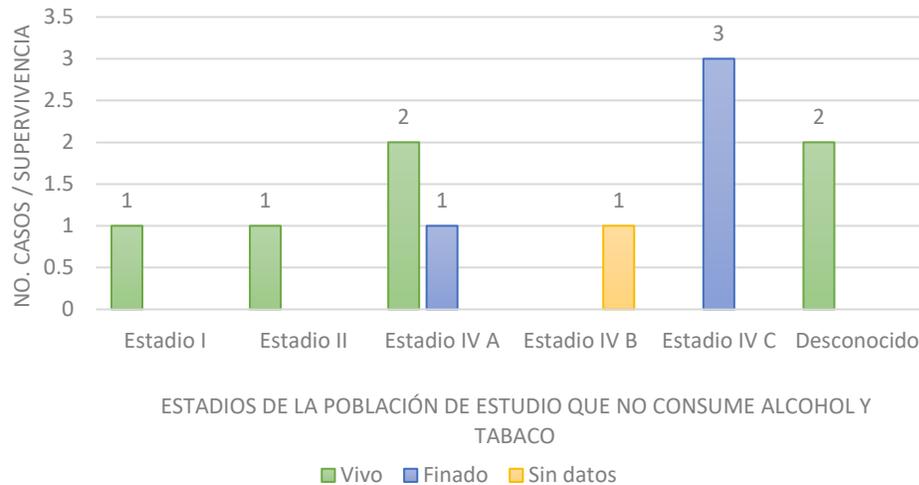


Figura 22. Gráfico de barras donde se representa la supervivencia de la población de estudio que no consume alcohol y tabaco.

12.2 Marcadores de troncalidad y supervivencia

De acuerdo con el análisis de la población de estudios y cumpliendo con los criterios de inclusión establecidos, se seleccionaron 10 casos en estadio T4 para identificar la expresión de SOX2 y Oct3/4.

El análisis por microscopia mostro tinción para SOX2 en tres de los diez casos evaluados y solo en dos casos para Oct3/4. La tinción para SOX2 y Oct3/4 fue nuclear tanto en el control positivo como en las muestras de COCE, sin embargo, en uno de los casos se observó tinción citoplasmática para Oct3/4 (figura 23). La intensidad fue de tenue a moderada y los porcentajes de expresión para ambos marcadores fueron menores a 21%.

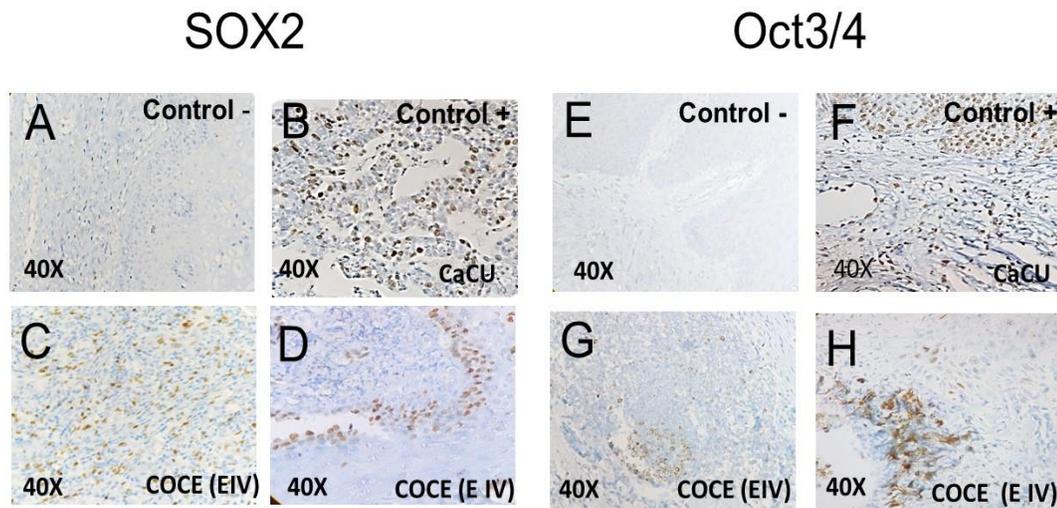
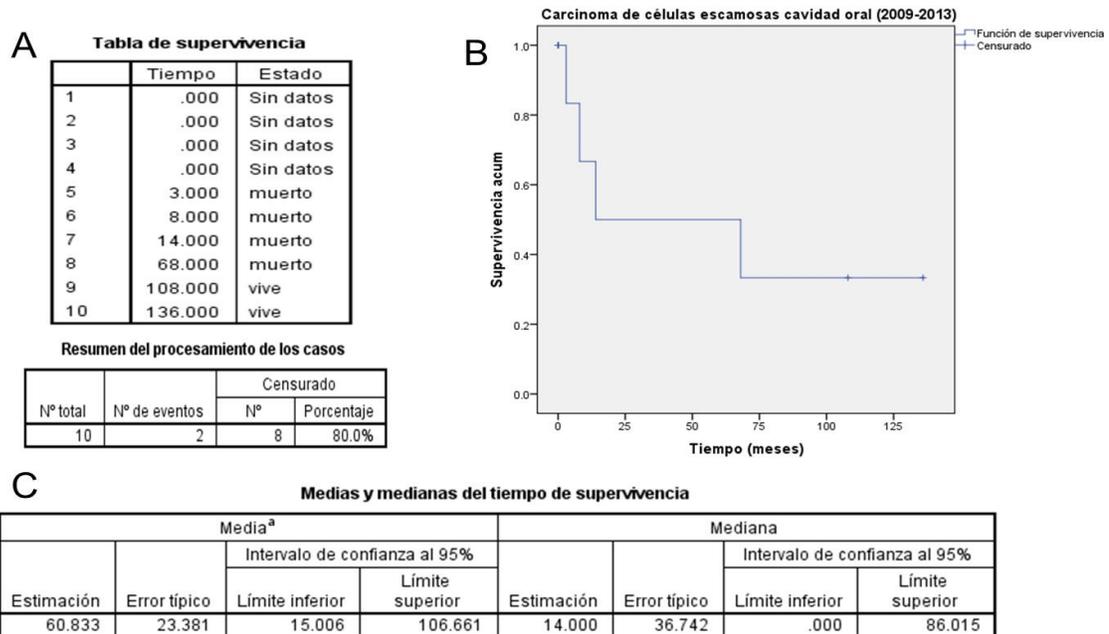


Figura 23. A y E. Control negativo. B y F. Carcinoma de células escamosas de cérvix (CaCU). C, D, G y H. Carcinoma de células escamosas (COCE) estadio IV (2 casos de 10). Las muestras fueron sometidas a tinción por inmunohistoquímica para identificar la expresión de SOX2 y Oct3/4.

El análisis de supervivencia para esta corte indica que la media global es de 60 meses, pero la mediana para estos casos fue de 14 meses lo que indica que el 50% de la población tuvo un periodo muy corto de supervivencia, sin embargo, hay dos casos que superan el promedio de vida reportado en las últimas dos décadas para esta enfermedad, en ambos casos no se encuentra una asociación o factor considerado en este estudio que indique ser el responsable de una supervivencia mayor para estos pacientes (figura 24).



a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

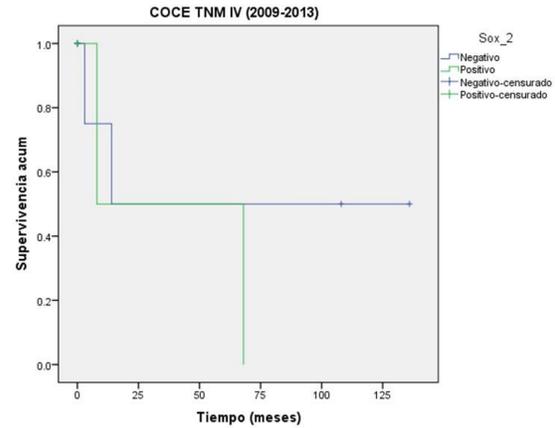
Figura 24. Análisis de supervivencia de una muestra de conveniencia de pacientes con COCE estadio IV (N=10). A. Tiempo en meses y estado de los pacientes. B. Curva de supervivencia. C. Estimación de supervivencia.

El análisis de la expresión de SOX2, mostró que el 30% de la población es positiva a este marcador y la supervivencia para los casos negativos muestra un periodo desde los 3 a los 136 meses, también se observa que en los casos positivos la supervivencia fue de 8 a 68 meses (figura 25).

La expresión de Oct3/4, en las muestras que tienen datos para calcular la supervivencia son negativos a este marcador al igual que el 90% de los casos totales, solo un caso resultó ser positivo a dicho marcador y presenta una supervivencia de 9 años. En cuanto a la mediana los datos no logran alcanzar la estimación debido al tamaño de la población de estudio (figura 26).

Tabla de supervivencia

TNM	Sox_2	Tiempo	Estado	
ETAPA IV	Negativo	1	.000	Sin datos
		2	.000	Sin datos
		3	.000	Sin datos
		4	3.000	muerto
		5	14.000	muerto
		6	108.000	vive
		7	136.000	vive
	Positivo	1	.000	Sin datos
		2	8.000	muerto
		3	68.000	muerto



Medias y medianas del tiempo de supervivencia

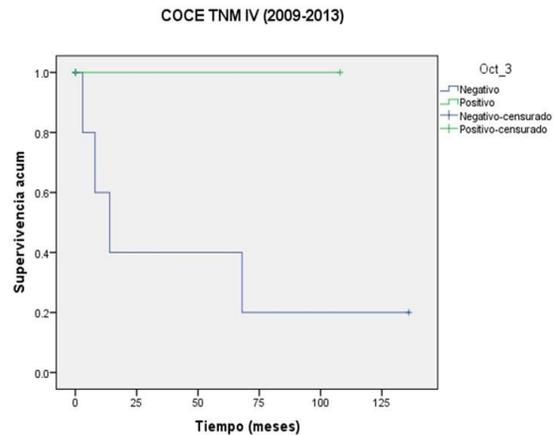
TNM	Sox_2	Media ^a				Mediana			
		Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%		Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
ETAPA IV	Negativo	72.250	31.934	9.659	134.841	14.000	.	.	.
	Positivo	38.000	30.000	.000	96.800	8.000	.	.	.
	Global	60.833	23.381	15.006	106.661	14.000	36.742	.000	86.015
Global	Global	60.833	23.381	15.006	106.661	14.000	36.742	.000	86.015

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

Figura 25. Supervivencia y su relación con SOX2 en una muestra de conveniencia de pacientes con COCE estadio IV (N=10).

Tabla de supervivencia

TNM	Oct_3	Tiempo	Estado	
ETAPA IV	Negativo	1	.000	Sin datos
		2	.000	Sin datos
		3	.000	Sin datos
		4	3.000	muerto
		5	8.000	muerto
		6	14.000	muerto
		7	68.000	muerto
		8	136.000	vive
	Positivo	1	.000	Sin datos
		2	108.000	vive



Medias y medianas del tiempo de supervivencia

TNM	Oct_3	Media ^a				Mediana
		Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%		Estimación
				Límite inferior	Límite superior	
ETAPA IV	Negativo	136.000	.000	136.000	136.000	136.000
	Positivo	108.000	.000	108.000	108.000	108.000
	Global	122.000	14.000	94.560	149.440	108.000
Global	Global	122.000	14.000	94.560	149.440	108.000

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

Figura 26. Supervivencia y su relación con Oct3/4 en una muestra de conveniencia de pacientes con COCE estadio IV (N=10).



13. DISCUSIÓN

En la actualidad el COCE ha reportado mundialmente un aumento importante en su prevalencia dentro de los últimos años, por lo cual se ha buscado diferentes técnicas para bajar la incidencia del CO. (32) En la cohorte de estudio que analizamos los datos obtenidos indican una consistencia a lo reportado en otras investigaciones, donde el sexo masculino prevalece al igual que factores de riesgo como alcohol y tabaco pero también se observa una menor población que no se asocia a ninguno de estos dos factores, posiblemente el desarrollo de su enfermedad este asociado a la presencia del VPH de alto riesgo. Un dato importante en esta población es la presencia de pacientes con una edad menor a lo establecido para esta enfermedad teniendo pacientes que presentaron la enfermedad a los 35 años.

Estudios recientes se han centrado en las vías moleculares que conducen al inicio y progresión tumoral del cáncer, (32) siendo las CT los objetivos más comunes de la transformación genética generando poblaciones de CTC. Los estudios sobre el desarrollo de diferentes tipos de cáncer han demostrado que en el tejido normal adyacente a los tejidos tumorales y preneoplásicos ha aumentado la expresión de marcadores de CTC que indican los cambios moleculares tempranos en las células normales adyacentes al tumor y el posible papel de las CTC en el proceso de la carcinogénesis. Con el fin de verificar si la expresión de marcadores de troncalidad se asocia de manera contundente con la estadificación del COCE, buscamos la expresión de SOX2 y Oct3/4, y nuestros datos arrojaron que para Oct3/4, el 90% de las muestras son negativas a este marcador, pero encontramos un número mayor de casos positivos a SOX2 en estadio IV. Si bien el tamaño de población de estudio seleccionado para la tinción es bajo, los datos obtenidos refuerzan lo descrito por otros autores que describen que los marcadores de CTC podrían mejorar la precisión del diagnóstico de la enfermedad. (45)



La expresión de SOX2 y Oct3/4 está implicado en la transformación primaria y carcinogénesis de tumores escamosos en proceso de hiperplasia y displasia, por lo tanto, el aumento de la expresión de estos biomarcadores en los tejidos adyacentes no tumorales puede indicar cambios moleculares primarios similares a los que ocurren en los tejidos preneoplásicos. (45) En la literatura se ha registrado la expresión de SOX2 y Oct3/4 en el COCE, reportando resultados variables, donde la expresión de estos marcadores de troncalidad se ha asociado a estadios tempranos y su ausencia en estadios tardíos de la enfermedad y por lo tanto mejor supervivencia para el paciente. (32) La expresión que identificamos en nuestros experimentos para el caso de Oct3/4 refuerza estos datos, sin embargo, difieren de lo encontrado para SOX2 que se reporta como un marcador de estadios tempranos de la enfermedad ya que nosotros encontramos la expresión de este marcador en estadio tardío, sin embargo el porcentaje de expresión fue menor al 21% y la intensidad en la mayoría de los casos fue tenue, una posible explicación de la expresión de este marcador es debido al tamaño del tumor y la intervención de un mecanismo asociado a la activación de estos marcadores de células troncales cancerosas y su papel en la metástasis.

Estudios sobre HNSCC han demostrado una asociación significativa entre la expresión de SOX2 y la metástasis en los ganglios linfáticos. (50,21) Sin embargo, hay pocos estudios que informen la relación entre la expresión de SOX2 y el estadio tumoral, la metástasis linfática o la metástasis a distancia en este tipo de cáncer. Nichols et al en 1998 demostró que SOX2 tiene dos patrones de tinción citoplasmática conocidos como diseminado y periférico, siendo el patrón diseminado el asociado con la metástasis. (51) Züllig et al en 2013 sugirió que la expresión de SOX2 es un indicador de la ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales en el CO. (52) Fu et al en 2016 evaluó la expresión de Oct3/4 y SOX2 usando inmunohistoquímica en el CO y mostró que la expresión aumentaba con la disminución del tamaño y el estadio



del tumor, así como con la ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos. (48) Sería importante evaluar si esta población de estudio presenta metástasis.

Respecto a la expresión diferencial de SOX2 y Oct3/4 en nuestro estudio se ha observado que SOX2 por sí mismo puede actuar como un marcador potencial de células tumorales como también lo han reportado otras investigaciones. (32)

Por otra parte las tasas de supervivencia para nuestra población mantiene una media de 5 años de supervivencia pero observamos casos en los que la supervivencia es de un año y dos meses, esto concuerda con los datos descritos en los que se considera que el resultado clínico, incluido la supervivencia general y la supervivencia libre de enfermedad, dependen en gran medida del tamaño del tumor, la diseminación loco regional, los márgenes de resección, la extensión extracapsular, la invasión linfovascular y la diseminación sistémica. A pesar de los continuos avances en las opciones de tratamiento, la supervivencia de los pacientes con COCE apenas ha mejorado, siendo de entre 3 a 5 años. (46,48,53,54) En el caso de la asociación de los marcadores con la supervivencia, la expresión negativa de Oct3/4, muestra un dato más robusto media de supervivencia mayor a los 9 años, sin embargo, la población seleccionada es baja por lo que es importante escalar este estudio a una población mayor.

14. CONCLUSIÓN

Finalmente, el cáncer oral de células escamosas de la cavidad oral en nuestra población de estudio mantiene un comportamiento similar a lo reportado en las últimas dos décadas, en otras poblaciones, desafortunadamente los avance biomédicos no han mostrado aún un impacto importante en la supervivencia para estos paciente, un dato interesante de destacar es que observamos una discreta cifra en la que la supervivencia de los pacientes supera los 9 años, sin embargo, estos casos no son significativos, pero sería importante evaluar todas las variables para identificar



algún indicio de este incremento importante en la supervivencia de estos pacientes y determinar en una población mayor de estudio el comportamiento en la expresión de estos marcadores de células troncales cancerosas y fundamentar por completo el uso de estas proteínas como marcadores diagnóstico y pronóstico de la enfermedad con la finalidad de buscar mejores alternativas de tratamiento para los pacientes que son diagnosticados con carcinoma oral de células escamosas.



15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sánchez C. Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cancer. Rev. Med. Clin. Condes. Publicación periódica en línea Jul 2013, 553-562. Hallado en: doi.10.1016/S0716-8640(13)70659-X
2. Organización Mundial de la Salud 2021. Cáncer Sitio en internet. Hallado en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
3. Hanahan D, Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. Publicación periódica en línea Mar 2011, 144-646. Hallado en: doi.10.1016/j.cell.2011.02.013
4. De León J, Pareja A. Inmunología del cáncer II: bases moleculares y celulares de la carcinogénesis. Horiz. Med. Publicación periódica en línea Abr 2019, 84-92 Hallado en: doi.10.24265/horizmed.2019.v19n2.11
5. Elkashty O. A., Ashry R, Tran S. D. Head and neck cancer management and cancer stem cells implication. The Saudi Dental Journal. Publicación periódica en línea Oct 2019, 395-416. Hallado en: doi.10.1016/j.sdentj.2019.05.010
6. Johnson D. E., Burtneß B, Leemans C. R., Lui V, Bauman J. E., Grandis J. R. Head and neck squamous cell carcinoma. Nat Rev Dis Primers. Publicación periódica en línea Nov 2020, 6(1),92. Hallado en: doi.10.1038/s41572-020-00224-3
7. Abram M. H., van Heerden W. F. P., Rheeder P, Girdler B. V., van Zyl A. W. Epidemiology of oral squamous cell carcinoma. SADJ. Publicación periódica en línea Nov 2012, 67(10):550-3. Hallado en: PMD 23957093
8. Chou M. Y., Hu F. W., Yu C. H., Yu C. C. SOX2 expression involvement in the oncogenicity and radiochemoresistance of oral cancer stem cells. Oral Oncol. Publicación periódica en línea Ene 2015, 51(1):31-9. Hallado en: doi.10.1016/j.oraloncology.2014.10.002
9. Malik U. U., Zarina S, Pennington S. R. Oral squamous cell carcinoma: Key clinical questions, biomarker discovery, and the role of proteomics. Arch



Oral Biol. Publicación periódica en línea Mar 2016, 63:53-65. Hallado en: doi.10.1016/j.archoralbio.2015.11.017

10. Feller L, Lemmer J. Oral squamous cell carcinoma: Epidemiology, clinical presentation, and treatment. Journal of Cancer Therapy. Publicación periódica en línea Ago 2012, Vol.3 No. 4 263-268. Hallado en doi.10.4236/jct.2012.34037

11. Vicente de J. C., Pérez de P. D., Rodrigo J. P., Allonca E, Hermida F, Granada R, Rodríguez T, García J. M. SOX2 Expression is an independent predictor of oral cancer progression. J. Clin. Med. Publicación periódica en línea Sept 2019 8(10), 1744. Hallado en: doi.10.3390/jcm8101744

12. Montero P. H., Patel S. G. Cancer of the oral cavity. Surg Oncol Clin N Am. Publicación periódica en línea Jul 2015 24(3):491-508. Hallado en: doi.10.1016/j.soc.2015.03.006

13. Gupta S, Jawanda M. K. Oral submucous fibrosis: An overview of a challenging entity. Indian J Dermatol Venereol Leprol. Publicación periódica en línea Dec 2021, 87(6):768-777 Hallado en: doi.10.25259/IJDVL_371_20

14. Gupta S, Jawanda M. K. Oral lichen planus: An update on etiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and management. Indian J Dermatol. Publicación periódica en línea Jun 2015, 60(3):222-9. Hallado en: doi.10.4103/0019-5154.156315

15. American Cancer Society 2015. Estadificación del cáncer. Sitio en internet. Hallado en: <https://www.cancer.org/es/tratamiento/como-comprender-su-diagnostico/estadificaciondelcancer.html>

16. Globocan, World Health Organization. 2020 Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2020, lip, oral cavity, both sexes, all ages. Sitio en internet. Hallado en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=population&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=1&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=0&include_nmsc=1&include_nmsc_other=



1&projection=natural-

earth&color_palette=default&map_scale=quantile&map_nb_colors=5&continent=0&show_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D

17. Tirado L, Granados M. Epidemiología y etiología del cáncer de la cabeza y el cuello. *Cancerología*. Publicación periódica en línea 2007, 9-17. Hallado en: [http://incan-](http://incan-mexico.org/revistainvestiga/elementos/documentosPortada/1181662434.pdf)

[mexico.org/revistainvestiga/elementos/documentosPortada/1181662434.pdf](http://incan-mexico.org/revistainvestiga/elementos/documentosPortada/1181662434.pdf)

18. Liu K. C., Lin B. S., Zhao M, Yang X, Chen M, Gao A, Que J, Lan X. P. The multiple roles for SOX2 in stem cell maintenance and tumorigenesis. *Cell Signal*. Publicación periódica en línea Dec 2013, 25(5):1264-71. Hallado en: [doi.10.1016/j.cellsig.2013.02.013](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.02.013)

19. Fuentes de la J, Muñoz P, Patrón C. E., Ramírez M. A., Rojas H. J., Acosta L. S. Aumento de la incidencia de carcinoma oral de células escamosas. *Salud (i) Ciencia*. Publicación periódica en línea May 2014, 636-642. Hallado en: <https://www.siicsalud.com/dato/sic/206/139637.pdf>

20. García V, Bascones A. Cáncer oral: Puesta al día. *Av. Odontoestomatol*. Publicación periódica en línea. Oct 2009, 25(5):239-248. Hallado en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852009000500002&lng=es

21. Ren Z. H., Zhang C. P., Ji T. Expression of SOX2 in oral squamous cell carcinoma and the association with lymph node metastasis. *Oncol Lett*. Publicación periódica en línea Mar 2016, 1973-1979. Hallado en: [doi.10.3892/ol.2016.4207](https://doi.org/10.3892/ol.2016.4207)

22. Rivera C. Essentials of oral cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. Publicación periódica en línea. Sep 2015, 1;8(9):11884-94. Hallado en: PMID:26617944

23. Kumar M, Nanavati R, Modi T. G., Dobariya C. Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *J Cancer Res Ther*. Publicación periódica en línea Jun 2016, 458-463. Hallado en: [doi.10.4103/0973-1482.186696](https://doi.org/10.4103/0973-1482.186696)

24. Miguel P. A. , Niño A, Batista K, Miguel P.E. Factores de riesgo de cáncer bucal. *Rev Cubana Estomatol*. Publicación periódica en línea Sep



- 2016, 53(3):128-145. Hallado en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072016000300006&lng=es
25. Lathia J. D., Liu H. Overview of cancer stem cells and stemness for community oncologists. *Target Oncol.* Publicación periódica en línea Ago 2017, 387-399. Hallado en: doi.10.1007/s11523-017-0508-3
26. Dalerba P, Cho R. W., Clarke M. F. Cancer stem cells: models and concepts. *Annu Rev Med.* Publicación periódica en línea 2007, 58:267-84. Hallado en: doi.10.1146/annurev.med.58.062105.204854
27. Pérez L. M., Lucas de B, Gálvez B. G. Unhealthy stem cells: When health conditions upset stem cell properties. *Cell Physiol Biochem.* Publicación periódica en línea 2018 Apr. Hallado en: doi.10.1159/000489440
28. Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient – specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* Publicación periódica en línea Jun 2007, 1(1):39-49. Hallado en: doi.10.1016/j.stem.2007.05.012
29. Yamanaka S. Pluripotent stem cell – based cell therapy – Promise and challenges. *Cell Stem Cell.* Publicación periódica en línea Oct 2020, 1;27(4):523-531. Hallado en: doi.10.1016/j.stem.2020.09.014
30. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* Publicación periódica en línea Ago 2006, 126(4):663-76. Hallado en: doi.10.1016/j.cell.2006.07.024
31. Muñoz L, Concha M. L. Celulas troncales en el desarrollo y las perspectivas de reprogramación celular para la regeneración. *Int J Morphol.* Publicación periódica en línea Dic 2012, 30(4):1343-1347. Hallado en: doi.10.4067/S0717-95022012000400015
32. Vijayakumar G, Narwal A, Kamboj M, Sen R. Association of SOX2, OCT4 and WNT5A expression in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *Head Neck Pathol.* Publicación



periódica en línea Sep 2020, 14(3):749-757. Hallado en: doi.10.1007/s12105-019-01114-1

33. Simple M, Suresh A, Das D, Kuriakose M. A. Cancer stem cells and field cancerization of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* Publicación periódica en línea Jul 2015, 51(7):643-51. Hallado en: doi.10.1016/j.oraloncology.2015.04.006

34. Califf R.M. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood).* Publicación periódica en línea Feb 2018, 243(3):213-221. Hallado en: doi.10.1177/1535370217750088

35. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools). Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); 2016. Sitio en Internet. Hallado en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>

36. Hristova V.A, Chan D.W. Cancer biomarker discovery and translation: proteomics and beyond. *Expert Rev Proteomics.* Publicación periódica en línea Feb 2019,16(2):93-103. Hallado en: doi.10.1080/14789450.2019.1559062

37. Barba EJR. Laboratorio clínico y oncología: De los aspectos básicos del cáncer a los tumores más frecuentes y la utilidad de los marcadores tumorales como métodos diagnósticos. *Rev Mex Patol Clin Med Lab.* Publicación periódica en línea 2013, 60(3):166-196. Hallado en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=44866>

38. Herrington C.S, Poulosom R, Koeppen H, Coates P.J. Recent Advances in Pathology: the 2021 Annual Review Issue of The Journal of Pathology. *J Pathol.* Publicación periódica en línea Apr 2020, 250(5):475-479. Hallado en: doi.10.1002/path.5687

39. Galland S, Stamenkovic I. Mesenchymal stromal cells in cancer: a review of their immunomodulatory functions and dual effects on tumor progression. *J Pathol.* Publicación periódica en línea Apr 2020, 250(5):555–572. Hallado en: doi.10.1002/path.5357



40. Fuławka Ł, Donizy P, Hałoń A. Yamanaka's factors and core transcription factors--the molecular link between embryogenesis and carcinogenesis. *Postepy Hig Med Dosw.* Publicación periódica en línea Jun 2014, 5;68:715-21. Hallado en: doi.10.5604/17322693.1107325
41. Varun B. R., Jayanthi P, Ramani P. Cancer stem cells: A comprehensive review on identification and therapeutic implications. *J Oral Maxillofac Pathol.* Publicación periódica en línea Abr 2020, 24(1):190. Hallado en: doi.10.4103/jomfp.JOMFP_336_19
42. Tsai L. L., Hu F. W., Lee S. S., Yu C. H., Yu C. C., Chang Y. C. OCT4 mediates tumor initiating properties in oral squamous cell carcinomas through the regulation of epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One.* Publicación periódica en línea Ene 2014, 27;9(1):e87207. Hallado en: doi.10.1371/journal.pone.0087207
43. Baillie R, Tan S. T., Itinteang T. Cancer stem cells in oral cavity squamous cell carcinoma: A review. *Front Oncol.* Publicación periódica en línea Jun 2017, 2;7:112. Hallado en: doi.10.3389/fonc.2017.00112
44. Novak D, Hüser L, Elton J. J., Umansky V, Altevogt P, Utikal J. SOX2 in development and cancer biology. *Semin Cancer Biol.* Publicación periódica en línea Dec 2020, 67(Pt1):74-82. Hallado en: doi.10.1016/j.semcan.2019.08.007
45. Naini F. B., Shakib P. A., Abdollahi A, Hodjat M, Mohammadpour H, Khoozestani N. K. Relative expression of OCT4, SOX2 and NANOG in oral squamous cell carcinoma versus adjacent non- tumor tissue. *Asian Pac J Cancer Prev.* Publicación periódica en línea Jun 2019, 1;20(6):1649-1654. Hallado en: doi.10.31557/APJCP.2019.20.6.1649
46. Pedregal D, Hermida F, Granda R, Montoro I, Allonca E, Pozo E, Álvarez M, Álvarez C, García J. M., Rodrigo J. P. Prognostic Significance of the pluripotency factors NANOG, SOX2, and OCT4 in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancers Basel.* Publicación periódica en línea Jul 2020, 12(7):1794. Hallado en: doi.10.3390/cancers12071794



47. Chung J. H., Jung H. R., Jung A. R., Lee Y. C., Kong M, Lee J. S., Eun Y. G. SOX2 activation predicts prognosis in patients with head and neck squamous cell carcinoma. Sci Rep. Publicación periódica en línea Ene 2018, 1677. Hallado en: doi.10.1038/s41598-018-20086-w
48. Fu T. Y., Hsieh I. C., Cheng J. T., Tsai M. H., Hou Y. Y., Lee J. H., Liou H. H., Huang S. F., Chen H. C., Yen L. M., Tseng H. H., Ger L. P. Association of OCT4, SOX2, and NANOG expression with oral squamous cell carcinoma progression. J Oral Pathol Med. Publicación periódica en línea Feb 2016, 89-95. Hallado en: doi.10.1111/jop.12335
49. Miguel Tapia R. ImageJ para microscopía. Unidad de Microscopía, Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Mayo de 2013. [Internet] Disponible en: <https://www.biomedicas.unam.mx/wp-content/pdf/unidad-de-microscopia/guia-de-imagej-para-microscopia.pdf?x64973>
50. Michifuri Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Miyazaki A, Kobayashi J, Sasaki T, Fujino J, Asanuma H, Tamura Y, Nakamori K, Hasegawa T, Hiratsuka H, Sato N. High expresión of ALDH1 and SOX2 diffuse staining pattern of oral squamous cell carcinomas correlates to lymph node metastasis. Pathol Int. Publicación periódica en línea Oct 2012, 62(10):684-9. Hallado en: doi.10.1111/j.1440-1827.2012.02851.x.
51. Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, Niwa H, Klewe-Nebenius D, Chambers I, Schöler H, Smith A. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. Cell. Publicación periódica en línea Oct 1998, 95(3):379-91. Hallado en: doi.10.1016/s0092-8674(00)81769-9.
52. Zülling L, Roessle M, Weber C, Graf N, Haerle S K, Jochum W, Stoeckli S J, Moch H, Huber G F. High sex determining región Y-box2 expression is a negative predictor of occult lymph node metastasis in early squamous cell carcinomas of the oral cavity. Eur J Cancer. Publicación periódica en línea May 2013, 49(8):1915-22. Hallado en: doi.10.1016/j.ejca.2013.01.005.



53. Bochen F, Adisurya H, Wemmert S, Lerner C, Greiner M, Zimmermann R, Hasenfus A, Wagner M, Smola S, Pfuhl T, Bozzato A, Kadah B. A., Schick B, Linxweiler M. Effect of 3q oncogenes SEC62 and SOX2 on lymphatic metastasis and clinical outcome of head and neck squamous cell carcinomas. *Oncotarget*. Publicación periódica en línea Ene 2017, 17;8(3):4922-4934. Hallado en: [doi.10.18632/oncotarget.13986](https://doi.org/10.18632/oncotarget.13986)
54. Baumeister P, Hollmann A, Kitz J, Afthonidou A, Simon F, Shakhtour J, Mack B, Kranz G, Libl D, Leu M, Schirmer M. A., Canis M, Belka C, Zitzelsberger H, Ganswindt U, Hess J, Jakob M, Unger K, Gires O. High expression of EpCAM and SOX2 is a positive prognosticator of clinical outcome for head and neck carcinoma. *Sci Rep*. Publicación periódica en línea Oct 2018, 8(1):14582. Hallado en: [doi.10.1038/s41598-018-32178-8](https://doi.org/10.1038/s41598-018-32178-8)



16. ANEXOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
SECRETARÍA DE EXTENSIÓN Y VINCULACIÓN

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A **NICOLE BERENICE SORIA ORTEGA**
Coautores: SILVIA MALDONADO FRÍAS, ALEJANDRO MANUEL GARCÍA CARRANCÁ

Por su participación académica en la expo carteles con el trabajo
Expresión de Sox2 y Oct4 en carcinoma de células escamosas de la cavidad oral
en el
**CONGRESO NACIONAL E INTERNACIONAL DE
LA FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA UNAM AMIC 2022**
Realizado en el WTC de la Ciudad de México los días 5, 6 y 7 de mayo de 2022.

Folio 4210507159

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, 7 de mayo de 2022.

Dra. Elba Rosá Leyva Huerta
Directora
Facultad de Odontología, UNAM