



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA
CAMPO DISCIPLINARIO EPIDEMIOLOGÍA

*“Factores pronósticos asociados con la supervivencia de pacientes
con cáncer bucal y orofaríngeo y su relación con la infección del
virus papiloma humano. Estudio de cohorte ambispectiva”*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

ELIZABETH PÉREZ ISLAS

TUTORES:

Dra. Diana Vilar Compte, INCan
Dra. Nancy Reynoso Noverón, INCan
Dr. Alejandro García Carrancá, INCan y UNAM

COMITÉ TUTORAL:

Dra. Diana Vilar Compte
Dr. Jorge Salmerón Castro
Dr. Juan O. Talavera Piña
Dr. A. Enrique Acosta Gio
Dr. Carlo César Cortés González

Ciudad Universitaria, CD. MX. Agosto, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA
CAMPO DISCIPLINARIO EPIDEMIOLOGÍA

*“Factores pronósticos asociados con la supervivencia de
pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo y su relación con
la infección del virus papiloma humano. Estudio de
cohorte ambispectiva”*

TESIS

QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA SALUD
PRESENTA:

ELIZABETH PÉREZ ISLAS

Dra. Diana Vilar Compte
Tutora Principal

Dra. Guadalupe Silvia García de la Torre
Coordinadora del Programa

12 de Mayo del 2023

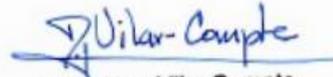
Posgrado de Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud

La alumna **Elizabeth Pérez Islas** perteneciente al Doctorado en Ciencias de la Salud con campo disciplinario en Epidemiología ha concluido la tesis titulada **"Factores pronósticos asociados con la supervivencia de pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo y su relación con la infección del virus papiloma humano. Estudio de cohorte ambispectiva"** la cual, reúne la originalidad y calidad suficiente para ser sometida a consideración el jurado de examen de grado



M. en C. Elizabeth Pérez Islas

Alumna



Dra. Diana Vilar Compte

Tutora Principal



Dra. Nancy Reynoso Noverón

Comité tutorial



Dr. Alejandro Manuel García Carrancá

Comité tutorial



Dra. Guadalupe Silvia García de la Torre
Coodinadora del Pograma de Ciencias de la Salud
Campo Disciplinario en Epidemiología

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación va dedicada a mis padres Jorge y Elizabeth por siempre motivarme a seguir mis sueños y mis metas tanto profesionales y personales, por confiar en mí, gracias por su apoyo, consejos y amor. Para mí son un gran ejemplo por seguir, y sin duda alguna todos mis logros son por y para ustedes. No existe una manera de regresar todo lo que los padres hacen por sus hijos, pero espero que se sientan orgullosos de mí. Asimismo, a mis queridos hermanos Gina, Lupita y Jorge que siempre han estado cuando los he necesitado y siempre motivándome a seguir y perseverar en mis sueños. Los quiero mucho. A mis queridos sobrinos, mis motores de felicidad. A Roberto, por compartir su conocimiento, empatía y por siempre brindarme un consejo y motivarme a seguir creciendo profesionalmente.

A mi Comité la Dra. Diana, la Dra. Nancy y el Dr. Alejandro, pilares fundamentales para la realización de este proyecto, quiero decirles GRACIAS por su empatía, confianza, experiencia y consejos, han sido para mí unos mentores increíbles, admirables. Fue un honor permitirme ser su alumna. También quisiera agradecer al Dr. Maldonado, Dr. Carlo, M en C. Miriam, Dra. Nora, Dra. Cano, Dr. Granados y Dr. Lara porque cada uno de ellos compartió su conocimiento y empatía para que continuará con la presente investigación.

También va dedicada a todos los pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo, son muy valientes, su información no quedo sólo como algunos datos más si no, que nuestro objetivo fue investigar qué factores impactaron para su sobrevida y que estos resultados lleguen a considerarse en la toma de decisiones sobre todo con un enfoque preventivo con el objetivo de mejorar las tasas de sobrevida.

Gracias al INCAN por permitirme aprender, por abrirme las puertas para realizar dicha investigación y por los amigos que conocí (Refugio, Hugo, Pepe, Jessy y Anahí)

A mí alma mater, mi queridísima UNAM que me cobijo desde la CCH hasta la realización de mi doctorado. Soy muy afortunada y dichosa. Gracias a la UNAM soy lo que soy y espero que la vida me permita devolverle todo lo que me ha permitido aprender. Asimismo, a la Lic. Alba Ochoa por responder siempre mis dudas, guiarme y estar al pendiente de mi titulación, gracias por su compromiso, entrega y profesionalismo.

RESUMEN

El presente estudio tiene un diseño de cohorte ambispectivo a 5 años de seguimiento, comprendido en el periodo del 2014 al 2019-1. El objetivo principal fue determinar la supervivencia global y la supervivencia libre de recurrencia en los pacientes con Cáncer Bucal y Orofaringeo (CByO) de acuerdo con la presencia de Virus Papiloma Humano (VPH), controlando por otros factores pronósticos.

Nuestra muestra estuvo conformada por pacientes incidentes del Instituto Nacional de Cancerología, donde la unidad última de muestreo fue el expediente clínico, así como el bloque de parafina del tumor, permitiendo la detección de VPH y la detección de Linfocitos Infiltrantes del Tumor CD4+ y CD8+ por medio de la técnica de INNO-LiPA e inmunohistoquímica respectivamente.

La relevancia del estudio radica en que será la primera investigación en el país que logré estudiar de manera conjunta factores pronósticos desde el ámbito epidemiológico, clínico, patológico e inmunológico y el impacto en su conjunto, tanto en la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global.

La justificación de este proyecto se fundamenta en el hecho que el CByO ha tenido un incremento significativo a nivel mundial. Así mismo, el elevado índice de recurrencia y una tasa limitada de supervivencia posterior al diagnóstico, aún en estadios tempranos. Por su parte, el VPH es un factor obligado a evaluar debido a las diferencias en el pronóstico de la enfermedad.

En nuestro país, la información del CByO es escasa y poco actualizada, y en relación con el VPH y estas neoplasias, aún es menor. Ante el número creciente de pacientes con CByO VPH positivos reportado en otros países, es probable que esta misma tendencia este ocurriendo en México, de allí la importancia de su identificación y estudio. Las mejores estrategias en el diagnóstico, una vigilancia congruente e información epidemiológica, clínica y patológica completa es necesaria en estas neoplasias.

Tabla de contenido

RESUMEN	5
ABREVIATURAS	10
MARCO TEÓRICO	11
EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER BUCAL Y OROFARÍNGEO	11
FACTORES PRÓNOSTICOS	13
<i>RELACIONADOS AL PACIENTE</i>	13
EDAD Y GÉNERO	13
ESTADO CIVIL	13
LOCALIZACIÓN ANATÓMICA	14
ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)	14
COMORBILIDADES	15
TABAQUISMO Y CONSUMO DE ALCOHOL	15
ESTADO GENERAL Y CAPACIDAD FUNCIONAL	15
CUENTAS LINFOCITARIAS	15
<i>ASOCIADOS AL TUMOR</i>	16
VÍAS DE DISEMINACIÓN	16
INVASIÓN PERINEURAL, LINFOVASCULAR Y EXTRACAPSULAR	17
ESTADIO TUMORAL	17
MÁRGENES POSITIVOS	18
DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA	19
LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR	19
VIRUS PAPILOMA HUMANO EN CAVIDAD BUCAL Y OROFARÍNGE	20
SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON VPH POSITIVO	22
TASAS DE SUPERVIVENCIA	22
LOCALIZACIÓN ANATÓMICA Y RESPUESTA INMUNE	23
TRATAMIENTO	24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
JUSTIFICACIÓN Y RELEVANCIA DEL ESTUDIO	26
HIPÓTESIS	27
OBJETIVO GENERAL	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
TIPO DE ESTUDIO	28
SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN:	28
A) CRITERIOS DE INCLUSIÓN	28
B)CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	28
ESTRATEGIA METODOLÓGICA	29
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	30

OBTENCIÓN Y PURIFICACIÓN DEL ADN	30
DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VIRUS	30
CONTROL DE CALIDAD.....	30
DETECCIÓN DE LINFOCITOS INFLTRANTES DEL TUMOR CD4 ⁺ Y CD8 ⁺	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
CONSIDERACIONES ÉTICAS	33
RESULTADOS	34
FACTORES DEMOGRAFICOS Y EPIDEMIOLOGICOS	34
ANTECEDENTES CLÍNICOS Y DEMOGRÁFICOS	36
FACTORES RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD	36
FACTORES HISTOPATOLÓGICOS	40
RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO ONCOLÓGICO	41
FACTORES INMUNOLOGICOS EN EL TUMOR	42
INMUNOFLUORESCENCIA MÚLTIPLEX.....	44
GENOTIPOFICACIÓN DE VPH.....	45
FACTORES CLÍNICOS ENTRE LOS PACIENTES VPH-POSITIVOS Y VPH-NEGATIVOS	46
SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA	46
SUPERVIVENCIA RELACIONADA A LA INFECCIÓN POR VPH	47
ANALISIS MULTIVARIADO.....	49
DISCUSIÓN	50
LIMITACIONES	59
FORTALEZAS.....	59
CONCLUSIONES.....	60
OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.....	62
BIBLIOGRAFÍA	69
ANEXOS	82
APROBACIÓN INCAN.....	82
CALIDAD DE LAS MUESTRAS	83
MATERIAL SUPLEMENTARIO.....	84
ESTANDARIZACIÓN PARA ESTABLECER EL NÚMERO DE MICROARREGLOS PARA LA EVALUACIÓN DE	
LINFOCITOS	84
ANÁLISIS BIVARIADO PARA LA SUPERVIVENCIA GLOBAL	86
CURVAS DE SUPERVIVENCIA CON SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA	86
ANÁLISIS DE PACIENTES CON CÁNCER OROFARÍNGEO	87
SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA.....	89
SUPERVIVENCIA RELACIONADA A LA INFECCIÓN POR VPH.....	90

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. FACTORES DEMOGRÁFICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS.....	35
TABLA 2. ANTECEDENTES RELACIONAOS CON EL COYB.....	37
TABLA 3. FACTORES CLÍNICOS DE PACIENTES CON CBYO.....	38
TABLA 4. FACTORES HEMATOLÓGICOS.....	39
TABLA 5. FACTORES HISTOPATOLÓGICOS	40
TABLA 6. FACTORES RELACIONADOS CON EL TRATAMIENTO.....	41
TABLA 7. MARCADORES INMUNOLÓGICOS	45
TABLA 8. HAZARD RATIO A 5 AÑOS DE SEGUIMIENTO	47
TABLA 9. SUPERVIVENCIA A 5 AÑOS DE SEGUIMIENTO	47
TABLA 11. SUPERVIVENCIA A 5 AÑOS DE SEGUIMIENTO ESTRATIFICADA POR VPH	48
TABLA 10. HAZARD RATIO A 5 AÑOS DE SEGUIMIENTO ESTRATIFICADA POR VPH	48
TABLA 12. ANÁLISIS MULTIVARIADO.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.- FACTORES DEMOGRÁFICOS. LUGAR DE RESIDENCIA DE LOS PACIENTES CON CBYO.....	34
FIGURA 3.-MICROARREGLOS.....	42
FIGURA 2.- MUESTRAS Y CONTROLES.....	42
FIGURA 4.- SOBREENPRESIÓN DE LINFOCITOS CD4, CD 4/T-BET Y CD8.....	43
FIGURA 5.- EXPRESIÓN DE CD4+, CD8+ Y CK+ EN CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE AMÍGDALA .	44
FIGURA 6.-TIPOS DE VPH DETECTADOS EN PACIENTES CON CÁNCER ORAL.....	45
FIGURA 7.-ESTIMACIÓN DEL RIESGO ACUMULADO NELSON-ÅALEN.....	46
FIGURA 8.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER.....	47
FIGURA 9.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER.....	48
FIGURA 10.- EVALUACIÓN POR CUADRANTE DEL TEJIDO COMPLETO DE 2 CASOS DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCOSAS ORALES MEDIANTE EL PROGRAMA IMAGEJ.....	85
FIGURA 11.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER POR ETAPA CLÍNICA.....	86
FIGURA 12.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER POR IMC.....	86
FIGURA 13.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER POR INVASIÓN LINFOVASCULAR.....	86
FIGURA 14.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER POR TIPO DE RESPUESTA.....	86
FIGURA 15.-ESTIMACIÓN DEL RIESGO ACUMULADO NELSON-ÅALEN.....	89
FIGURA 16.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER.....	90
FIGURA 17.- ESTIMACIÓN DE SUPERVIVENCIA KAPLAN-MEIER NELSON-ÅALEN.....	91

ABREVIATURAS

CB: Cáncer Bucal

CO: Cáncer Orofaringeo

CByO: Cáncer Bucal y Orofaringeo

P16: Proteína inhibidor de la quinasa dependiente de la ciclina p16INK4a

P53: Supresor tumoral que desempeña un papel importante en la interrupción de la división celular cuando ocurre un daño en el ADN.

P21: Proteína involucrada en la regulación del ciclo celular. Actúa a nivel de G1 a S y cuando se activa induce apoptosis en respuesta a la alteración del DNA.

LITs: Linfocitos Infiltrantes del Tumor, son células inmunitarias que se acumulan alrededor o dentro de un tumor. Los TIL pueden actuar contra las células neoplásicas y evitar que la enfermedad se propague.

Linfocito CD4+: Tipo de célula inmunitaria que estimula las células T citotóxicas, los macrófagos y las células B para que produzcan respuestas inmunitarias. También conocida "célula T auxiliar".

Linfocito CD8+: Conocidos con el nombre de linfocitos T citotóxicos, o CTLs, actúa contra patógenos intracelulares, como bacterias o virus, y para la vigilancia de las células tumorales.

T-bet: Factor de transcripción de células T que regula el compromiso del linaje de células T helper 1, tiene un papel crucial en la regulación de la homeostasis de la mucosa, principalmente a través de su función en las células dendríticas y las células linfoides innatas.

MARCO TEÓRICO

Epidemiología del Cáncer bucal y orofaríngeo

El cáncer bucal y orofaríngeo (CByO) constituye un problema de salud al que todavía no se le ha prestado toda la atención que requiere. La incidencia anual a nivel mundial de cáncer bucal (CB) es de alrededor de 355,000 casos con aproximadamente 177,000 fallecimientos asociados. Por su parte, la incidencia acumulada para el cáncer orofaríngeo es 8,300 casos (1). En el 2022, la Sociedad Americana contra el cáncer estimó 54,000 casos de CByO anuales, y alrededor de 11,230 personas no sobrevivirán a esta neoplasia. Las regiones con mayor prevalencia del CByO son Latinoamérica, algunas áreas del centro de Europa, y el sur de India.

De acuerdo con el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (RHNM) de México, estimó que el CByO representaba el 1.13% de todos los casos de cáncer reportados en México y el 5.48% del total de las neoplasias malignas de cabeza y cuello en el 2003 (2). Cabe señalar que es el último registro que se tiene respecto a estas neoplasias debido a que este ha sido suspendido, y por tanto no se cuenta con información integrada del sector público, privado y de otras instituciones.

El CByO tiene un elevado índice de recurrencia y una limitada tasa de supervivencia aún en estadios tempranos. Un estudio de cohorte retrospectivo realizado en el 2016 en México informó una recurrencia locoregional del 41.2% en cavidad oral y en orofaringe, del 50.4% ($p = 0,056$) (3); en comparación con un estudio realizado en España, donde la tasa de recurrencia en cavidad oral fue del 25.9% y del 40% en orofaríngeo, respectivamente (4).

Por su parte, la letalidad estimada en México en este tipo de pacientes es del 62.4%, y con base en los egresos hospitalarios del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) durante 1991 al 2000, el índice de supervivencia a 5 años fue del 50% (5). Es preocupante que a pesar de ser una enfermedad prevenible con medidas costo-

eficaces; más de la mitad de los casos de CByO son diagnosticados en estadios avanzados lo que contribuye a una supervivencia más baja con la necesidad de medidas terapéuticas complejas y costosas que requiere de intervenciones multidisciplinarias, e involucran procedimientos quirúrgicos, radioterapia y quimioterapia, seguidos por la reconstrucción y la rehabilitación, que a su vez, impactan tanto la calidad de vida como en la supervivencia de los pacientes.

Más del 90% de los cánceres de cabeza y cuello son carcinomas de células escamosas, el sitio más frecuentemente afectado en cavidad oral es la lengua, principalmente en su cara ventral y bordes laterales; el piso de boca es el segundo lugar más frecuente, seguido de la mucosa yugal, labial y paladar duro. El sitio más frecuente en orofarínge es la base de la lengua y amígdalas (6). El CByO es un grupo de neoplasias que se han relacionado con la exposición ambiental a sustancias carcinogénicas, principalmente tabaco, alcohol y masticación de nueces de areca y betel, este último hábito, no popular en México, es frecuente en algunas regiones de EUA y Europa, como también el cigarrillo (bidi o chuta) en la India.

Aun cuando se han identificado diversos factores de riesgo, alrededor del 15 al 20% de estas neoplasias ocurren en personas sin historial de los factores de riesgo tradicionales, además de haber un aumento de casos en personas cada vez más jóvenes (7). En diversos estudios la edad media de los pacientes con CByO oscila entre la sexta y séptima década de vida (8), con una prevalencia mayor para el género masculino de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Se ha informado que los hombres tienden a tener comportamientos de mayor riesgo, lo que es posible que favorezca el desarrollo de este tipo de cáncer en comparación con las mujeres (9). Aun cuando los varones consumen tabaco y alcohol en mayor cantidad, durante la última década este perfil ha ido cambiando, ya que las mujeres consumen cada vez con mayor frecuencia estas sustancias.

Por otra parte, también es conocido que los hombres acuden menos a los servicios dentales, y las lesiones bucales no son detectadas de forma temprana. En algunos estudios, hasta el 58.7% de los tumores diagnosticados se presentaron en hombres con un estadio avanzado.

La edad es un factor epidemiológico importante en el CByO. Estudios recientes, particularmente en Europa y América del Norte, han observado un número creciente de infecciones por el virus del papiloma humano (VPH), y al ser este un factor de riesgo puede estar contribuyendo a un riesgo incrementado en el desarrollo del CByO en edades más tempranas (10, 11).

FACTORES PRÓNOSTICOS

En el CByO, al igual que en la mayor parte de las neoplasias, la interacción de los diversos factores pronósticos al diagnóstico tiene un efecto en la supervivencia de los pacientes. A continuación, se detallan factores pronósticos diversos en el CByO, tanto relacionados con el huésped, como la neoplasia y el virus *per se*.

RELACIONADOS AL PACIENTE

Edad y género

La supervivencia de los pacientes con CByO en general es sombrío. Se han asociado diversos factores pronósticos en estos pacientes. Se ha observado que a mayor edad el pronóstico es peor. Con respecto al género, aun cuando la prevalencia del CByO es mayor en los hombres, no existen diferencias significativas en relación con el género y la supervivencia (12, 13).

Estado civil

Referente al estado civil, los pacientes casados son más propensos a un diagnóstico temprano ($p=0.01$) y menos propensos a presentar enfermedad metastásica (OR=0.72, IC 95% 0.60 a 0.87, $p=0.001$) (14). Además de un mejor pronóstico en las tasas de supervivencia en comparación con los pacientes solteros (62.9% vs

60.8%). Aunque es pequeña la diferencia encontrada, estos últimos tienen mayor riesgo de mortalidad (HR=1.93 I.C. 1.18 a 1.339, $p < 0.001$) (15).

Localización anatómica

En cuanto al sitio anatómico, la lengua es la localización más frecuente del cáncer oral. En algunos países la localización varía debido a diferentes hábitos. Por ejemplo, en la India el cáncer de mucosa yugal, es uno de los sitios más frecuentes por el hábito de masticar la nuez de vetel (6). Otro aspecto importante con relación al sitio anatómico como factor pronóstico es la visibilidad de la lesión, ya que es considerada por algunos autores, como un factor importante en el estadio tumoral en el momento del diagnóstico. El hecho de que una lesión sea más visible a la simple inspección médica favorece su diagnóstico en estadios tempranos, mientras que una lesión oculta aumenta el riesgo de sufrir tumores en un estadio clínico más avanzado (16). Igualmente, el tiempo de espera para el tratamiento es un factor pronóstico negativo (17).

Índice de masa corporal (IMC)

En relación con otros factores pronósticos en el CByO, se ha observado que el IMC tiene un papel importante en la supervivencia del paciente.

Se ha observado que un IMC bajo ($< 18,5 \text{ kg/m}^2$) al diagnóstico, se asocia con una peor supervivencia global (18). Los pacientes con un $\text{IMC} > 25 \text{ kg/m}^2$ presentan una mayor supervivencia global (HR = 0.49; $p = 0.01$) y una supervivencia libre de enfermedad más prolongada (HR = 0.43, $p = 0.02$) y (19).

En general, los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello tienen un alto riesgo de estar desnutridos al momento del diagnóstico o durante el tratamiento en comparación con otros tipos de cáncer. Algunos estudios han informado que un 30 a 60% sufren desnutrición, causada por factores complejos, como odinofagia, disfagia, xerostomía, obstrucción mecánica, anorexia y fatiga (20).

Comorbilidades

Se ha informado que la presencia de comorbilidades tiene un efecto negativo en la supervivencia en el CByO; sin embargo, también se ha observado su efecto negativo en los pacientes con recurrencia. Un estudio realizado en Japón reportó que pacientes ≥ 65 años con puntuaciones >6 en el índice de Charlson tenían peores desenlaces. (21).

Tabaquismo y consumo de alcohol

Los factores más estudiados como factores de riesgo para el desarrollo de OSCC son el tabaco y el alcohol, además que también se han relacionado como factores pronósticos, con la presencia de tumores más agresivos y una supervivencia global menor (25, 26). Un punto interesante para continuar investigando es el porcentaje de pacientes que sin antecedentes al tabaco o alcohol desarrollan el OSCC. Investigaciones recientes han descrito que este grupo de pacientes podrían representar un entidad clínica y molecular diferente con perfiles de pronósticos distintos.

Estado general y capacidad funcional

En varias neoplasias, y el CByO no es la excepción, la capacidad funcional y estado general del paciente tienen un impacto en la supervivencia de los pacientes. Los pacientes con un ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) más alto tienen hasta 3 veces menos posibilidades de muerte. En cuanto a la evaluación de la capacidad funcional evaluada a través de la escala de Karnofsky, se ha informado que los pacientes con un índice ≤ 80 tienen peores desenlaces (OR=3.22 IC 95% 1.10 a 9.42, P= 0.05 (27).

Cuentas linfocitarias

Aun cuando se conocen diversos factores pronósticos en relación con el CByO, la utilización de nuevos biomarcadores está cobrando importancia. Un ejemplo de éstos, son los neutrófilos y linfocitos como indicadores de la estequiometría linfoide,

ya que se ha observado que las células cancerosas modifican el comportamiento de los neutrófilos a través de la inducción y liberación de citoquinas y metaloproteínas, aumentando su potencial quimiotáctico e inhibitorio de la apoptosis (28, 29) .

Clínicamente, también se ha demostrado un pronóstico negativo en el recuento alto de neutrófilos y recuentos bajos de linfocitos, con una supervivencia menor. Por otro lado, niveles altos de linfocitos se han asociado a una supervivencia global más larga, reduciendo el riesgo de muerte en el 19% (30). La hipoalbuminemia, también ha mostrado ser un factor pronóstico independiente en la supervivencia libre de enfermedad (31).

ASOCIADOS AL TUMOR

Existen diversas características histopatológicas del tumor que se asocian con la supervivencia específica y global. La invasión perineural, infiltrado linfoplasmocitario y la existencia de márgenes positivos han sido características histológicas que han permitido discernir grupos de bajo, mediano y alto riesgo para la presencia de metástasis ganglionares, y a distancia.

Vías de diseminación

La diseminación linfática de los tumores orales ocurre en general de una manera ordenada, en primer lugar, se ven afectados los ganglios cervicales altos, seguidos por los medios y, por último, los de la cadena cervical baja. Cerca del 50% del cáncer oral presenta metástasis linfáticas en el momento del diagnóstico o en el seguimiento(6). Los pacientes que presentan diseminación ganglionar extracapsular tienen alto riesgo de desarrollar una recurrencia (32).

El carcinoma epidermoide oral se disemina principalmente a nivel local seguido por diseminación linfática regional. Esta última vía es la más importante, así como la vía más frecuente de diseminación. Inicialmente, los ganglios afectados son móviles, pero a medida que se produce ruptura capsular de los mismos, se fijan a

estructuras vitales. La diseminación hematógena ocurre raramente, siendo reportada por algunos autores en el 10% (33).

Invasión Perineural, Linfovascular y Extracapsular

En cuanto a la invasión perineural es un proceso por el cual, haces de nervios son invadidos por células cancerosas (34). Ha sido reconocida como un indicador pronóstico de supervivencia en neoplasias malignas. Así mismo, se ha considerado como un indicador de mal pronóstico en el carcinoma epidermoide (35, 36). En un estudio realizado en Nueva Delhi, la invasión perineural en pacientes con CByO, se asoció con menores tasas en la supervivencia global y libre de enfermedad a los 2 años ($p < 0.001$) (37).

Referente a la invasión linfovascular, un estudio hindú, reportó esta invasión en un 27.2% en pacientes recurrentes frente a 4.0% de los no recurrentes (38).

Un estudio realizado en Taiwán reportó la supervivencia global respecto a los factores histopatológicos evaluando la invasión perineural, la invasión linfovascular, y la ruptura extracapsular de ganglios en los pacientes con CO. La tasa de supervivencia global a 5 años al presentar cada uno de ellos fue del 58.4%, 50.4% y 31.4%, respectivamente. Sin embargo, la supervivencia se redujo al presentar positivo más de uno de estos factores histopatológicos. Los pacientes al presentar tanto ruptura extracapsular e invasión perineural presentaron tasas de supervivencia global a 5 años de 31,5% y aquellos con ruptura capsular e invasión linfovascular fue del 22.2%. Y los pacientes que presentaron el estado triple positivo a estos factores histopatológicos, sólo presentaron una tasa de supervivencia global a 5 años de 20.0% (39). Por lo que estas infiltraciones son factores histopatológicos adversos y se necesitan más investigaciones.

Estadio tumoral

Existen pocos informes sobre los factores que en su conjunto afectan el pronóstico de los pacientes con cáncer oral. La estadificación se basa en el tumor-nódulo-

metástasis (TNM), y se ha reportado que los estadios tempranos de la enfermedad (I y II) se asocian a mejor pronóstico frente a los estadios avanzados (III y IV) sin embargo, aún falta conocer que otros factores en conjunto impactan el pronóstico.

Aunque la clasificación TNM ha sido eficaz, se necesitan conocer otras variables implicadas para el pronóstico. La detección del VPH como un biomarcador potencial, en combinación con el TNM, permite establecer mejor el pronóstico y guiar el tratamiento; sin embargo, este podría no ser el único.

El trabajo futuro deberá ser dirigido a comprender cómo el VPH afecta a la carcinogénesis, y cómo su infección modifica o no a la progresión de la enfermedad (40, 41). Es probable que para una mejor evaluación del pronóstico se tengan que evaluar estrategias diferentes que reflejen la diversidad biológica de estos tipos de cáncer.

Márgenes positivos

Un factor esencial en el pronóstico de los tumores son los márgenes positivos después de la resección de cáncer, los cuales varían ampliamente entre el 1 al 22%. Los márgenes son con más frecuencia positivos en el cáncer oral (1,7 veces $p=0.03$) (42) que en otros sitios de la cabeza y cuello (43-45). Se ha reportado que márgenes positivos o cercanos están asociados con el aumento de recidiva local y tienen un efecto negativo en la supervivencia. El riesgo de muerte a 5 años es 2,5 veces más alto en los pacientes con márgenes positivos ($p=0.08$) (43, 44). Por lo tanto, el estado de la resección quirúrgica es un fuerte predictor del resultado en el cáncer oral (46). Nason y cols. informaron que márgenes quirúrgicos <3 mm disminuyen la tasa de supervivencia global en el cáncer oral (43, 47). En contraste, Poeschl y cols. mostraron que la obtención de márgenes libres a la resección son un factor importante para prevenir la recaída, y por lo tanto para aumentar la tasa de supervivencia (48).

Diferenciación histológica

La diferenciación histológica en neoplasias moderadas y poco diferenciadas ha mostrado acelerar la progresión de la enfermedad, dando un pronóstico más sombrío en comparación con aquellos de grado histológico bien diferenciado (49).

Linfocitos infiltrantes del tumor

Los Linfocitos Infiltrantes en el Tumor (LIT) son un tipo de leucocitos encontrados en tumores implicados en destruir a las células tumorales, y se han asociado con mejores resultados clínicos. Actualmente se ha demostrado que la infiltración del tumor por células CD8⁺ se asocia con un mejor pronóstico en varios tipos de cánceres. Estos resultados apoyan la idea de que, una vez establecido el cáncer, éste se asocia con la inmunidad antitumoral. Se ha observado que a una mayor concentración de LIT existe una mejor tasa de supervivencia en pacientes con CByO (50). Un estudio realizado en Suecia en pacientes con cáncer bucal, encontró que un conteo elevado de linfocitos CD8⁺ era indicador de buen pronóstico (HR=0,56; $p = 0,02$)(54).

En los pacientes con CO, la presencia del VPH se asocia con un mejor pronóstico al compararla con los pacientes VPH negativos. Se ha tratado de explicar estas diferencias en diversos ámbitos de la investigación, aunque el papel de la respuesta inmune en este fenómeno es todavía poco claro. Debido a que el VPH se aprovecha de la corta vida del queratinocito no se puede medir una respuesta inmune innata en estos pacientes, por lo que se tendría que investigar esta respuesta a nivel del sistema inmune adaptativo.

Los linfocitos CD8⁺ neutralizan células infectadas por microorganismos intracelulares, mediante un ataque directo a las células infectadas o tumorales inyectando enzimas tóxicas que provocan su destrucción. Un estudio piloto, demostró que un alto número de linfocitos CD8⁺ infiltrantes en el tumor y la presencia de VPH-positivo a p16 se correlacionaron con mejor pronóstico (55). Sin embargo, un estudio realizado en Estados Unidos encontró que los conteos

elevados de linfocitos T CD8⁺ se asociaban a una mayor supervivencia global, independientemente de la presencia del virus (56, 57).

De acuerdo con un estudio sueco en tumores de la base de lengua y amígdalas, aquellos con VPH positivo diagnosticado con p16^{INK4a+} y altos recuentos LIT CD8⁺ la supervivencia global a 3 años fue superior, con un número mayor de LIT en pacientes VPH-positivos ($p < 0,001$) en comparación con tumores VPH-negativos (58). Esto sugiere que los altos recuentos CD8⁺ podrían ser utilizados como un marcador adicional de pronóstico junto con el estado del tumor a VPH^{DNA+} (55).

Virus Papiloma Humano en cavidad bucal y orofaríngea

El VPH se caracteriza por ser epiteliotrópico, es decir, tiene afinidad por el epitelio y las mucosas. Actualmente, existen más de 100 tipos. De estos, más de 40 tipos son capaces de infectar tanto la región anogenital como bucofaríngea (59-61) .

Asimismo, existe un subgrupo clasificado en 2 dimensiones de acuerdo con su capacidad de oncogénesis, clasificados como VPH de alto y bajo riesgo (62).

Esta infección, se transmite fácilmente por contacto directo de piel y mucosas, la vía de transmisión puede ser horizontal, a través de contacto sexual, o vertical de madre a hijo durante el parto o la lactancia (63, 64), Sin embargo, aún se sigue investigando otras vías de transmisión a nivel oral (63).

La identificación de lesiones intraepiteliales tumorales asociadas a tipos con diferente potencial oncogénico ha demostrado que este virus participa en un número cada vez más importante de lesiones, tanto en la zona vulvo-genital (65), como en la cavidad oral y orofaríngea.

La incidencia de infecciones genitales por VPH de acuerdo con el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) en Estados Unidos, es de 14 millones de casos anualmente y va en aumento. (66). En cavidad bucal, aproximadamente el 10 % de los hombres y el 3.6 % de las mujeres tienen VPH oral, y las infecciones por VPH oral se hacen más comunes a medida que las

personas tienen mayor edad. Asimismo, se estima que el VPH causa el 70 % de los cánceres orofaríngeos en los Estados Unidos (67).

Se calcula que más del 80% de los adultos sexualmente activos, serán infectados por al menos un tipo de VPH alguna vez en su vida (68). Aproximadamente el 50% de estas infecciones son ocasionadas por uno de los subtipos de alto riesgo (69). De acuerdo con un meta-análisis publicado en 2007, en el 26% de los casos de cáncer de cabeza y cuello, el VPH estaba presente (70). La detección de ADN del VPH en el CByO es variable, desde un 20 hasta un 90%. Esta variabilidad es explicada por la selección del método de recolección de la muestra, el sitio anatómico y la técnica de detección. La incidencia varía considerablemente dependiendo de la población estudiada (71).

La proporción de VPH atribuible a este tipo de neoplasias es del 47% en América del norte, 46% en Asia, 36% en América Central, Australia y África, y del 26% en Europa (72). En este tipo de neoplasias, los tipos VPH 16 y 18, subtipos de alto riesgo, son los de mayor prevalencia, 86% y 16%, respectivamente (73).

La prevalencia del VPH difiere dependiendo del sitio anatómico de la neoplasia, encontrándose en mayor porcentaje en orofarínge, 57%; cavidad oral, 12% e hipofarínge en el 10% (74). En México, se han detectado variantes del VPH 18, 21, 35 y 45, algunas de ellas, también asociados con el cáncer cervicouterino (65).

Para el diagnóstico del VPH se han utilizado diferentes estrategias. La reacción de polimerasa en cadena (PCR) es una de ellas, al igual que la técnica de INNO-LiPA, ambas, con capacidad de identificar más de 32 tipos. Los beneficios de estas técnicas, entre otros, es que pueden detectar la presencia del virus en muestras previamente almacenadas, permitiendo su identificación en las muestras embebidas en parafina. Otra técnica frecuentemente empleada para la detección del VPH en tejidos es la inmunohistoquímica, especialmente en relación con la proteína p16, proteína de supresión tumoral que se encuentra atenuada no sólo en

este tipo de neoplasias, sino también en diversas entidades tumorales. Su función primordial es la de detener el ciclo celular cuando el DNA se encuentra dañado. Se ha observado que una fuerte sobreexpresión nuclear y citoplasmática en ciertas entidades, como es el caso de células escamosas displásicas y neoplásicas, puede asociarse con VPH de alto riesgo (73). Otras proteínas como la p53 y la proteína retinoblastoma (pRB) se cree que juegan un papel crucial en el ciclo celular y en las proteínas de supresión tumoral.

Gracias al desarrollo de estas tecnologías, hoy se conocen factores epidemiológicos y biológicos propios en las neoplasias de cabeza y cuello asociadas al VPH. Además, en un subgrupo de estas neoplasias se ha observado una mejoría en el pronóstico cuando se asocian al VPH, siendo entidades clínica y epidemiológicamente diferentes (73,75). Lo anterior, constituye una parte importante del motivo de este estudio.

SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON VPH POSITIVO

Tasas de supervivencia

En el cáncer orofaríngeo se ha demostrado que la presencia del VPH en el tejido tumoral es un factor pronóstico independiente para la supervivencia global y libre de progresión (6, 21, 40, 41). La presencia de VPH se ha asociado con tasas mayores de supervivencia a los 2, 3 y 5 años de seguimiento (HR: 0.5 IC 95%:0.3-1,1 p=0.07), respectivamente (72). Los resultados de un meta-análisis demostraron menor probabilidad de morir en pacientes con cáncer de cabeza y cuello VPH positivos, con un efecto protector en la mortalidad asociada al cáncer (HR 0.85 IC 95% 0.7- 1.0) y un bajo riesgo de recurrencia (HR 0.62 IC95% 0.5-0.8), en comparación con pacientes VPH negativos (70). Un estudio retrospectivo encontró datos similares, con mayor tasa de supervivencia específica de la enfermedad en los pacientes con la presencia del VPH en el tumor (HR 0.24, IC 95%=0.06-0.87).

Estas diferencias en la supervivencia se han tratado de explicar desde el ámbito epidemiológico, clínico y biológico (76, 77). Un punto clave es referente al sitio

anatómico del cáncer, ya que se han encontrado mejores tasas de supervivencia en pacientes con cáncer orofaríngeo VPH positivos ($p=0.026$). Este hecho tiene una relación entre la localización anatómica, la respuesta inmunológica y la supervivencia.

Localización anatómica y respuesta inmune

Se ha sugerido que el sitio anatómico de la orofaringe cuenta con un ambiente micro inmune, que podría desempeñar un papel fundamental en la supervivencia ante la infección del virus (9, 78). En general, la importancia de la respuesta inmunitaria relacionada con el VPH en estas neoplasias aún no está bien establecida. Se ha observado que los linfocitos T que proliferan y sintetizan citocinas inflamatorias tienen un papel sobre el reconocimiento de las oncoproteínas E6 y E7 (79). Los resultados preclínicos en modelos de ratón sugieren que se genera una respuesta antitumoral específica de antígeno *in vivo* a las células transformadas VPH positivas y que esta respuesta, requiere tanto de células CD4+ y CD8+ para montar la respuesta antitumoral (80), aunque falta una mayor investigación en humanos sobre el comportamiento de la respuesta inmunológica frente al tumor y concomitantemente frente al HPV.

De acuerdo con un estudio de cohorte realizado en Francia por Alain, la activación del linfocito T CD8+ y la respuesta inmune están implicadas en el pronóstico mejorado de los pacientes con VPH positivo (78). Aunque aún se desconoce la identificación de antígenos implicados para desencadenar esta respuesta del hospedero, se piensa que ante la presencia de un virus el pronóstico es sombrío, sin embargo, en los VPH positivos experimentan mejores tasas de supervivencia. En el caso del cáncer orofaríngeo se han asociado fuertemente el número de células inmunes (células T) en el tumor y supervivencia de pacientes, y se ha observado que ante la presencia de un número elevado de células T, los pacientes responden al tratamiento. Por lo que se ha sugerido que los cánceres causados por este virus son detectados rápidamente por el sistema inmune con un papel imprescindible en la respuesta inmunitaria, explicando mayores tasas en la supervivencia de los pacientes con neoplasias VPH positivos (81).

Tratamiento

Respecto al tratamiento, diferentes estudios han reportado diferencias en la supervivencia ante la presencia del VPH; datos sobre un estudio prospectivo en fase 2, confirman que, la presencia del VPH predice una respuesta favorable al tratamiento tanto con la quimioterapia como con la radioterapia. Algunos autores señalan que, durante el tratamiento, la activación de supresores tumorales especialmente de p53 y pRb (proteína retinoblastoma) detienen el ciclo celular cuando identifican ADN dañado impidiendo continuar con el ciclo celular y el crecimiento del tumor (82-84); sin embargo, este comportamiento de respuesta al tratamiento, no se ha identificado en todos los pacientes con CB y VPH-positivos. Aún falta dilucidar el papel de las mutaciones asociadas por tabaco y alcohol que convierten a los tumores más agresivos y resistentes a la terapia.

Un estudio realizado en el Centro Médico de Johns Hopkins demostró que la presencia de VPH en el cáncer orofaríngeo mejora la respuesta a la terapia de inducción (82% contra 55% en los VPH negativos). A los dos años de seguimiento, la supervivencia global fue mejor en los casos con VPH, 95% contra 62%, respectivamente (59).

En otro estudio en pacientes con CByO, se observó que la presencia de VPH-16 se asoció a una mejor respuesta a la quimioterapia ($p=0.001$) y a la terapia combinada con quimioterapia y radioterapia ($p=0.0005$), así como a una mejor supervivencia ($p= 0.007$) (85).

En resumen, el CByO representa un problema de salud que merece más atención, dado su aumento, las secuelas de su tratamiento, la alta incapacidad en las personas que lo padecen, la disminución en la calidad de vida, así como una alta mortalidad asociada. Es necesaria una mejor comprensión de los factores pronósticos implicados en el CByO y su inter-relación para ofrecer un mejor abordaje terapéutico a los pacientes con esta entidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El CByO constituye un problema de salud en aumento al que todavía no se le ha prestado toda la atención que requiere. No sólo genera una mortalidad significativa, sino que también provoca desfiguración extensa, deterioro funcional, cambios conductuales, problemas económicos y un deterioro en la calidad de vida. La OMS predice un continuo aumento de esta enfermedad a nivel mundial. La incidencia ha aumentado, especialmente en Europa y América del Norte, posiblemente por el número creciente de infecciones por VPH como consecuencia de la expansión de determinadas prácticas sexuales, especialmente el sexo oral.

La presencia de VPH ha sido reportada en hombres y mujeres en todo el mundo, y no hay grupos de edad que no estén afectados. En algunos casos, el sistema inmunológico de la persona combate naturalmente la infección en un periodo de 2 años, y la mayoría de las personas con VPH no desarrollan síntomas visibles. Se ha evaluado que las neoplasias de cabeza y cuello asociados a la infección por VPH poseen características clínicas y evolución distintas a los tumores sin la infección por VPH; sin embargo, la información sobre la epidemiología del CByO en México es escasa y poco actualizada. Por otra parte, a pesar de ser una enfermedad prevenible con medidas costo-eficaces, la mayoría de los pacientes son diagnosticados en etapas tardías. Por ello, el tratamiento del CByO requiere de costosas intervenciones que involucran procedimientos quirúrgicos, radioterapia y quimioterapia seguidos de una reconstrucción y rehabilitación. Por todo lo anterior, se ha generado una demanda continúa en estrategias innovadoras en el diagnóstico, pronóstico y terapéutica en este tipo de neoplasias.

Durante muchos años, los principales factores pronósticos para estas neoplasias han sido el grado de diferenciación histológica, el estadiaje a través del TNM y la localización anatómica del tumor. Actualmente, ante el cambio en la historia de la enfermedad y mejores herramientas diagnósticas y de tratamiento, es necesario conocer con mayor precisión los factores que interactúan en esta neoplasia, para ofrecer un tratamiento de precisión y ofrecer una mejor supervivencia y calidad de vida.

JUSTIFICACIÓN Y RELEVANCIA DEL ESTUDIO

Este estudio surge ante la necesidad creciente de conocer datos que conlleven a explicar diferencias en el pronóstico, principalmente poner énfasis en la supervivencia en estos pacientes ya que el 50% mueren, y en la actualidad no se han mejorado estas tasas. Por otra parte, el aumento constante en la incidencia del CByO y la coexistencia del VPH en el tumor, es probable que modifique el curso clínico de esta enfermedad, por lo que es necesario contar con un análisis amplio y preciso que brinden un panorama real del comportamiento de esta neoplasia. Por otro lado, es necesario conocer la frecuencia del VPH en CByO en el país, ya que su detección no se efectúa de manera rutinaria y no existen datos acerca de los tipos presentes en este tipo de neoplasias.

Este estudio es uno de los primeros en el país que estudie de manera conjunta factores pronósticos desde el ámbito epidemiológico, clínico e inmunológico en la supervivencia en estos pacientes, tratando de explicar las diferencias en el pronóstico de la enfermedad. Por lo que su diseño ambiespectivo, pretende controlar diversas covariables importantes entre las que destacan: el impacto del VPH en el tejido tumoral con el pronóstico de la enfermedad, particularmente si se considera que existen más de 100 tipos y variantes histopatológicas como carcinomas basoloides y acantolíticos, y que gracias a la técnica que empleamos para su identificación se puedan detectar coinfecciones y diferencias en esta diversidad de la enfermedad. Así mismo, la implementación en la búsqueda de biomarcadores pronósticos para la supervivencia como son los linfocitos infiltrantes del tumor (LIT) CD4+ y CD8+ y su relación con el virus es importante, ya que, en cérvix, se ha estudiado con mayor frecuencia esta respuesta inmune, pero en cavidad oral aún no está bien establecida, y por la técnica que emplearemos para su evaluación podría tener una mejor precisión en el diagnóstico al no ser solo una evaluación subjetiva a la tinción.

Por todo lo anterior, surge la siguiente pregunta de investigación.

La presencia del VPH en tejido tumoral, ¿Es un factor pronóstico independiente asociado con mayor supervivencia de pacientes ajustada por factores demográficos, clínicos e inmunológicos?

HIPÓTESIS

La presencia del VPH en tejido tumoral en pacientes con cáncer oral es del 15% siendo un factor pronóstico independiente y protector, con una mayor tasa de supervivencia.

OBJETIVO GENERAL

Describir los factores pronósticos asociados a la supervivencia de pacientes con CByO y su relación con el VPH en el tejido tumoral de pacientes del INCa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Calcular la prevalencia de VPH en pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo por medio de la técnica INNO-LiPA.
- Detectar la prevalencia de los genotipos de VPH y coinfecciones.
- Determinar la presencia de Linfocitos Infiltrantes en el Tumor CD4 y CD8 a través de inmunohistoquímica.
- Determinar el factor del VPH al desenlace de la enfermedad ajustada por los factores pronósticos clínico-epidemiológicos e inmunológicos.
- Calcular la supervivencia global de acuerdo con la presencia de VPH.

TIPO DE ESTUDIO

Se conformará una cohorte ambispectiva a 5 años en pacientes incidentes con diagnóstico histopatológico de carcinoma epidermoide, basoloide y acantolítico de cavidad bucal y orofaríngea del Instituto Nacional de Cancerología.

SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN:

a) Criterios de inclusión

Pacientes incidentes mayores de 18 años con CByO diagnosticados por estudio histopatológico y que no hayan recibido tratamiento previo.

Se incluirán los cánceres de la lengua (ICD-9 141; ICD-10 C01 C02), encía (ICD-9 143; ICD-10 C03), piso de boca (ICD-9 144; ICD-10 C04), paladar y otras partes de la boca (ICD-9; ICD-10 C05 y C06), además del cáncer de orofarínge (ICD-9 146; ICD-10 C9 y C10) y otras neoplasias de la boca y de orofarínge (ICD-9 149; ICD-10 C14. [ICD 2010], que cuenten con bloque con una calidad de tejido para procesar.

b) Criterios de exclusión

Se excluirán a las personas con CByO no incidente, sin seguimiento por parte del INCan. No se incluirán aquellos casos de cáncer en piel del labio ni glándulas salivales (ICD C07, C08).

ESTRATEGIA METODOLÓGICA

A través de los registros del INCan y de acuerdo con el diagnóstico de CByO se seleccionaron los pacientes incidentes. Al mismo tiempo se obtuvieron los IC (número de identificación tanto de laminillas y bloques) del Departamento de Patología. Se verificó la certeza diagnóstica histopatológica, además de ubicar y contabilizar las células neoplásicas, con un parámetro de 4000 a 4500 células. De todas las laminillas revisadas, se seleccionó la mejor de cada paciente y en caso de que no cumpliera con el parámetro del número de células, se seleccionaron 2 o más laminillas que cumplieran con los criterios (enriquecer la muestras), todo esto para asegurar la calidad suficiente para el procesamiento de estas.

Una vez seleccionadas las laminillas se verificó la existencia de los bloques de parafina correspondientes. Además de lo anterior, se realizó una evaluación macroscópica para asegurar calidad y grosor del tejido. Para un mayor control de la zona seleccionada, se contrastó la región de la laminilla con el bloque en correspondencia con el área seleccionada por el patólogo.

Posterior a esto, se realizaron los cortes directos del bloque o en su caso se efectuó la re-inclusión del tejido seleccionado. El grosor y el número de células fueron factores importantes para la determinación en el número de cortes.

Concomitantemente, se revisó el expediente clínico de cada paciente para consignar las variables relacionadas con la neoplasia, tratamiento y expresión de p53, p21 y p16, así como los datos para el cálculo de la supervivencia global y la supervivencia libre de la enfermedad.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Obtención y purificación del ADN

Los materiales de partida para la purificación de ADN fueron los cortes con un espesor de hasta 10 micras. Se emplearon navajas nuevas por cada muestra, limpiando el cabezal del micrótopo con DNA RAY, y cada cuatro muestras se sometieron a rayos ultravioleta durante 2 minutos. El tejido se cortó en un cuarto por separado, empleado para tales fines, con el objeto de evitar la contaminación cruzada. La extracción de ADN se realizó en campana de flujo laminar (labgard marca Nuare) para evitar aerosoles que contaminaran las muestras. En primer lugar, se realizó la desparafinación en las muestras en parafina. Posterior a esto, se realizó directamente la extracción de ADN para evitar su degradación y se realizó la PCR.

Detección y tipificación del virus

Con la finalidad de detectar los tipos de papiloma en las muestras se empleó la técnica de INNO-LiPA, basado en el principio de hibridación reversa, diseñada para la identificación de 28 genotipos diferentes de Virus Papiloma Humano (VPH) mediante la detección de secuencias específicas de la región L1 del genoma.

El ensayo utiliza la amplificación de regiones de virus de papiloma de aproximadamente 65pb con un juego de oligonucleótidos llamados SPF10. El ensayo detecta algunos de los genotipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82), y genotipos de VPH de bajo riesgo (6, 11, 40, 43, 44, 54, 70), así como algunos tipos adicionales (69, 71, 74). El procesamiento automatizado de las tiras se llevó a cabo utilizando el equipo Auto-LiPA™ 48.

Control de calidad

Esta técnica tiene diversos controles de calidad y son los siguientes:

La primera línea es la línea del control del conjugado. Esta línea estuvo siempre presente. La segunda línea es una línea de control de ADN humano. El kit contiene los oligonucleótidos que amplifican un fragmento del gen HLA-DPB1 humano para supervisar la calidad de la muestra y la eficiencia de extracción. La tercera línea es

el control positivo incluido en el kit y que contiene HPV6 y HLA-DPB1. Como control negativo se utilizó un riñón de ratón macho cepa Windstar entre cada 4 muestras.

Detección de Linfocitos Infiltrantes del Tumor CD4⁺ y CD8⁺

Las inmunohistoquímicas de doble marcaje se realizaron a partir de cortes de tejidos a 2µm de grosor. Los tejidos se desparafinaron en Xileno y se deshidrataron en concentraciones descendentes de etanol (100% a 70%). El pre-tratamiento se realizó en Buffer EDTA, en olla de presión durante 10 minutos. La inactivación de las peroxidases endógenas se efectuó exponiendo los tejidos a una solución de H₂O₂ al 3% durante 5 minutos y posteriormente se bloquearon con “Novocastra Protein Block” (Leica) durante 10 minutos. A continuación, se agregó el primer anticuerpo primario Anti CD4 a las concentraciones, temperatura y tiempos de incubación estandarizados, y de forma paralela.

Subsecuentemente, los tejidos se incubaron con Match 2 AP-polymer durante 30 minutos y se revelaron con el sistema Warp Red Chromogen Kit. Después del primer revelado, se desnaturalizó el tejido durante 10 min a temperatura ambiente. Se agregó el segundo anticuerpo primario Anti CD8 y se incubó durante 1h, para posteriormente incubarse a 30 min con Match 4 HRP Plymer y revelarse con VinaGreen. Finalmente, se contra-tiñieron y se montaron.

En cada laminilla se incluyó un control negativo, mismo que se trató sin los anticuerpos primarios. Los controles positivos se seleccionaron de ganglios linfáticos, amígdala y apéndice. Su evaluación fue determinada por la cuantificación del porcentaje de inmunoexpresión de Linfocitos Infiltrates del Tumor (TILS), CD4⁺, y CD8⁺ de caso por duplicado, para posteriormente obtener un promedio de cada uno.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva y de resumen con medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas de acuerdo con la distribución de la variable. Para las variables de tipo cualitativo, se realizó la prueba de Chi² o prueba exacta de Fisher y para las variables cuantitativas se realizó la prueba t de Student o U de Mann Whitney.

Así mismo, se efectuó un análisis bivariado de los factores conocidos para supervivencia del CByO, estimando la asociación a través del Hazard Ratio (HR) e intervalos de confianza al 95 (I.C.95%) por medio del modelo de regresión de Cox, verificando el supuesto de proporcionalidad en el tiempo. También se probó la significancia conjunta en las categorías de las variables.

La interacción entre el VPH y otros factores pronósticos se evaluó por medio del modelo de regresión de Cox en un análisis univariado y multivariado, considerando variables confusoras y de interacción. Los datos de supervivencia se analizaron mediante el método de Kaplan Meier y las curvas de supervivencia se compararon a través de la prueba de long-rank por medio del paquete estadístico STATA versión 15. StataCorp. 2017. *Stata Statistical Software*. College Station.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio fue revisado y aprobado por los Comités Institucionales del INCan (CI/211/15), y siguió los lineamientos internacionales para investigación definidos en la Declaración de Helsinki en su revisión de 1996, en concordancia con las Guías de Buena Práctica Clínica, y con apego a la Ley General de Salud (Título Segundo, Capítulo I: artículo 13 y Título Sexto, Capítulo único) de los Estados Unidos Mexicanos.

Debido a la naturaleza del estudio, se dispensó el consentimiento informado por escrito, considerándose un estudio con riesgo inferior al mínimo. Las muestras utilizadas todas eran de tejido fijado o en su caso, tejido fresco del banco de tumores con autorización previa del paciente para su almacenamiento y potencial material de investigación. Se revisaron los datos del expediente clínico. Los investigadores del estudio no tuvieron injerencia alguna sobre el manejo de los pacientes incluidos.

Durante el estudio, se mantuvo la confidencialidad de la información, tanto la correspondiente a patología como la información clínica y epidemiológica relacionada.

RESULTADOS

FACTORES DEMOGRAFICOS Y EPIDEMIOLOGICOS

En esta cohorte de 5 años se incluyeron 203 pacientes con CO de los cuales, el 84.7%(n=172) residían en la Ciudad de México o estados conurbados, seguidos del 10.8% (n=22) en el sureste, el 3.4% (n=7) en Occidente y 1% en el Noreste del país (n=2).



Figura 1.- Factores demográficos. Lugar de residencia de los pacientes con CByO

El 56.7% (n=115) de los pacientes fueron hombres. En este estudio, más del 60% contaban con una baja escolaridad, 19.7% (n=40) eran analfabetas y el 42.9% (n=87) tuvieron una escolaridad menor a 6 años. El 47.3% (n=96) se encontraban casados. Las ocupaciones con mayor prevalencia fueron cuidadoras del hogar (19.2%) seguido de agricultores (18.7%).

La mediana de ingreso mensual fue de \$4350 (Q1=2320, Q3=7000). El 47.8% (n=97) era su propio proveedor.

La mediana de inicio de vida sexual fue a los 18 años (Q1=16, Q3=20). El número de parejas sexuales fue 0 a 18 parejas (Tabla 1).

Tabla 1. Factores demográficos y epidemiológicos

Factores demográficos	N=203 (%)	VPH-Negativo n=171 (%)	VPH-Positivo n=32 (%)	Valor p
Género				
Hombre	115 (56.7)	93 (54.4)	22 (68.8)	0.132 ^a
Mujer	88 (43.3)	78 (45.6)	10 (31.2)	
Edad	62.7 ± 13.7	63.5 (13.4)	58.7 (14.8)	0.072 ^b
Escolaridad				0.26 ^a
Analfabeta	40 (19.7)	37 (21.6)	3 (9.3)	
< 6 años	87 (42.9)	75 (43.9)	12 (37.5)	
7 a 9 años	25 (12.3)	10 (11.1)	6 (18.8)	
10 a 12 años	22 (10.9)	18 (10.5)	4 (12.5)	
>12 años	29 (14.2)	22 (12.9)	7 (21.8)	
Estado civil				0.087 ^a
Soltero	24 (11.8)	21 (12.3)	3 (9.4)	
Casado	96 (47.3)	83 (48.5)	13 (40.6)	
Unión libre	22 (10.8)	14 (8.1)	8 (25.0)	
Divorciado	33 (16.3)	28 (16.4)	5 (15.6)	
Viudo	28 (13.8)	25 (14.6)	3 (9.4)	
Ocupación				0.099 ^c
Agricultor	38 (18.7)	35 (20.5)	3 (9.4)	
Ama de casa	39 (19.2)	34 (19.9)	5 (15.6)	
Comerciante	19 (9.4)	15 (8.8)	4 (12.5)	
Chofer	7 (3.4)	6 (3.5)	1 (3.1)	
Albañil	6 (3.0)	5 (2.9)	1 (3.1)	
Desempleado	13 (6.4)	50 (29.2)	6 (18.8)	
Otras	81 (39.9)	26 (15.2)	12 (37.5)	
Lugar de residencia en el país				0.466 ^c
Noroeste	2 (1.0)	1 (0.6)	1 (3.1)	
Occidente	7 (3.4)	6 (3.5)	1 (3.1)	
Centro	172 (84.7)	144 (84.2)	28 (87.5)	
Sureste	22 (10.8)	20 (11.7)	2 (6.3)	
Ingreso mensual	4350 (2320-7000)	4400 (2400-7000)	3850 (2050-7400)	0.017 ^c
Nivel socioeconómico^d				
Marginal	65 (32.0)	54 (31.6)	11 (34.4)	
Baja	82 (40.4)	73 (42.7)	9 (28.1)	
Media Baja	47 (23.2)	39 (22.8)	8 (25.0)	
Media	5 (2.5)	4 (2.34)	1 (3.1)	
Media alta	1 (0.5)	1 (0.6)	0 (0.0)	
Alta	3 (1.5)	0 (0.0)	3 (9.4)	
Propio proveedor				0.010 ^a
No	106 (52.2)	96 (56.1)	10 (31.2)	
Si	97 (47.8)	75 (43.9)	22 (68.8)	

^a Prueba chi² ; ^b Prueba t de Student ; ^c Prueba exacta de Fisher d U-Mann Whitney; ^d De acuerdo a la clasificación de la Asociación Mexicana de Agencias de Investigación y Opinión Pública.

ANTECEDENTES CLÍNICOS Y DEMOGRÁFICOS

A partir de la aparición de los síntomas, los individuos del estudio acudieron con algún profesional de la salud entre 1 y 5 veces. El 46.3% (n=94) acudieron al médico, y el 19.7% (n=40) fueron referidos al INCan por algún odontólogo.

La higiene oral de los pacientes fue evaluada a través del reporte del número de cepillados durante el día, en 101 (50.2%) de los pacientes se logró obtener este dato, donde el 4% (n=4) no tenían este hábito y únicamente el 9.9% (n=10) reportaron el cepillado 3 veces al día.

El 45.2% (n=89) reportó tener algún antecedente heredofamiliar a cáncer.

El 43.8% (n=89) presentaba algún tipo de comorbilidad al diagnóstico, las comorbilidades más frecuentes fueron: hipertensión, 24.1% (n=49), diabetes mellitus 5.9% (n=12) o ambas, en 9.8% (n=20). Se encontraron otras comorbilidades como: glaucoma en 0.98% (n=2); Síndrome Sjorgen, 0.49% (n=1); hipotiroidismo, 0.98% (n=2); depresión, 0.49% (n=1); enfisema pulmonar, 0.49% (n=1), y 0.49% con osteoartritis (n=1).

El 43% (n=83) de los pacientes tenían un peso normal al diagnóstico, más del 50% (n=102) tenían sobrepeso o algún grado de obesidad de acuerdo con el índice de masa corporal.

El 50% (n=99) de los pacientes reportaron no fumar. En cuanto al consumo de alcohol, el 44.3% (n=85) de los pacientes negaron el hábito (**Tabla 2**).

FACTORES RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD

La localización anatómica con mayor afectación fue la lengua móvil con el 44.8% (n=91). Otros sitios con afectación fueron la zona interna del labio, el carrillo, encía, piso de boca, paladar duro y trigono retromolar.

La etapa clínica al diagnóstico con mayor prevalencia fue la etapa IVa con el 43.2% de los casos (n=83)

Respecto a la capacidad física al momento del diagnóstico de acuerdo con el índice de Karfnosky el 53.2% (n=108) reportó tener una escala del 90 y únicamente el 1.5%

(n=3) reportó una escala inferior a 60. De acuerdo con la escala ECOG el 49.7% (n=98) se encontraba totalmente activo vs el 43.7% (n=86) que presentaban restricción en la actividad física.

El promedio en la demora del diagnóstico a partir de la aparición de síntomas fue de 11 meses con un rango desde los 4 días hasta los 13 años. La mediana en la demora al diagnóstico fue de 6 meses. (Tabla 3)

Tabla 2. Antecedentes relacionados con el CB.

Factores antecedentes	N=203(%)	VPH-Negativo n=171 (%)	VPH-Positivo n=32 (%)	Valor p
Primer contacto por las lesiones en cavidad oral				0.361 ^c
Médico	94 (46.3)	83 (48.5)	11 (34.4)	
Odontólogo	43 (21.2)	33 (19.3)	10 (31.3)	
Ambos	40 (19.7)	33 (19.3)	7 (21.9)	
Desconocido	26 (12.8)	22 (12.9)	4 (12.5)	
Número de profesionales a los que consultó previo al diagnóstico				0.524 ^c
1	94 (49.0)	78 (48.5)	16 (51.6)	
2	72 (37.5)	63 (39.1)	9 (29.0)	
3	19 (9.35)	14 (8.7)	5 (16.1)	
4	6 (3.1)	5 (3.1)	1 (3.2)	
5	1 (0.5)	1 (0.6)	0 (0.0)	
Quién lo refirió al INCan				0.179 ^c
Médico	126 (62.0)	110 (64.7)	16 (48.5)	
Odontólogo	40 (19.7)	30 (17.7)	10 (30.3)	
Ambos	3 (1.5)	2 (1.2)	1 (3.0)	
Desconocido	34 (16.8)	28 (16.5)	6 (18.2)	
Número de cepillado dental por día	n=109	n=83	n=26	0.009 ^c
Nunca	4 (3.6)	4 (4.8)	0 (0.0)	
1 vez	9 (8.3)	8 (9.6)	1 (3.8)	
2 veces	78 (71.6)	63 (75.9)	15 (57.7)	
3 veces	18 (16.5)	8 (9.6)	10 (38.5)	
Edad de inicio de vida sexual sexual	n=138	n=114	n=20	0.518 ^d
Mediana (cuartil25, cuartil75)	18 (16,20)	18 (16, 20)	18 (16.5,18)	

^a Prueba chi²; ^b Prueba t de Student; ^c Prueba exacta de Fisher ^dU-Mann Whitney

Tabla 3. Factores Clínicos de pacientes con CByO

Factores clínicos	n=203 (%)	VPH-Negativo n=171 (%)	VPH-Positivo n=32 (%)	Valor p
Localización				
Labio	10 (4.9)	9 (5.3)	1 (3.1)	0.097 ^a
Carrillo	6 (3.0)	5 (2.9)	1 (3.1)	
Encía	43 (21.1)	38 (22.2)	5 (15.6)	
Lengua móvil	91 (44.8)	75 (43.9)	16 (50.0)	
Piso de boca	15 (7.4)	12 (7.0)	3 (9.4)	
Paladar duro	18 (8.9)	15 (8.8)	3 (9.4)	
Trígono retromolar	20 (9.9)	17 (9.9)	3 (9.4)	
AHF n=197				
No	108 (54.8)	95 (57.6)	13 (40.6)	
Si	89 (45.2)	70 (42.4)	19 (59.4)	
Comorbilidades				0.051 ^a
No	114 (56.2)	91 (53.2)	23 (71.9)	
Si	89 (43.8)	80 (46.8)	9 (28.1)	
IMC n=193				0.045 ^c
Bajo peso	9 (4.7)	8 (4.9)	1 (3.5)	
Peso normal	83 (43.0)	65 (39.6)	18 (62.1)	
Sobrepeso	71 (36.8)	65 (39.6)	6 (20.7)	
Obesidad grado I	21 (10.9)	20 (12.2)	1 (3.5)	
Obesidad grado II	7 (3.6)	5 (3.0)	2 (6.9)	
Obesidad grado III	2 (1.0)	1 (0.6)	1 (3.5)	
Índice Karmofsky				0.400 ^c
100	54 (26.6)	42 (24.6)	12 (37.5)	
90	108 (53.2)	93 (54.4)	15 (46.9)	
80	28 (13.8)	25 (14.6)	3 (9.4)	
70	10 (4.9)	9 (5.3)	1 (3.1)	
>60	3 (1.5)	2 (1.2)	1 (3.1)	
ECOG n=197				0.033 ^c
Totalmente activo	98 (49.8)	77 (46.7)	21 (65.6)	
Restricción en actividad física	86 (43.7)	78 (47.3)	8 (25.0)	
Ambulatorio y autocuidado	11 (5.6)	9 (5.5)	2 (6.3)	
Autocuidado limitado	1 (0.5)	1 (0.6)	0 (0.0)	
Incapacitado	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (3.1)	
Tabaquismo n=196				0.544 ^a
Negado	99 (50.5)	86 (51.8)	13 (43.3)	
Fumador	50 (25.5)	40 (24.1)	10 (33.3)	
Exfumador	47 (24.0)	40 (24.1)	7 (23.3)	
Índice tabáquico				0.442 ^c
Nulo	n=178 140 (78.7)	n=152 122 (80.3)	n=26 18 (69.2)	
Moderado	15 (8.4)	12 (7.9)	3 (11.5)	
Intenso	15 (8.4)	12 (7.9)	3 (11.5)	
Alto	8 (4.5)	6 (4.0)	2 (7.7)	
Alcoholismo n=192				0.234 ^a
Negado	85 (44.3)	n=165 77 (46.7)	n=27 8 (29.6)	
Bebedor	75 (39.0)	27 (16.4)	5 (18.5)	
Exbebedor	32 (16.7)	61 (37.0)	14 (51.9)	

^a Prueba χ^2 ; ^b Prueba t de Student; ^c Prueba exacta de Fisher

En la Tabla 4 se muestran los valores bioquímicos más importantes alrededor del diagnóstico. El 41% (n=43) tenían baja la concentración de albúmina antes del primer tratamiento, así como la hemoglobina en 15% (n=28) de los pacientes.

Por otra parte, en el 25.1% (n=45) de los pacientes se encontraron niveles altos en la glucosa previos al tratamiento, así como en los niveles de plaquetas en el 11.8% (n=22) (Observar tabla 4).

Tabla 4. Factores hematológicos

Factores hematológicos*	n=203 (%)	VPH-Negativo n=171 (%)	VPH-Positivo n=32 (%)	Valor p
Albúmina n=105				0.043 ^a
Bajo	43 (41.0)	40 (44.9)	3 (18.8)	
Normal	62 (59.0)	49 (55.1)	13 (81.2)	
Hematocrito n=187				0.32 ^a
Bajo	33 (17.6)	30 (18.8)	3 (10.7)	
Normal	128 (68.4)	105 (66.0)	23 (82.1)	
Alto	26 (13.9)	24 (15.1)	2 (7.1)	
Hemoglobina n=187				0.29 ^a
Bajo	28 (15.0)	25 (15.7)	3 (10.7)	
Normal	137 (73.2)	113 (71.1)	24 (85.7)	
Alto	22 (11.8)	21 (13.2)	1 (3.6)	
Leucocitos n=186				0.51 ^a
Bajo	9 (4.8)	7 (4.4)	1 (7.1)	
Normal	138 (74.2)	116 (73.4)	22 (78.6)	
Alto	39 (21.0)	35 (22.2)	4 (14.3)	
Linfocitos n=185				0.17 ^a
Bajo	32 (17.3)	27 (17.2)	5 (17.9)	
Normal	145 (78.4)	125 (79.6)	20 (71.4)	
Alto	8 (4.3)	5 (3.2)	3 (10.7)	
Plaquetas n=186				0.56 ^a
Bajo	4 (2.2)	3 (1.9)	1 (3.5)	
Normal	160 (86.0)	137 (86.7)	23 (82.1)	
Alto	22 (11.8)	18 (11.4)	4 (14.3)	
Glucosa n=179				0.14 ^a
Bajo	5 (2.8)	5 (3.3)	0 (0.0)	
Normal	129 (72.1)	106 (69.3)	23 (88.5)	
Alto	45 (25.1)	42 (27.5)	3 (11.5)	

^a Prueba exacta de Fisher *Antes del 1er. Tratamiento

FACTORES HISTOPATOLÓGICOS

El 78.3% (n=159) de las muestras correspondían a carcinoma epidermoide, el grado histológico más prevalente fue la categoría G2 (moderadamente diferenciado) con el 84.7% (n=172).

Durante la evaluación patológica el 15.3% (n=31) presentaba invasión perineural, el 22.1% (n=45) linfovascular y el 10.8% (n=22) invasión extracapsular con ruptura y metástasis de ganglios. **(Tabla 5)**

Tabla 5. Factores histopatológicos

Factores hispatológicos	n=203 (%)	VPH- Negativo n=171 (%)	VPH- Positivo n=32 (%)	Valor p
Tipo de carcinoma				
Epidermoide	159 (78.3)	133 (77.8)	26 (81.2)	1.000 ^c
Epidermoide acantolítico	42 (20.7)	36 (21.05)	6 (18.8)	
Basoloide	2 (1.0)	2 (1.2)	0 (0.0)	
Grado histológico				0.660 ^c
G0	1 (0.5)	1 (0.6)	0 (0.0)	
G1	18 (8.9)	16 (9.4)	2 (6.3)	
G2	172 (84.7)	145 (84.8)	27 (84.4)	
G3	12 (5.9)	9 (5.3)	3 (9.4)	
Invasión perineural				0.052 ^c
No	153 (75.4)	129 (75.4)	24 (75.0)	
Si	31 (15.3)	23 (13.5)	8 (25.0)	
No evaluable	19 (9.3)	19 (11.1)	0 (0.0)	
Invasión linfovascular				0.254 ^c
No	140 (69.0)	119 (69.6)	21 (65.6)	
Si	45 (22.1)	35 (20.5)	10 (31.3)	
No evaluable	18 (8.9)	17 (9.9)	1 (3.1)	
Invasión extracapsular				0.893 ^c
No	54 (26.6)	43 (25.2)	11 (34.4)	
No hay ganglios	109 (53.7)	93 (54.4)	16 (50.0)	
No evaluable	4 (2.0)	4 (2.3)	0 (0.0)	
Metástasis sin ruptura capsular	11 (5.4)	10 (5.9)	1 (3.1)	
Ruptura capsular sin metástas	3 (1.5)	3 (1.8)	0 (0.0)	
Ambas	22 (10.8)	18 (10.5)	4 (12.5)	

^a Prueba χ^2 ; ^b Prueba t de Student ; ^c Prueba exacta de Fisher

RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO ONCOLÓGICO

De acuerdo con la clasificación del Tumor, Nodo, Metástasis (TNM) el 60% se encontraban con una neoplasia avanzada resecable.

El tratamiento de primera línea empleado en el 37% de los pacientes fue la cirugía (Cx) más radioterapia o radio quimioterapia (Rt ó Rt/Qt), donde el 45.6% presentaron una respuesta completa de la enfermedad.

El 42.2% (n=65) de los procedimientos quirúrgicos de primera línea tuvieron un margen quirúrgico de 0.1 a 0.5 milímetros.

En 109 (53.6%) pacientes, la respuesta al tratamiento de primera línea no fue exitosa, el 5.5% (n=6) presentó enfermedad estable, el 41.3% (n=45) presentó progresión regional, el 24.8% (n=27) progresión local y 6.4% (n=7) progresión a distancia, y el 30% (n=24) presentó recurrencia posterior a los 6 meses de haber terminado el tratamiento.

Sesenta y siete pacientes tuvieron una segunda línea de tratamiento, la cirugía fue la más empleada (n=18, 26.9%). En 15 pacientes, se empleó una tercera línea de tratamiento en donde a 5 (33.3%) de ellos se les realizó Cirugía y a 4 (26.7%) QT paliativa.

Tabla 6. Factores relacionados con el tratamiento

Factores del tratamiento	n=203 (%)	VPH-Negativo n=171 (%)	VPH-Positivo n=32 (%)	Valor p
T Clasificación TNM				
Temprano	45 (22.2)	39 (22.8)	6 (18.8)	0.478 °
Avanzado resecable	119 (58.6)	101 (59.1)	18 (56.3)	
Avanzado irresecable	21 (10.3)	18 (10.5)	3 (9.4)	
Metastásico	5 (2.5)	3 (1.8)	2 (6.3)	
Indeterminado ipo de tratamiento	13 (6.4)	10 (5.9)	3 (9.4)	
Respuesta al 1er tx n=171				0.047 °
Respuesta clínica parcial	14 (8.2)	8 (5.6)	6 (21.4)	0.451 °
Respuesta clínica completa	78 (45.6)	69 (48.3)	9 (32.1)	
Enfermedad estable	13 (7.6)	10 (7.0)	3 (10.7)	
Recurrencia	7 (4.1)	7 (4.9)	0 (0.0)	
Progresión	59 (34.5)	49 (34.3)	10 (35.7)	
Localización de la recurrencia o prog n=109 (a lo largo del estudio)				
Enfermedad estable	6 (5.5)	4 (4.4)	2 (10.5)	

Recurrencia local	11 (10.1)	9 (10.0)	2 (10.5)	0.216 ^c
Recurrencia regional	11 (10.1)	9 (10.0)	2 (10.5)	
Recurrencia distante	2 (1.8)	1 (1.1)	1 (5.3)	
Progresión local	27 (24.8)	21 (23.3)	6 (31.6)	
Progresión regional	45 (41.3)	39 (43.3)	0 (0.0)	
Progresión distante	7 (6.4)	7 (7.8)	2 (10.5)	
Segunda línea de tratamiento				
Ninguno	136 (67.0)	116 (67.8)	20 (62.5)	0.151 ^c
Rt	14 (6.9)	11 (6.4)	2 (6.3)	
Qt/Rt de inducción	2 (1.0)	0 (0.0)	2 (6.3)	
Qt paliativa	14 (6.9)	12 (7.0)	3 (9.4)	
Cirugía	18 (8.9)	16 (9.4)	2 (6.3)	
Qt de inducción	1 (0.5)	1 (0.6)	0 (0.0)	
Cx + Rt	4 (2.0)	4 (2.3)	0 (0.0)	
Tx paliativo (medicamentos)	11 (5.4)	9 (5.3)	2 (6.3)	
Rt paliativa	3 (1.5)	2 (1.2)	1 (3.1)	
Tercera línea TX				
Ninguno	188 (92.6)	160 (93.5)	28 (87.5)	
Cirugía	5 (2.5)	3 (1.8)	2 (6.3)	
Qt paliativa	4 (2.0)	4 (2.4)	1 (3.1)	
Tx Paliativo (medicamentos)	4 (2.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	
Rt	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Rt/Qt	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (3.1)	

^a Prueba χ^2 ; ^b Prueba t de Student; ^c Prueba exacta de Fisher

FACTORES INMUNOLOGICOS EN EL TUMOR

En la evaluación inmunohistoquímica el 26.3% (n=45) de las muestras fueron p16-positivas, el 60.8% (n=104) fueron positivas a p53 y el 30.2% (n=26) positivas a p21.

En el examen hematológico, el 35.3% (n=66) de los pacientes tenían niveles altos de neutrófilos y el 17.3% (n=32) tenían niveles bajos de linfocitos.

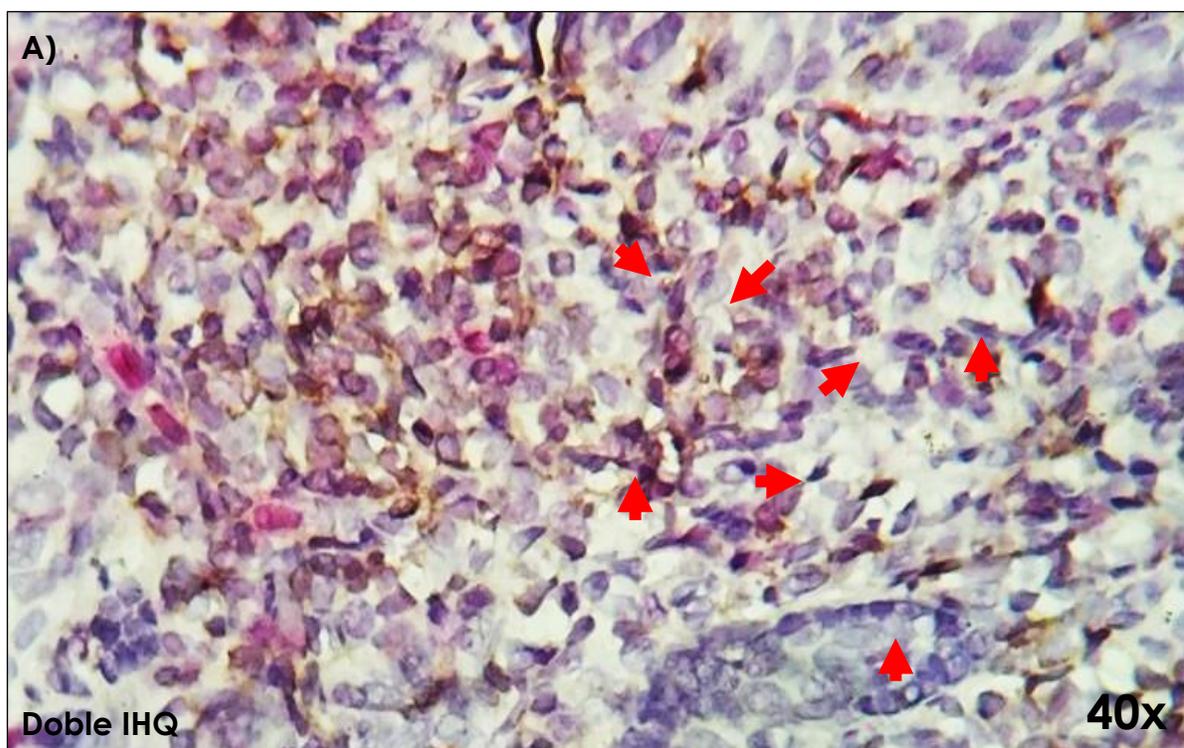
El promedio del porcentaje de las TILs (Linfocitos Infiltrantes del tumor) en la evaluación de los microarreglos fue del 6.1% \pm 3.1%, el promedio de los CD4+ fue del 40.5% \pm 2% y para los CD8+ la mediana fue del 55% (Q1=45, Q3=60).



Figura 2.- Muestras y controles

Figura 3.-Microarreglos

Figura 4.- Sobreexpresión de linfocitos CD4, CD 4/T-bet y CD8



Expresión de CD4

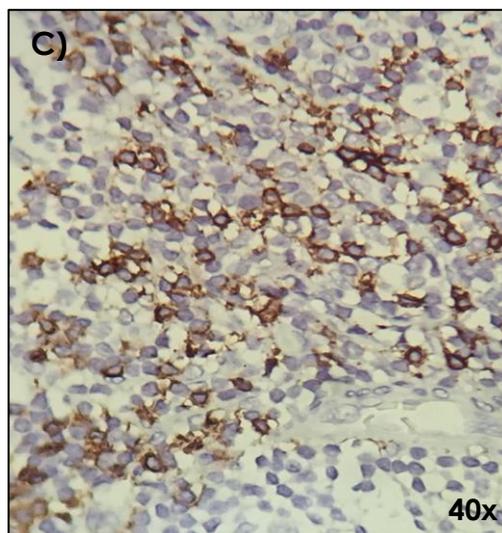
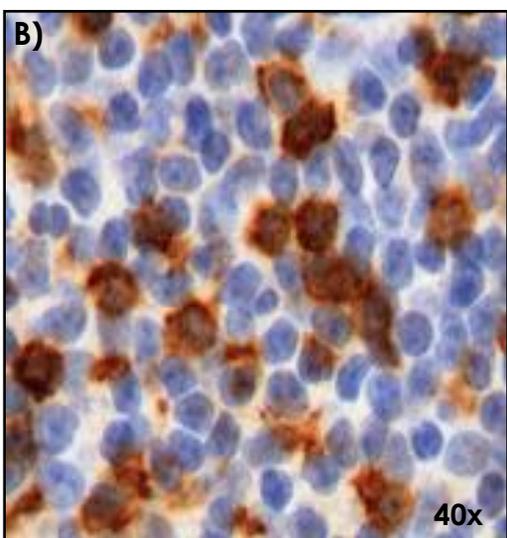


Figura. 4.- A) Expresión de CD4 y T-bet en carcinoma de células escamosas de paladar, B) expresión de CD4 en el carcinoma de células escamosas en biopsia en lengua móvil y C) Expresión de en los nidos tumorales, en cortes de biopsias de pacientes con carcinoma de células escamosas de cavidad oral.

INMUNOFLUORESCENCIA MÚLTIPLEX

Otro de los resultados obtenidos de manera exploratoria fue la estandarización de la técnica por inmunofluorescencia de CD4⁺ y CD8⁺ (**Figura 5**)

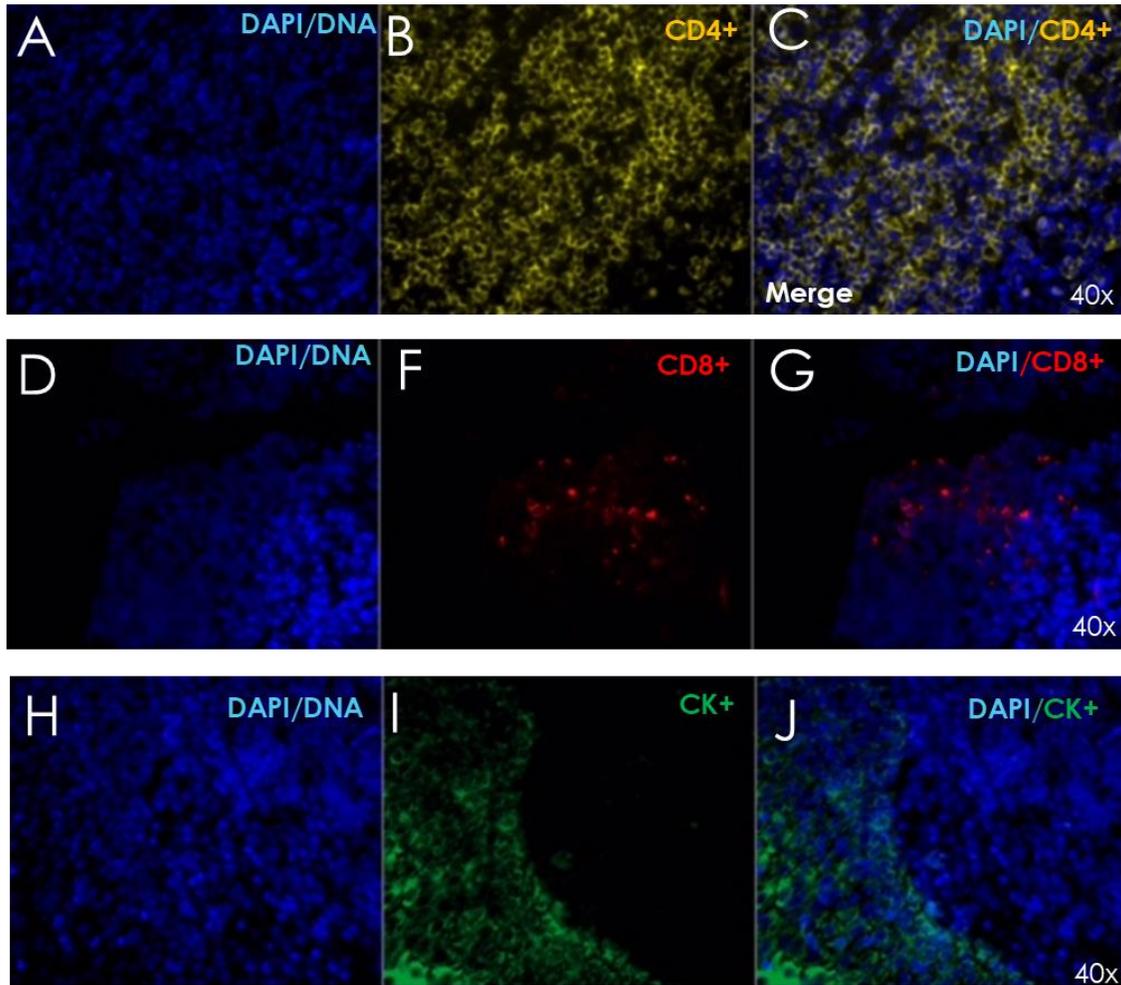


Figura 5.- Expresión de CD4⁺, CD8⁺ y CK⁺ en carcinoma de células escamosas de amígdala

Tabla 7. Marcadores inmunológicos

<i>Marcadores inmunológicos</i>		VPH-Negativo n=171 (%)	VPH-Positivo n=32 (%)	Valor p
P16 n=171				0.013 ^a
Positivo	45 (26.3)	33 (22.8)	12 (46.1)	
Negativo	126 (73.7)	112 (77.2)	14 (53.9)	
P53 n=171				0.723 ^a
Positivo	104 (60.8)	89 (61.4)	15 (57.7)	
Negativo	67 (39.2)	56 (38.6)	11 (42.3)	
P21 =86				0.799 ^a
Positivo	26 (30.2)	21 (30.9)	5 (27.8)	
Negativo	60 (69.8)	47 (69.1)	13 (72.2)	
Promedio TILS				0.057 ^b
Mean (%) ± D.E.	6.1 ± 3.1	15.5 ± 2.9	9.4 ± 1.6	
Promedio CD4				0.504 ^b
Mean (%) ± D.E.	40.5 ± 2	39 ± 3.3	42 ± 2.4	
Promedio CD8				0.464 ^c
Mediana (%) (Q1,Q3)	55 (45,60)	55 (40, 60)	55 (50,60)	

^a Prueba χ^2 ; ^b Prueba t de Student; ^c Prueba U de Mann-Whitney

GENOTIPOFICACIÓN DE VPH

La prevalencia de DNA de VPH en las muestras fue del 15.7% (n=32), encontrando tipos tanto de bajo como de alto riesgo. Los tipos detectados de bajo riesgo fueron 11, 53 y 66 y de alto riesgo fueron 16, 18, 35, 39, 52, 55,58, 59 y 66.

El 9.4% (n=3) fueron muestras de pacientes coinfectados con VPH tanto de alto como de bajo riesgo.

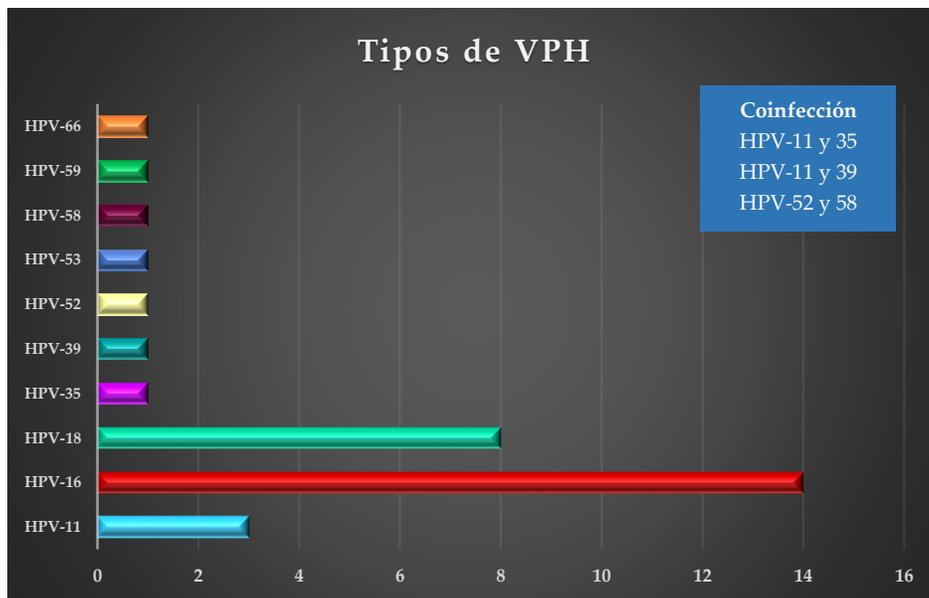


Figura 6.-Tipos de VPH detectados en pacientes con Cáncer Oral

FACTORES CLÍNICOS ENTRE LOS PACIENTES VPH-POSITIVOS Y VPH-NEGATIVOS

Al comparar diversas variables por análisis univariados entre los pacientes VPH-Positivos y VPH-Negativos se encontraron diferencias en la media del IMC ($P=0.045$), el nivel socioeconómico ($P=0.017$), ser su propio proveedor ($P=0.010$), la escala ECOG ($P=0.03$), la respuesta al tratamiento ($P=0.047$) y la positividad de P16 ($P=0.013$). (Ver en cuadros correspondientes).

Ochenta y nueve de 197 pacientes (45.1%) reportaron AHF para cáncer de primera línea de consanguinidad y los tipos con mayor frecuencia fueron: el cáncer de cabeza y cuello el CACU y el cáncer de mama en HPV-negativos y en HPV-positivos el CACU, seguido de estómago, útero, mama y páncreas, entre otros.

SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

En esta cohorte a 5 años de seguimiento se presentaron 101 defunciones (49.7%). Durante el primer y segundo año se presentó un mayor número de muertes, a **(Figura 7)**

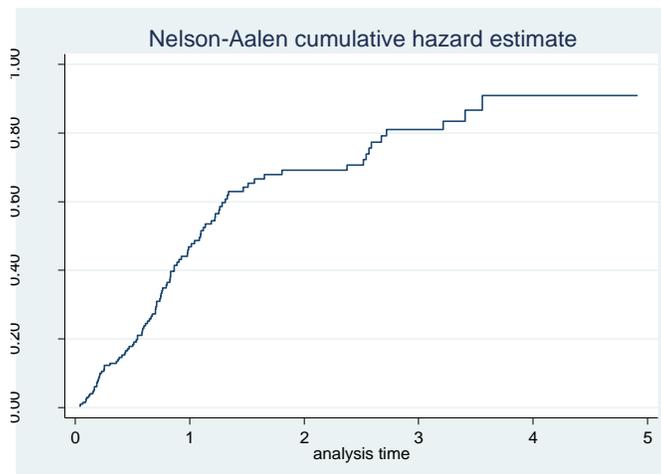


Figura 7.-Estimación del riesgo acumulado Nelson-Aalen

La mediana de seguimiento fue 1.11 años ($Q1=0.062$ años, $Q3=2.8$ años), y la mediana de supervivencia fue de 1.80 años ($Q1=0.70$ años), con un tiempo en riesgo de 327.54 años-persona.

Tabla 8. Hazard Ratio a 5 años de seguimiento

Interval	Beg. Total	Cum. Failure	Std. Error	Hazard	Std. Error	[95% Conf. Int.]
0 1	203	0.4680	0.0350	0.6109	0.0597	0.4940 0.7279
1 2	108	0.6552	0.0334	0.4270	0.0677	0.2943 0.5596
2 3	70	0.7882	0.0287	0.4779	0.0893	0.3028 0.6529
3 4	43	0.9704	0.0119	1.5102	0.1628	1.1912 1.8292
4 5	6	1.0000	.	2.0000	0.0000	2.0000 2.0000

Tabla 9. Supervivencia a 5 años de seguimiento

Interval	Beg. Total	Deaths	Lost	Survival	Std. Error	[95% Conf. Int.]
0 1	203	95	0	0.5320	0.0350	0.4611 0.5979
1 2	108	38	0	0.3448	0.0334	0.2802 0.4102
2 3	70	27	0	0.2118	0.0287	0.1586 0.2703
3 4	43	37	0	0.0296	0.0119	0.0122 0.0599
4 5	6	6	0	0.0000	.	. .

SUPERVIVENCIA RELACIONADA A LA INFECCIÓN POR VPH

La mediana de supervivencia para pacientes VPH-positivos fue de 1.25 años (Q1=0.80) vs 2.51 años VPH-negativos (Q1=0.66) (P= 0.61)

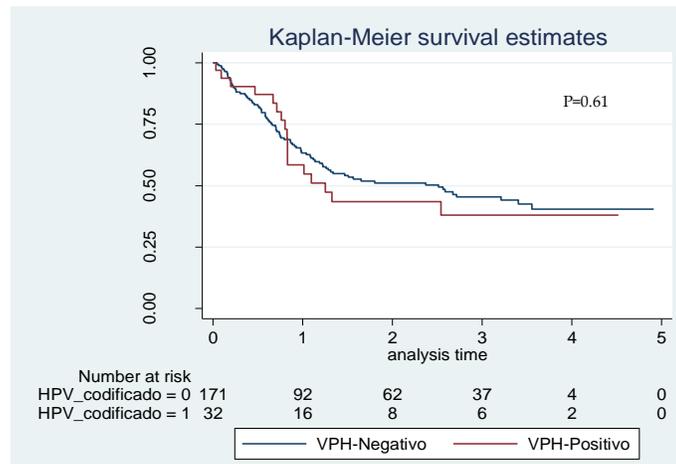


Figura 8.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier

El mayor número de muertes, tanto en pacientes VPH-positivas y VPH-negativas ocurrió dentro de los 2 primeros años. **(Figura 9)**

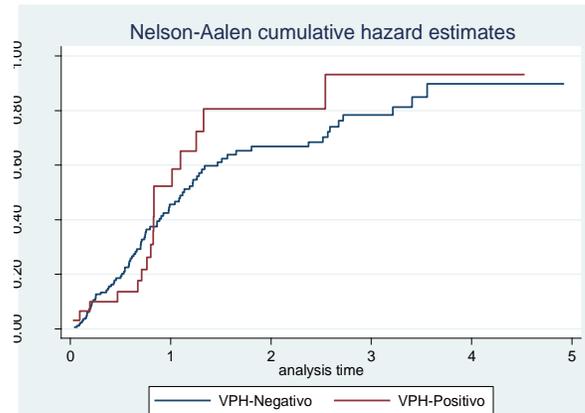


Figura 9.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier

Tabla 10. Supervivencia a 5 años de seguimiento estratificada por VPH

Interval	Beg. Total	Deaths	Lost	Survival	Std. Error	[95% Conf. Int.]		
0								
0	1	171	58	21	0.6386	0.0379	0.5592	0.7076
1	2	92	17	13	0.5117	0.0410	0.4286	0.5886
2	3	62	6	19	0.4532	0.0427	0.3680	0.5344
3	4	37	3	30	0.3914	0.0496	0.2945	0.4868
4	5	4	0	4	0.3914	0.0496	0.2945	0.4868
1								
0	1	32	12	4	0.6000	0.0894	0.4045	0.7495
1	2	16	4	4	0.4286	0.0966	0.2400	0.6047
2	3	8	1	1	0.3714	0.0992	0.1864	0.5577
3	4	6	0	4	0.3714	0.0992	0.1864	0.5577
4	5	2	0	2	0.3714	0.0992	0.1864	0.5577

Tabla 11. Hazard Ratio a 5 años de seguimiento estratificada por VPH

Interval	Beg. Total	Cum. Failure	Std. Error	Hazard	Std. Error	[95% Conf. Int.]		
HPV_codificado 1								
0	1	171	0.3614	0.0379	0.4411	0.0565	0.3303	0.5518
1	2	92	0.4883	0.0410	0.2208	0.0532	0.1165	0.3251
2	3	62	0.5468	0.0427	0.1212	0.0494	0.0244	0.2180
3	4	37	0.6086	0.0496	0.1463	0.0843	0.0000	0.3115
4	5	4	0.6086	0.0496	0.0000	.	.	.
HPV_codificado 2								
0	1	32	0.4000	0.0894	0.5000	0.1398	0.2261	0.7739
1	2	16	0.5714	0.0966	0.3333	0.1643	0.0112	0.6554
2	3	8	0.6286	0.0992	0.1429	0.1425	0.0000	0.4221
3	4	6	0.6286	0.0992	0.0000	.	.	.
4	5	2	0.6286	0.0992	0.0000	.	.	.

ANALISIS MULTIVARIADO

En el análisis multivariado los factores que impactaron favorablemente a la supervivencia fue la presencia de VPH en el tumor, incrementando la supervivencia en los pacientes VPH positivos (HR=0.29, P=0.08-0.95), ajustado por otros factores (**Tabla 8**). Por su parte, los factores que impactaron negativamente a la supervivencia fueron: una etapa clínica más avanzada (HR=29.5, IC.95% de 2.98 a 292, p=0.004), los bajos niveles de hemoglobina al diagnóstico (HR=2.48, IC.95% de 0.99 a 6.20 p=0.05), la ruptura capsular ganglionar (HR=9.80 IC.95% de 2.08 a 46., p=0.004) y los niveles altos de neutrófilos en sangre previo al tratamiento (HR=2.98, IC.95% de 1.39 a 6.39, p=0.005).

Tabla 12. Análisis multivariado

Variable	Hazard Ratio	I.C.	Valor-P
Edad	1.02	0.99-1.05	0.08
VPH			
Positivo	0.29	0.08-0.95	0.04
Etapa clínica			
II	3.28	0.31-34.2	0.32
III	0.87	0.07-9.59	0.91
IVa	4.85	0.61-38.3	0.13
IVb	29.5	2.98-292	0.004
IVc	6.36	0.39-102	0.19
Albúmina	0.76	0.32-1.81	0.54
Hemoglobina			
Bajo	2.48	0.99-6.20	0.05
Alto	0.47	0.77-2.88	0.41
Invasión extracapsular			
No hay ganglios	1.73	0.70-4.25	0.22
Metástasis sin ruptura	3.87	0.69-21.5	0.12
Ruptura sin metástasis	9.80	2.08-46.1	0.004
Ambas	2.52	0.61-10.4	0.20
Neutrófilos absolutos	2.98	1.39-6.39	0.005
Linfocitos absolutos			
Bajo	0.46	0.17-1.26	0.13
Alto	1.23	0.22-6.79	0.80

DISCUSIÓN

En la presente investigación se obtuvieron datos clínicos y epidemiológicos relevantes, cubriendo áreas poco abordadas en la investigación del cáncer en México. Las cifras concretas de las tasas de incidencia como de mortalidad del CB en México en los últimos 10 años son desconocidas, además, se carece de información sobre las tendencias a través de los años. Documentar este proceso de cambio es de fundamental para la toma de decisiones tanto para su prevención, manejo y vigilancia.

A nivel mundial, esta neoplasia ha presentado un incremento sobre las tasas de incidencia y letalidad, principalmente en regiones menos favorecidas de acuerdo con el índice de desarrollo. La incidencia del CB de acuerdo con el género es similar en los diversos países, identificado el 70% de incidencia del CB en hombres (86), aunque en la presente investigación, la incidencia del CB fue semejante entre hombres y mujeres, inclusive en un estudio de cohorte previo, encontramos el mismo comportamiento (87). Este hallazgo, genera nuevas hipótesis que difieren de lo reportado en la literatura, lo que podría traducirse a un comportamiento particular de los factores de riesgo para el CB en las mujeres en esta región que de acuerdo con la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT) en México se registró un aumento tanto de tabaco y alcohol en dicho género donde el consumo excesivo de alcohol entre el 2011 al 2017 en las mujeres fue de 4.1% al 10.3% y de tabaco fue de 9.8 a 13.7% (88). Por lo que las nuevas investigaciones deberán considerar describir el cambio del comportamiento de la incidencia respecto al género.

El tipo de ocupación se ha relacionado como uno de los factores de riesgo para el desarrollo del CB, tal es el caso de nuestra cohorte, en donde identificamos una mayor prevalencia de la enfermedad en agricultores, seguida de las cuidadoras del hogar. Se ha documentado que el agricultor tiene una exposición prolongada a pesticidas con sustancias carcinogénicas y metales pesados encontrados en el suelo agrícola, tales como el níquel y el arsénico (89,90). Respecto a las cuidadoras del hogar hay poca información al respecto. Algunas de las exposiciones son al

polvo de harina, y los gases generados durante la combustión del aceite; sin embargo, poco se puede concluir al respecto. En estudios futuros, la investigación prospectiva y detallada sobre exposiciones diversas, podría dar información al respecto. El alcance de la investigación sólo abordó factores pronósticos, sin embargo, ante esta observación sería relevante investigar si la ocupación tiene un efecto también en la incidencia del CB.

Al igual que en países similares al nuestro, como es el caso de Brasil (91), el nivel escolar de los participantes presento una muy baja escolaridad. Sesenta por ciento de los pacientes de esta cohorte, contaban con 1 a 6 años de educación o nula educación. Esto sin duda es un problema que requiere atención, ya que potencialmente existen potenciales medidas de prevención sencillas y eficaces que podrían reducir esta neoplasia, en ya de por si un grupo desfavorecido de personas.

Un dato que no se aborda en la investigación del CB es la demora del diagnóstico y el número de consultas previas. Encontramos que el tiempo de demora oscilo entre los 4 días a los 331 días desde la presentación de signos y síntomas. El número de consultas previas al diagnóstico fue de hasta 5 profesionales de la salud, tanto médicos, odontólogos u ambos, destacando los médicos con más del 40%. Este dato es clave para fortalecer un diagnóstico oportuno y el conocimiento sobre la detección de esta neoplasia tiene que ser continuamente actualizada entre los profesionales de la salud como lo señala una revisión sistemática que concluye que la mayoría de los médicos se sentían inseguros sobre diagnosticar el CB y plantearon la necesidad de una mayor educación (92). En nuestra cohorte destaca que la mayor parte de los casos, se localizaron en la lengua móvil, sitio potencial de detección oportuna si los médicos u odontólogos que por primera vez atienden a estos pacientes, identifican correctamente la lesión y establecen una referencia oportuna. En nuestra cohorte, la etapa clínica al diagnóstico con más frecuencia fue la etapa IVa, similar a lo reportado por la literatura mundial (93) por lo que es necesario la implementación de campañas de prevención y de diagnóstico temprano en México.

El antecedente heredofamiliar de cáncer estuvo presente en el 45% de los pacientes, cifra elevada en comparación a lo informado en un estudio de casos y controles en Francia (94), por lo que es obligatorio efectuar más estudios, que entre otros permitan el estudio de perfiles genéticos y epigenéticos en pacientes mexicanos (95).

El VPH es considerado tanto un factor de riesgo como un factor pronóstico en los pacientes con CB, y a pesar de la importancia clínica de su detección aún no se ha definido un protocolo o directrices mundiales sobre cuándo, que método emplear y por qué evaluar el estado del VPH en este tipo de cáncer (96). La mayoría de los estudios sobre la prevalencia del VPH en cabeza y cuello se han centrado en los tipos de alto riesgo, VPH16 y 18, sin embargo, otros tipos de VPH figuran en el CB y deben evaluarse para tener un mejor estimado sobre su frecuencia e importancia (97).

Nuestro estudio detectó una prevalencia global de VPH de 32%, con 9.4% de coinfecciones fue del 9.4%. De haberse considerado únicamente los tipos VPH-16 y VPH-18 la prevalencia hubiese descendido un 5%, y no se hubiesen detectado los tipos VPH 11, 35, 39, 52, 53, 55, 58, 59 y 66 impactando con ello los datos epidemiológicos de múltiples genotipos de VPH presentes en el carcinoma de células escamosas de esta cohorte. Esta prevalencia es similar a lo reportado en la literatura mundial, aunque, en comparación con los estudios realizados en México sobre VPH y CB, la prevalencia incrementó 4% (98), asimismo, en países de América Central se conoce que el VPH tiene mayor prevalencia en el CB en comparación con otras regiones geográficas y sitios anatómicos de cabeza y cuello (99).

La detección del VPH en pacientes con CB es importante, principalmente porque se conoce que los cánceres asociados con el VPH muestran diferentes perfiles clínicos, patológicos, moleculares y epidemiológicos. También presentan una respuesta diversa a la terapia y muestran una mejor tasa de supervivencia general (100) y una menor tasa de recurrencia (87,101).

En el análisis de otras variables, más allá del VPH, los factores demográficos significativos respecto la presencia del VPH fueron: el nivel socioeconómico y que el paciente fuera su propio proveedor. Dentro de los factores demográficos el nivel socioeconómico más bajo en pacientes VPH negativos fue más frecuente, concordante con los estudios de Semprini (102); además, encontramos que el nivel socioeconómico tuvo diferencias significativas entre las medianas del tiempo de los síntomas a la fecha del diagnóstico ($P=0.021$) pero no estratificada por VPH ($P=0.98$).

Otra variable significativa para el estudio fue que el 68% de los pacientes VPH-positivos vs el 43% era su propio proveedor ($p=0.010$), en nuestro estudio no resultó un factor para la supervivencia, sin embargo, este dato podría tener un impacto para el tratamiento y pronóstico. Este dato es relevante porque brinda un panorama sobre el contexto de la vida de un paciente con CB. A su vez, los pacientes VPH positivos reportaron un mayor número de cepillados al día ($p=0.009$) sin embargo, se desconoce la correlación entre un mayor cuidado de la salud bucal tras los signos y síntomas de la neoplasia y de la infección.

Aunque no tuvo significancia estadística en el modelo multivariado, los pacientes VPH positivos tuvieron una mejor funcionalidad de acuerdo con el ECOG, con una diferencia del 20% respecto a pacientes VPH negativos; en la escala de Karnofsky, esto puede ser comparado también con los hallazgos en un estudio realizado en Brasil (103) y sería consistente con diversos estudios en pacientes con cáncer en donde una mejor funcionalidad basal se asocia con una mejor respuesta al tratamiento (104).

La etapa clínica y la respuesta al tratamiento son factores clave en cuanto a la supervivencia de los pacientes con CB. En esta cohorte se encontraron diferencias en la respuesta a la primera línea de tratamiento y el estatus del VPH. En un estudio realizado en Australia por Elizabeth C. y cols. encontraron que pacientes VPH positivos tienen mejores respuestas al tratamiento con radioterapia, por otro lado, de acuerdo con otros estudios y en especial el estudio de un caso de cáncer de lengua en etapa avanzada, se encontró que ser positivo a p16 obtuvo una mejor

respuesta a la quimioterapia (105). Por lo que se generaron nuevas hipótesis sobre la estratificación del riesgo de cánceres orales de lengua en etapa temprana y avanzada según el estado del VPH y la inmunoexpresión de p16. Establecer las características y comportamiento de P16 y la infección por VPH en cavidad oral hasta el momento es limitado, se conoce su función como un supresor de tumoral que se une a la ciclina D1 del Complejo CDK que previene la fosforilación de pRB durante el ciclo celular. Diversos estudios han demostrado consistentemente que la infección por VPH y la inmunoexpresión p16 son factores pronósticos independientes favorable en los cánceres de cabeza y cuello, especialmente entre los cánceres orofaríngeos (106-108). Algunos estudios no han mostrado relevancia pronóstica relacionado con la pérdida de la expresión de p16 (109).

Sin embargo, también se ha documentado que la expresión de p16 sin HPV, podría ser una entidad distinta que muestra que la presencia de VPH no siempre garantizar la sobreexpresión de p16 como lo encontrado en algunos casos de esta investigación, por lo tanto, el comportamiento de los tumores p16 positivos que carecen de VPH no está claro y aún falta mayor investigación de existir diferencias entre estos factores sobre la selección y respuesta al tratamiento (110-111).

El tratamiento más empleado en estos pacientes fue la Cirugía (Cx) más Radioterapia o Radio quimioterapia, donde más del 40% tuvieron respuesta completa de la enfermedad. Se ha documentado que el tratamiento con radioterapia y quimioterapia posterior a la cirugía puede aumentar la probabilidad de supervivencia (112).

Respecto a los factores inmunológicos encontramos diferencias estadísticamente significativas con p16, los pacientes VPH positivos presentaron el doble de positividad en comparación a los pacientes VPH negativos. Estudios recientes señalan inclusive una correlación entre la positividad de VPH con la positividad de p16, razón que ha impulsado a diversos investigadores a sugerir que éste podría ser un marcador subrogado de la presencia de VPH (106). Controversialmente se ha documentado que no es fiable, debido a que la positividad de p16 podría estar regulada por diferentes vías, independientemente de la presencia de VPH (105).

Nuestro estudio no tenía por objetivo el alcance correlacional, sin embargo, concluimos detectar la presencia de VPH por un método específico, porque evitaríamos sesgar la prevalencia además de considerar que este dato es relevante para la clínica, el tratamiento y la supervivencia del paciente.

En este estudio, la mortalidad fue del 49.7% similar a lo reportado en la literatura, con una mediana de supervivencia de 1.80 años (113). La supervivencia global a 5 años fue de 50.3% siendo esta cifra mayor a lo encontrado en pacientes de Malasia con una supervivencia reportada a 5 años del 18% (114).

Seis factores mostraron efectos diferenciales en la supervivencia de los pacientes con CB: la edad en el momento del diagnóstico, el estadio clínico, la presencia de DNA de VPH en el tejido tumoral, la invasión extracapsular, la albúmina sérica, los neutrófilos absolutos, y los niveles de hemoglobina.

En 1975, los pacientes jóvenes con cáncer de cabeza y cuello fueron reconocidos como entidad clínica distinta (2-6), con un incremento significativo en la incidencia en pacientes con CByO en diversas regiones (115). Nuestro estudio encontró que los pacientes con mayor edad presentaron menor supervivencia, consistente con el estudio realizado por Geleijnse y cols. donde analizaron los datos de 41,663 pacientes de Taiwan y Países Bajos (116).

Otro hallazgo del estudio, y similar a otros informados, es que los pacientes con estadios avanzados de la enfermedad tienen un mayor riesgo de muerte (116,117). Los pacientes diagnosticados en estadios avanzados (III-IV) presentan una supervivencia global a los 5 años del 40% frente al 85% de los diagnosticados en estadios más tempranos.

Asimismo, encontramos al VPH como un factor pronóstico en el cáncer oral, este dato concuerda con las investigaciones realizadas por Adaia Valls y cols. en pacientes con cáncer bucal (118). En pacientes con cáncer de cabeza y cuello esta observación también ha sido reportada (119). Gran parte de la literatura en relación

con la presencia del VPH y una mejor supervivencia se ha realizado en el cáncer orofaríngeo; sin embargo, en el caso del CB esta asociación aún no ha sido ampliamente estudiada (120); sin embargo, nuestros datos confirman que no es el único sitio por considerar y connota la importancia de su detección, con un potencial impacto en el pronóstico de ésta última neoplasia.

Diversos autores han reportado que la presencia de metástasis ganglionares y en particular, la ruptura capsular impacta de forma negativa en la supervivencia de los pacientes con CB (121-123).

La invasión extracapsular por muchos años ha sido considerada como un factor de peor pronóstico incluso en los tumores tempranos, ya que ésta podría ser predictora de metástasis (124), consistente con lo hallado en nuestro estudio donde logramos identificar un HR de 2.52 para la supervivencia global a 5 años. Este hallazgo fue similar a lo encontrado por Rajappa y Cols. con bajas tasas de supervivencia (125).

Se ha documentado que los neutrófilos tienen un papel en la progresión del cáncer, no sólo en el microambiente tumoral local sino también en el torrente sanguíneo periférico (126). Estudios recientes han ubicado a los neutrófilos como actores centrales con otras células inmunes y tumorales que afectan la patología del cáncer (127).

En nuestro estudio la cuenta absoluta de neutrófilos al momento del diagnóstico fue un factor pronóstico independiente para la supervivencia de los pacientes, donde una mayor cuantificación se asoció hasta con 2.98 veces más el riesgo de morir, similar a lo informado por Pengfei Diao y cols (126, 127). Este hallazgo, junto con otros marcadores debe ser investigado en estudios prospectivos, pues bien podría contribuir para la construcción de escalas predictoras de riesgo a través, por ejemplo, del “machine learning”

Aunque no muchos estudios describen la relación de los niveles de hemoglobina al diagnóstico del cáncer bucal con la supervivencia de estos pacientes, en nuestra cohorte encontramos que los pacientes con niveles bajos de hemoglobina presentaron 2.28 veces más riesgo de morir en comparación con los pacientes con

cifras normales. Este hallazgo tiene similitud a lo reportado por autores diversos (128-130), donde un nivel bajo de hemoglobina fue un factor pronóstico adverso independiente para una peor supervivencia. Clínicamente, la reducción del nivel de hemoglobina está relacionada con la presencia de tumores que causan inflamación crónica. Asimismo, la presencia de anemia se relaciona con mal pronóstico, aumentando el riesgo de mortalidad. Al igual que la hipoalbuminemia es un marcador de desnutrición crónica con un impacto negativo sobre la supervivencia de los pacientes.

En años recientes, se han descrito otros factores pronósticos de interés en cáncer, y el CB no es la excepción. Tal es el caso de los Linfocitos Infiltrantes del Tumor (LITs). La presente investigación estudio los LITs específicamente CD4+ y CD8+ con el objetivo de describir el microambiente tumoral y describir las diferencias ante la presencia de VPH. Interesantemente, identificamos que el número expresado de LITs, CD4+ y CD8+ presentaban una distribución normal en los tejidos de pacientes VPH positivos, en comparación con los tumores con VPH negativos, donde, únicamente la distribución normal se presentó en los linfocitos CD8+. Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los promedios de expresión por el estado del VPH este dato, podría ser relevante en la descripción de su comportamiento y seguir apoyando la hipótesis de una mejor respuesta inmunológica en los pacientes con CB y VPH+, donde al parecer se mantiene y confiere una supervivencia más larga, a diferencia de los pacientes con CB y VPH. Consideramos que deben analizarse un mayor número de muestras y pruebas más específicas para corroborar dicha hipótesis, ya que sólo logramos analizar 50 casos.

Es importante resaltar que los estudios publicados hasta ahora solo analizaron esta relación desde un punto de vista cualitativo o bivariado, a diferencia de esta cohorte. De acuerdo, con una revisión sistemática y metaanálisis realizada por Borsetto y cols. (131), se encontraron diferencias entre el estado de VPH y la expresión de linfocitos, aunque aún falta una mayor investigación con la combinación de otras expresiones como T-bet, p16 y p53 entre otras. Se sugiere que el estudio de los

LITs como biomarcadores en el CB es relevante, ya que podrían ser potenciales blancos terapéuticos (132).

Respecto a otros factores inmunológicos tanto p53 y p16 son supresores tumorales; específicamente forman parte de las proteínas inhibidoras de la cinasa dependiente de ciclina (CDK) durante el ciclo celular. En células normales la expresión de P16 es baja, pero al menos un estudio anterior mostró que las células cancerosas infectadas con VPH de alto riesgo sobreexpresan p16 debido a la oncogénesis inducida por E7. La sobreexpresión de p16 se ha propuesto como un marcador de cáncer relacionado con el VPH, particularmente en los cánceres de cuello uterino y orofarínge. Sin embargo, ha habido algunos resultados contradictorios sobre el uso de p16 como marcador de OSCC relacionado con el VPH. Por lo tanto, no está claro si p16 se puede utilizar como marcador de CB VPH positivo y en una evaluación cuantitativa cuáles serían los puntos de corte (133).

En nuestro estudio se hallaron diferencias significativas entre la expresión de p16 y el estatus del VPH, encontrando una mayor expresión en tejidos positivos para VPH, similar a otros estudios realizados en China y Houston (134). En los casos analizados, solo el 38% (n=12) de los tejidos VPH positivos expresaron p16, de estos, en el 90% se detectó algún tipo de VPH de alto riesgo, similar a lo descrito por Christian Doll (135). Considerando estos hallazgos, es debatible si p16 pudiese ser un marcador subrogado para la presencia de VPH. Por otro lado, tampoco se encontró como un factor independiente para la supervivencia, semejante a lo reportado en Tailandia (136).

Respecto a la positividad a p53 ésta fue del 60%, similar al estudio realizado por Schildt y cols (137), en donde se encontró que 63% de los carcinomas orales sobre expresaban p53. La inmunopositividad para p53 tampoco tuvo diferencias significativas entre hombres y mujeres (58.7% vs 63.5 $p=0.52$) (138), con la edad ($p=0.33$), tabaquismo ($p=0.14$) consumo de alcohol ($p=0.70$), o con la recurrencia de la enfermedad ($p=0.37$), o el estatus del VPH ($p=0.72$). Sin embargo, se necesitan más estudios con un tamaño de muestra más grande y un seguimiento

más prolongado. Si se encontraron diferencias significativas entre un mayor promedio de linfocitos CD4 ante la positividad de p53 ($p=0.03$).

En esta cohorte la positividad de p21 fue del 30% cifra similar a lo reportado por Tatemoto y cols. (139), significativas entre la expresión de p21 y el grado de diferenciación tumoral ($p= 0.026$) como en el estudio de Kapranos y cols. (140). Es muy posible que la sobreexpresión de p21 esté causada por mecanismos de transactivación de p53, aunque nuestro estudio encontró un valor limítrofe ante la positividad de p53 y p21 ($p=0.052$) por lo que sería interesante su evaluación con un mayor tamaño muestral. Además, se encontró una significancia estadística entre p53 y la localización anatómica ($p=0.010$) y la diferenciación histológica ($p=0.02$).

LIMITACIONES

Algunas de las limitaciones presente en la investigación fueron particularmente las relacionadas al tipo de estudio, con la posibilidad de estar introduciendo sesgos de información para hábitos como tabaco y alcohol por ser variables auto reportadas. Otra limitación fue la pérdida de información en algunas variables, así como las pérdidas durante el seguimiento. La pérdida de información principalmente afecto a los hombres ya que logramos percatarnos que, en estos, no se contaba con una ficha de información que corresponde al número de parejas sexuales, la edad de inicio de vida sexual, entre otras, en comparación con mujeres donde estos datos se encuentran en antecedentes ginecobstetricias, de donde se recabaron la mayor parte de variables relacionadas con la infección por VPH.

Otra limitación, fue el tamaño de la submuestra para los factores inmunológicos de CD4 y CD8, así como la evaluación patológica de la expresión inmunohistoquímica para p16, p21 y p53 que por recursos fue limitada.

FORTALEZAS

Las fortalezas de este estudio radican en el esfuerzo por describir los factores que impactan la supervivencia de pacientes mexicanos con CB incluidos los factores demográficos, clínicos e inmunológicos; principalmente la detección de VPH con la

presencia de coinfección, y la identificación de los tipos; dato relevante debido a que, en nuestro país, no es detectado en este tipo de neoplasia.

Otra fortaleza fue la inclusión de p21, p53 y p16, y aunque la muestra fue pequeña se muestra su relación y significancia con algunas variables clínicas y puede abrir una línea de estudio y diagnóstico en este grupo de pacientes.

También destaca la sistematización en el procesamiento y análisis del VPH y lo relacionado con el análisis histopatológico y de microarreglos, reduciendo potencialmente los sesgos de selección y otras variables de confusión.

CONCLUSIONES

Investigar en conjunto los factores demográficos, clínicos e inmunológicos relacionados con la presencia de DNA de VPH es el primer paso para comprender las diferencias en el curso clínico de estos tumores, y así también poder describir un panorama sobre las diferencias en los resultados oncológicos para el CB frente al estatus del VPH.

Seis factores demostraron efectos diferenciales significativos para la supervivencia de los pacientes con CB: la edad en el momento del diagnóstico, el estadio clínico, la presencia de DNA de VPH en el tejido tumoral, la invasión extracapsular, la albúmina sérica y neutrófilos absolutos, los niveles de hemoglobina y de linfocitos absolutos al diagnóstico de la neoplasia.

La interrelación de los factores que impactan la supervivencia de estos pacientes es compleja, y requiere del “expertise” y colaboración de diferentes especialistas; sin embargo, puede impactar en un mejor diagnóstico, estratificación pronóstica y tratamiento de los pacientes con CB.

Los factores asociados con la presencia del VPH en pacientes con CB fueron: el bajo nivel socioeconómico, que el paciente fuera su propio proveedor; el número de cepillados al día, el IMC, la escala de ECOG, los niveles de albúmina previo al tratamiento, la respuesta al tratamiento y la inmunoexpresión de p16. Dentro de los

factores histopatológicos se encontró una asociación limítrofe respecto a la invasión linfovascular.

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Nivel de medición
INDEPENDIENTE			
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)	Pertenece a la familia <i>Papillomaviridae</i> , es epiteliotropico es decir, tiene una afinidad por los epitelios y mucosas. Existen más de 100 tipos de VPH. Los cuales se han clasificado como de alto riesgo y de bajo riesgo.	La presencia del VPH se establecerá de acuerdo a la presencia y calidad de DNA genómico humano en el tejido de las muestras. Por medio de la técnica de INNO-LiPA <ul style="list-style-type: none"> • Negativo: No existe genoma del VPH en la muestra • Positivo: Existe genoma del VPH en la muestra y tipo 	Cualitativa nominal dicotómica
DEPENDIENTE			
SUPERVIVENCIA	<p>Supervivencia Global:</p> <p>Tiempo que transcurre desde el momento del diagnóstico hasta la muerte del paciente.</p> <p>Supervivencia libre de progresión</p> <p>Porcentaje de pacientes en etapa avanzada irresecable que no presentan signos de cáncer durante un periodo determinado de tiempo después del tratamiento.</p>	<p>Tiempo de supervivencia global (meses/años)</p> <p>Además:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Vive 2) Muere 3) Perdido <p>Tiempo de supervivencia libre de enfermedad (meses/años)</p> <p>Posibles respuestas :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) No recurre 2) Recurre (después de 6 meses de haber finalizado Tx): <ol style="list-style-type: none"> a) localmente b) regionalmente c) distante 3) Progresión (antes de los 6 meses de haber finalizado Tx) <ol style="list-style-type: none"> a) localmente b) regionalmente c) distante <ul style="list-style-type: none"> • Misma operacionalización anterior 	<p>Cuantitativa continua</p> <p>Cualitativa nominal</p> <p>Cuantitativa continua</p>

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Nivel de medición
EDAD	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de una persona.	Se obtendrá a partir del expediente clínico de cada paciente y se tomarán los años cumplidos en el momento del diagnóstico.	Cuantitativa discreta
SEXO	Característica biológica y fisiológica. Y se divide a la personas en 2 grupos: hombre o mujer.	Esta variable se obtendrá a partir de expediente clínico y se determinará: <ul style="list-style-type: none"> • Hombre • Mujer 	Cualitativa nominal Dicotómica
EDO. CIVIL	Situación determinada por sus relaciones de familia, provenientes del matrimonio o del parentesco.	<ul style="list-style-type: none"> • Soltero/a • Casado/a • Unión Libre • Divorciado/a • Viudo/a • Madre soltera 	Cuantitativa nominal
OCUPACIÓN	Clase o tipo de trabajo desarrollado, con especificación del puesto de trabajo desempeñado	<ul style="list-style-type: none"> • Sin empleo • Trabajo no calificado • Trabajadores de los servicio • Jubilado • Específico 	Cuantitativa Nominal
ESCOLARIDAD	Grado de estudios realizados	<ul style="list-style-type: none"> • Analfabeta • Primaria incompleta • Primaria completa • Secundaria incompleta • Secundaria completa • Preparatoria incompleta • Preparatoria completa • Licenciatura incompleta • Licenciatura completa • Posgrado incompleta • Posgrado completa 	Cualitativa ordinal
ATENCIÓN MÉDICA PREVIA	Describe a un tipo de cuidado de la salud enfocado en la atención médica frente a los signos u síntomas de la enfermedad	<ul style="list-style-type: none"> • Si • Médico • Odontólogo • Ambos • No 	Cualitativa dicotómica
ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES A CÁNCER	Son el registro de las neoplasias que se han dado en su familia. Los cuales, pueden compartir genes, hábitos y entornos que pueden afectar su riesgo de presentar cáncer.	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No • Tipo 	Cualitativa dicotómica
DEMORA EN EL DIAGNOSTICO	Tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la confirmación del Dx.	Fecha del Dx- Fecha de aparición de síntomas	Cuantitativa discreta

ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)	Definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en personas adultas. IMC= peso (kg) / talla ² (m)	Clasificación de acuerdo a la OMS Bajo peso: <18.5 • Normal: 18.5 – 24.9 • Sobrepeso: 25 – 29.9 • Obesidad I: 30 – 34.9 • Obesidad II: 35 – 39.9 • Obesidad III: ≥40	Cualitativa ordinal
CONSUMO DE TABACO (ESTATUS)	Enfermedad crónica sistémica que pertenece al conjunto de las adicciones y que es una de las principales causas de mortalidad evitable en todo el mundo.	De acuerdo a los reactivos de la encuesta nacional de adicciones Se clasificará por estatus del consumo: • <u>Fumador</u> : Persona que al momento de la entrevista reporta fumar por lo menos en el último año. • <u>Exfumador</u> : Persona que al momento de la entrevista reporta no haber fumado en el último año pero si antes con cualquier patrón de consumo. • <u>Nunca fumador</u> : Persona que nunca en su vida ha consumido cigarro.	Cualitativa nominal politómica
ÍNDICE TABAQUICO	<u>No. cigarrillos X duración</u> 20	No. de cigarrillos Duración del hábito	Cuantitativa Discreta
CONSUMO DE ALCOHOL	Ingerir cualquier bebida que contenga alcohol.	Clasificada por estatus del hábito : • <u>Bebedor actual</u> : Persona que ha tomado alcohol por lo menos el último año • <u>Ex bebedor</u> : Persona que ha tomado alcohol alguna vez pero no lo ha vuelto hacer en el último año. • <u>Abstemio</u> : Persona que nunca ha tomado alcohol	Cualitativa nominal politómica
LOCALIZACIÓN ANATOMICA	Sitio anatómico donde se encuentra la neoplasia maligna.	Se obtendrá a partir de datos secundarios y serán clasificados de acuerdo a la clasificación internacional de enfermedades. Cavidad Oral • Labios • Carrillo • Encía • 2/3 anteriores de la lengua (móvil) • Trígono Retromolar • Piso de boca • Paladar duro Orofaringe • 1/3 posterior de la lengua (base) • Paladar Blando • Amígdalas • Pared faríngea lateral	Cualitativa Nominal

GRADO DE DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA	Semejanza que tengan las células del tumor con las células normales del mismo tipo de tejido.	Se obtendrá de acuerdo a la clasificación histológica según Broder modificada por la OMS (Barnes <i>et al.</i> , 2005). <ul style="list-style-type: none"> • G1 carcinomas bien diferenciados • G2 moderadamente diferenciados • G3 indiferenciados • GX no evaluable 	Cualitativa Ordinal
DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO	Diagnóstico de enfermedades a través del estudio de los tejidos.	Carcinoma Epidermoide Carcinoma Epidermoide con áreas acantolíticas Carcinoma Basoloide Carcinoma acantolítico	Cualitativa nominal
INVASIÓN PERINEURAL	Células neoplásicas a lo largo de las cubiertas de los nervios (el perineuro)	Se obtendrá por la visualización ante el microscopio de laminillas incidentes <ul style="list-style-type: none"> • Presente • Ausente • No evaluable 	Cualitativa nominal
INVASIÓN LINFOVASCULAR	Células neoplásicas presentes en vasos sanguíneos (arterias y/o venas) y en vasos linfáticos.	Se obtendrá por la visualización ante el microscopio de laminillas incidentes <ul style="list-style-type: none"> • Presente • Ausente • No evaluable 	Cualitativa nominal
DISEMINACIÓN TUMORAL EXTRACAPSULAR	Afectación ganglionar que presenta una extensión del tumor a través de la cápsula del ganglio asociada a una reacción del estroma.	Se obtendrá por la visualización ante el microscopio de laminillas incidentes. <ul style="list-style-type: none"> • Metástasis y ruptura • Metástasis sin ruptura • Sin ambas • No evaluable 	Cualitativa nominal
MARGENES LIBRES AL TUMOR	Relación entre el tumor residual y la distancia tumoral al borde de la pieza.	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No 	Cuantitativa continua
ESTADIO CLÍNICO	El sistema más empleado el <i>TNM</i> (Tumor, <i>Nódulo</i> y Metástasis) que valora la enfermedad local (tamaño	T: Se refiere al tamaño tumoral y la invasión local en superficie o profundidad y en relación con las estructuras adyacentes afectadas N: Afectación de los ganglios linfáticos regionales	Cualitativa Ordinal escalar

	<p>tumoral), regional (número de ganglios afectados) y diseminación a distancia (presencia de metástasis).</p> <p>Se utiliza para describir la gravedad del cáncer basándose en la extensión del tumor original.</p>	<p>M: presencia de metástasis a distancia</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Estadio</th> <th>T</th> <th>N</th> <th>M</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>Tis</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>I</td> <td>T1</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>T2</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">III</td> <td>T3</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>T1 a T3</td> <td>N1</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">IVA</td> <td>T4a</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>T1 a T4a</td> <td>N2</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">IVB</td> <td>Cualquier T</td> <td>N3</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>T4b</td> <td>Cualquier N</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>IVC</td> <td>Cualquier T</td> <td>Cualquier N</td> <td>M1</td> </tr> </tbody> </table>	Estadio	T	N	M	0	Tis	N0	M0	I	T1	N0	M0	II	T2	N0	M0	III	T3	N0	M0	T1 a T3	N1	M0	IVA	T4a	N0	M0	T1 a T4a	N2	M0	IVB	Cualquier T	N3	M0	T4b	Cualquier N	M0	IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1	
Estadio	T	N	M																																									
0	Tis	N0	M0																																									
I	T1	N0	M0																																									
II	T2	N0	M0																																									
III	T3	N0	M0																																									
	T1 a T3	N1	M0																																									
IVA	T4a	N0	M0																																									
	T1 a T4a	N2	M0																																									
IVB	Cualquier T	N3	M0																																									
	T4b	Cualquier N	M0																																									
IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1																																									
ALGORITMO DE RESPUESTA	Clasificación y agrupación de la etapa clínica de pacientes con OSCC.	<ul style="list-style-type: none"> • Temprano (I y II) • Avanzado resecable (III y IVA) • Avanzado Irresecable (IVB) • Metástasis (IVC) 	Cualitativo nominal																																									
TIPO DE TRATAMIENTO PRIMARIO	Conjunto de medios cuya finalidad es la curación o el alivio de las enfermedades o síntomas.	<ul style="list-style-type: none"> • Cirugía • Radioterapia • Cirugía + Quimioradioterapia • Cirugía + radioterapia • Quimioterapia ± Cirugía • Otro <p>Fecha del último <u>tratamiento</u> Fecha inicial</p>	<p>Cualitativa nominal politómica</p> <p>Cuantitativa discreta</p>																																									
TIPO DE CIRUGÍA	Tipo de cirugía seleccionada, específicamente se aborda para la afectación en el sitio anatómico de la lengua	<ul style="list-style-type: none"> • No aplica • Glosectomía parcial con disección de cuello unilateral • Glosectomía parcial con disección de cuello bilateral • Hemiglosectomía con disección de cuello unilateral • Hemiglosectomía con disección de cuello bilateral • Glosectomía total con disección de cuello unilateral • Glosectomía total con disección de cuello bilateral • Otras 	Cualitativa nominal																																									
RESPUESTA A LA PRIMERA LÍNEA DE TRATAMIENTO	Efecto del tratamiento sobre el tumor	<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta clínica parcial: Reducción del 50% en el tumor medible • Respuesta clínica completa: El tumor ya no es observado en los exámenes visuales ni de exploración • Respuesta patológica completa: Histológicamente ya no es observable 	Cualitativa nominal																																									

		<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad estable • Progresión 																							
COMORBILIDAD	<p>Presencia de uno o más trastornos (o enfermedades) además de la enfermedad o trastorno primario</p> <p>Se midió al inicio del estudio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia • Ausencia • Tipo 	Cualitativa nominal																						
DEMORA DEL DIAGNOSTICO	Tiempo transcurrido antes del diagnóstico histopatológico	Fecha emitida del paciente al inicio de aparición de síntomas	Cuantitativa discreta																						
ESCALA KARNOFSKY	<p>Escala para medir la capacidad de los pacientes con cáncer para realizar actividades cotidianas</p> <p>Se midió al inicio del estudio.</p>	<table border="1"> <tr> <td>100</td> <td>Asintomático Sin evidencia de la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>90</td> <td>Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas</td> </tr> <tr> <td>70</td> <td>Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>Moribundo</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>Fallecido</td> </tr> </table>	100	Asintomático Sin evidencia de la enfermedad	90	Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad	80	Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas	70	Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo	60	Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades	50	Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos	40	Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia	30	Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente	20	Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo	10	Moribundo	0	Fallecido	Cuantitativa discreta
100	Asintomático Sin evidencia de la enfermedad																								
90	Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad																								
80	Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas																								
70	Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo																								
60	Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades																								
50	Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos																								
40	Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia																								
30	Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente																								
20	Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo																								
10	Moribundo																								
0	Fallecido																								
ESCALA DE FUNCIONAL ECOG/OMS	<p>Desarrollada por el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) y validada por la OMS. Esta escala mide la calidad de vida de un paciente exclusivamente con cáncer.</p> <p>Se midió al inicio del estudio.</p>	<table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>Actividad normal sin limitaciones</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Capaz de realizar trabajos ligeros</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>Exitus</td> </tr> </table>	0	Actividad normal sin limitaciones	1	Capaz de realizar trabajos ligeros	2	No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%	3	Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%	4	Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día	5	Exitus	Cualitativa Ordinal										
0	Actividad normal sin limitaciones																								
1	Capaz de realizar trabajos ligeros																								
2	No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%																								
3	Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%																								
4	Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día																								
5	Exitus																								

VARIABLES DE LABORATORIO	Se midieron al inicio del estudio.	Albumina inicial y cercana al 1er. Tx Leucocitos Hemoglobina Hematocrito Plaquetas Neutrófilos absolutos Linfocitos absolutos Glucosa Creatinina	Cuantativa continua
LINFOCITOS CD4+	Tipo de célula inmunitaria que estimula las células T citotóxicas, los macrófagos y las células B para que produzcan respuestas inmunitarias. También conocida "célula T auxiliar".	Se obtendrán porcentajes de marcaje Promedio	Cuantitativa discreta
LINFOCITOS CD8+	Células "supresoras o citotóxicas", finalizan la respuesta inmunológica. también pueden ser "asesinas," a células cancerosas y a células infectadas por virus.	Se obtendrán porcentajes de marcaje Promedio	Cuantitativa discreta
TILS	Células inmunitarias que se acumulan alrededor o dentro de un tumor. Los TIL pueden actuar contra las células neoplásicas y evitar que la enfermedad se propague.	Se obtendrán porcentajes de marcaje Promedio	Cuantitativa discreta
P16	Inhibidor de CDKs y compite por la unión de la ciclina D con CDK4 y CDK6, que a su vez tiene efecto sobre la función de pRb. Cuando se une a las CDKs, p16 inhibe la fosforilación de pRb inactivándolo, deteniéndose así el ciclo celular	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo Obtenido del expediente clínico	Cualitativa nominal
P21	Proteína involucrada en la regulación del ciclo celular. Actúa a nivel del paso de G1 a S y cuando se activa induce apoptosis en respuesta a la alteración del DNA. p53 media su efecto en parte a través de p21 y por ello se estudian normalmente de forma conjunta.	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo Obtenido del expediente clínico	Cualitativa nominal
P53	Conocida como "el guardián del genoma", es un supresor tumoral que desempeña un papel importante en la interrupción de la división celular cuando ocurre un daño en el ADN. Detiene el ciclo celular: antes de la replicación del ADN (entre las fases G1 y S) y antes de la división celular (entre las fases G2 y M).	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo Obtenido del expediente clínico	Cualitativa nominal

BIBLIOGRAFÍA

1. Petersen PE. Oral cancer prevention and control--the approach of the World Health Organization. *Oral oncology*. 2009;45(4-5):454-60.
2. DGE-RHNM. Compendio del Registro Histopatológico de las neoplasias en México. Mortalidad y Morbilidad. Dirección General de Epidemiología 2002.
3. Carrillo JF, Carrillo LC, Cano A, Ramirez-Ortega MC, Chanona JG, Aviles A, et al. Retrospective cohort study of prognostic factors in patients with oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head & neck*. 2016;38(4):536-41.
4. Pericot J, Escriba JM, Valdes A, Biosca MJ, Monner A, Castellsague X, et al. Survival evaluation of treatment modality in squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2000;28(1):49-55.
5. Sánchez GS JC, Espinel BC, Mould QJ, Gómez DH, Fuente HJ, et al. Egresos hospitalarios por cáncer bucal en el IMSS de 1991-2000. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc [Internet]*. 2008; 46(1):[101-8 pp.].
6. Silverman S, Jr. Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge. *Journal of the American Dental Association*. 2001;132 Suppl:7S-11S.
7. Deschler DG, Richmon JD, Khariwala SS, Ferris RL, Wang MB. The "new" head and neck cancer patient--young, nonsmoker, nondrinker, and HPV positive: evaluation. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2014;151(3):375-80.
8. Sankaranarayanan R, Masuyer E, Swaminathan R, Ferlay J, Whelan S. Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer research*. 1998;18(6B):4779-86.
9. Jiron J, Sethi S, Ali-Fehmi R, Franceschi S, Struijk L, van Doorn LJ, et al. Racial disparities in Human Papillomavirus (HPV) associated head and neck cancer. *American journal of otolaryngology*. 2014;35(2):147-53.
10. Lajer CB, von Buchwald C. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2010;118(6-7):510-9.
11. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *Jama*. 2012;307(7):693-703.

12. Ibieta-Zarco BR, Carrillo-Garcia A, Ponce-de-Leon-Rosales S, Flores-Miranda MM, Mohar A, Lizano M. Frequency and genotype distribution of multiple human papillomavirus infections in cancer of the head and neck in a Mexican population. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2012;114(3):350-7.
13. Anaya-Saavedra G, Ramirez-Amador V, Irigoyen-Camacho ME, Garcia-Cuellar CM, Guido-Jimenez M, Mendez-Martinez R, et al. High association of human papillomavirus infection with oral cancer: a case-control study. *Archives of medical research*. 2008;39(2):189-97.
14. Inverso G, Mahal BA, Aizer AA, Donoff RB, Chau NG, Haddad RI. Marital status and head and neck cancer outcomes. *Cancer*. 2015;121(8):1273-8.
15. Shi X, Zhang TT, Hu WP, Ji QH. Marital status and survival of patients with oral cavity squamous cell carcinoma: a population-based study. *Oncotarget*. 2017.
16. Kowalski LP, Franco EL, Torloni H, Fava AS, de Andrade Sobrinho J, Ramos G, et al. Lateness of diagnosis of oral and oropharyngeal carcinoma: factors related to the tumour, the patient and health professionals. *European journal of cancer Part B, Oral oncology*. 1994;30B(3):167-73.
17. van Harten MC, Hoebbers FJ, Kross KW, van Werkhoven ED, van den Brekel MW, van Dijk BA. Determinants of treatment waiting times for head and neck cancer in the Netherlands and their relation to survival. *Oral oncology*. 2015;51(3):272-8.
18. Liu F, Chen F, Huang J, Yan L, Liu F, Wu J, et al. Prospective study on factors affecting the prognosis of oral cancer in a Chinese population. *Oncotarget*. 2017;8(3):4352-9.
19. Albergotti WG, Davis KS, Abberbock S, Bauman JE, Ohr J, Clump DA, et al. Association of pretreatment body mass index and survival in human papillomavirus positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral oncology*. 2016;60:55-60.
20. Moon H, Roh JL, Lee SW, Kim SB, Choi SH, Nam SY, et al. Prognostic value of nutritional and hematologic markers in head and neck squamous cell carcinoma treated by chemoradiotherapy. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2016;118(2):330-4.
21. Shields PG, Herbst RS, Arenberg D, Benowitz NL, Bierut L, Luckart JB, et al. Smoking Cessation, Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2016;14(11):1430-68.
22. Salama JK, Vokes EE. Concurrent chemotherapy and re-irradiation for locoregionally recurrent head and neck cancer. *Seminars in oncology*. 2008;35(3):251-61.

23. Spencer SA, Harris J, Wheeler RH, Machtay M, Schultz C, Spanos W, et al. Final report of RTOG 9610, a multi-institutional trial of reirradiation and chemotherapy for unresectable recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head & neck*. 2008;30(3):281-8.
24. Chang JH, Wu CC, Yuan KS, Wu ATH, Wu SY. Locoregionally recurrent head and neck squamous cell carcinoma: incidence, survival, prognostic factors, and treatment outcomes. *Oncotarget*. 2017.
25. Hafkamp HC, Manni JJ, Haesevoets A, Voogd AC, Schepers M, Bot FJ, et al. Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *International journal of cancer*. 2008;122(12):2656-64.
26. Tribius S, Hoffmann AS, Bastrop S, Gorogh T, Haag J, Rocken C, et al. HPV status in patients with head and neck carcinoma of unknown primary site: HPV, tobacco smoking, and outcome. *Oral oncology*. 2012;48(11):1178-84.
27. Bahig H, Fortin B, Alizadeh M, Lambert L, Filion E, Guertin L, et al. Predictive factors of survival and treatment tolerance in older patients treated with chemotherapy and radiotherapy for locally advanced head and neck cancer. *Oral oncology*. 2015;51(5):521-8.
28. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1073-81.
29. Perisanidis C, Kornek G, Pöschl PW, Holzinger D, Pirklbauer K, Schopper C, et al. High neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent marker of poor disease-specific survival in patients with oral cancer. *Medical Oncology*. 2013;30(1):1-8.
30. Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head & neck*. 2016;38 Suppl 1:E1068-74.
31. Farhan-Alanie OM, McMahon J, McMillan DC. Systemic inflammatory response and survival in patients undergoing curative resection of oral squamous cell carcinoma. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2015;53(2):126-31.
32. Di B, Li XM, Shao YL, He ZG. [Efficacy of radical neck dissection for advanced cervical nodal metastases]. *Zhonghua er bi yan hou tou jing wai ke za zhi = Chinese journal of otorhinolaryngology head and neck surgery*. 2005;40(2):106-10.
33. Sanderson RJ, Ironside JA. Squamous cell carcinomas of the head and neck. *Bmj*. 2002;325(7368):822-7.

34. Yu EH, Tu HF, Wu CH, Yang CC, Chang KW. MicroRNA-21 promotes perineural invasion and impacts survival in patients with oral carcinoma. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMA*. 2017.
35. Tai SK, Li WY, Chu PY, Chang SY, Tsai TL, Wang YF, et al. Risks and clinical implications of perineural invasion in T1-2 oral tongue squamous cell carcinoma. *Head & neck*. 2012;34(7):994-1001.
36. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma overview. *Oral oncology*. 2009;45(4-5):301-8.
37. Anand AK, Agarwal P, Gulia A, Goel V, Jain J, Chaturvedi H, et al. Significance of perineural invasion in locally advanced bucco alveolar complex carcinomas treated with surgery and postoperative radiation +/- concurrent chemotherapy. *Head & neck*. 2017.
38. Sharma P, Shah SV, Taneja C, Patel AM, Patel MD. A prospective study of prognostic factors for recurrence in early oral tongue cancer. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2013;7(11):2559-62.
39. Lin YT, Chien CY, Lu CT, Lou SD, Lu H, Huang CC, et al. Triple-positive pathologic findings in oral cavity cancer are related to a dismal prognosis. *The Laryngoscope*. 2015;125(9):E300-5.
40. Rivera-Pena B, Ruiz-Fullana FJ, Velez-Reyes GL, Rodriguez-Benitez RJ, Marcos-Martinez MJ, Trinidad-Pinedo J, et al. HPV-16 infection modifies overall survival of Puerto Rican HNSCC patients. *Infectious agents and cancer*. 2016;11(1):47.
41. Kim BG, Kim JH, Kim MI, Han JJ, Jung S, Kook MS, et al. Retrospective study on factors affecting the prognosis in oral cancer patients who underwent surgical treatment only. *Maxillofacial plastic and reconstructive surgery*. 2016;38(1):3.
42. Jones AS, Bin Hanafi Z, Nadapalan V, Roland NJ, Kinsella A, Helliwell TR. Do positive resection margins after ablative surgery for head and neck cancer adversely affect prognosis? A study of 352 patients with recurrent carcinoma following radiotherapy treated by salvage surgery. *British journal of cancer*. 1996;74(1):128-32.
43. Nason RW, Binahmed A, Pathak KA, Abdoh AA, Sandor GK. What is the adequate margin of surgical resection in oral cancer? *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2009;107(5):625-9.
44. Upile T, Fisher C, Jerjes W, El Maaytah M, Searle A, Archer D, et al. The uncertainty of the surgical margin in the treatment of head and neck cancer. *Oral oncology*. 2007;43(4):321-6.

45. Mistry RC, Qureshi SS, Kumaran C. Post-resection mucosal margin shrinkage in oral cancer: quantification and significance. *Journal of surgical oncology*. 2005;91(2):131-3.
46. Binahmed A, Nason RW, Abdoh AA. The clinical significance of the positive surgical margin in oral cancer. *Oral oncology*. 2007;43(8):780-4.
47. Wang TC, Hua CH, Lin CC, Tsou YA, Tseng HC, Tsai MH. Risk factors affect the survival outcome of hard palatal and maxillary alveolus squamous cell carcinoma: 10-year review in a tertiary referral center. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2010;110(1):11-7.
48. Poeschl PW, Russmueller G, Seemann R, Klug C, Poeschl E, Sulzbacher I, et al. Staging and grading as prognostic factors in maxillary squamous cell carcinoma. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2011;69(12):3038-44.
49. Kolokythas A, Park S, Schlieve T, Pytynia K, Cox D. Squamous cell carcinoma of the oral tongue: histopathological parameters associated with outcome. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2015;44(9):1069-74.
50. Le DT, Ladle BH, Lee T, Weiss V, Yao X, Leubner A, et al. CD8(+) Foxp3(+) tumor infiltrating lymphocytes accumulate in the context of an effective anti-tumor response. *International journal of cancer*. 2011;129(3):636-47.
51. Nedergaard BS, Ladekarl M, Thomsen HF, Nyengaard JR, Nielsen K. Low density of CD3+, CD4+ and CD8+ cells is associated with increased risk of relapse in squamous cell cervical cancer. *British journal of cancer*. 2007;97(8):1135-8.
52. Wolf GT, Hudson JL, Peterson KA, Miller HL, McClatchey KD. Lymphocyte subpopulations infiltrating squamous carcinomas of the head and neck: correlations with extent of tumor and prognosis. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 1986;95(2):142-52.
53. Badoual C, Hans S, Rodriguez J, Peyrard S, Klein C, Agueznay Nel H, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4+ T-cell subpopulations in head and neck cancers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2006;12(2):465-72.
54. Tertipis N, Hammar U, Nasman A, Vlastos A, Nordfors C, Grun N, et al. A model for predicting clinical outcome in patients with human papillomavirus-positive tonsillar and base of tongue cancer. *European journal of cancer*. 2015;51(12):1580-7.
55. Nordfors C, Grun N, Tertipis N, Ahrlund-Richter A, Haegglblom L, Sivars L, et al. CD8+ and CD4+ tumour infiltrating lymphocytes in relation to human

papillomavirus status and clinical outcome in tonsillar and base of tongue squamous cell carcinoma. *European journal of cancer*. 2013;49(11):2522-30.

56. Wansom D, Light E, Thomas D, Worden F, Prince M, Urba S, et al. Infiltrating lymphocytes and human papillomavirus-16--associated oropharyngeal cancer. *The Laryngoscope*. 2012;122(1):121-7.

57. Wolf GT, Chepeha DB, Bellile E, Nguyen A, Thomas D, McHugh J, et al. Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) and prognosis in oral cavity squamous carcinoma: a preliminary study. *Oral oncology*. 2015;51(1):90-5.

58. van Kempen PM, Noorlag R, Swartz JE, Bovenschen N, Braunius WW, Vermeulen JF, et al. Oropharyngeal squamous cell carcinomas differentially express granzyme inhibitors. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*. 2016;65(5):575-85.

59. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(4):261-9.

60. Braakhuis BJ, Brakenhoff RH, Meijer CJ, Snijders PJ, Leemans CR. Human papilloma virus in head and neck cancer: the need for a standardised assay to assess the full clinical importance. *European journal of cancer*. 2009;45(17):2935-9.

61. Licitra L, Felip E, Group EGW. Squamous cell carcinoma of the head and neck: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2009;20 Suppl 4:121-2.

62. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *The New England journal of medicine*. 2003;348(6):518-27.

63. Hoory T, Monie A, Gravitt P, Wu TC. Molecular epidemiology of human papillomavirus. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*. 2008;107(3):198-217.

64. Rivero ER, Nunes FD. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. *Brazilian oral research*. 2006;20(1):21-4.

65. Izarzugaza MI, Esparza H, Aguirre JM. Epidemiological aspects of oral and pharyngeal cancers in the Basque Country. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2001;30(9):521-6.

66. Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, Dunne EF, Mahajan R, Ocfemia MC, et al. Sexually transmitted infections among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. *Sexually transmitted diseases*. 2013;40(3):187-93.
67. El VPH y el cáncer orofaríngeo | CDC [Internet]. [cited 2023 Jun 26]. Available from: https://www.cdc.gov/spanish/cancer/hpv/basic_info/hpv_oropharyngeal.htm
68. Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, Markowitz LE. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sexually transmitted diseases*. 2014;41(11):660-4.
69. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, et al. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health And Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *The Journal of infectious diseases*. 2011;204(4):566-73.
70. Ragin CC, Taioli E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. *International journal of cancer*. 2007;121(8):1813-20.
71. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2005;14(2):467-75.
72. Mizumachi T, Kano S, Sakashita T, Hatakeyama H, Suzuki S, Homma A, et al. Improved survival of Japanese patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *International journal of clinical oncology*. 2013;18(5):824-8.
73. Schache AG, Liloglou T, Risk JM, Filia A, Jones TM, Sheard J, et al. Evaluation of human papilloma virus diagnostic testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma: sensitivity, specificity, and prognostic discrimination. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011;17(19):6262-71.
74. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2000;92(9):709-20.
75. Attner P, Du J, Nasman A, Hammarstedt L, Ramqvist T, Lindholm J, et al. The role of human papillomavirus in the increased incidence of base of tongue cancer. *International journal of cancer*. 2010;126(12):2879-84.
76. Jung AC, Briolat J, Millon R, de Reynies A, Rickman D, Thomas E, et al. Biological and clinical relevance of transcriptionally active human papillomavirus

(HPV) infection in oropharynx squamous cell carcinoma. *International journal of cancer*. 2010;126(8):1882-94.

77. Pyeon D, Newton MA, Lambert PF, den Boon JA, Sengupta S, Marsit CJ, et al. Fundamental differences in cell cycle deregulation in human papillomavirus-positive and human papillomavirus-negative head/neck and cervical cancers. *Cancer research*. 2007;67(10):4605-19.

78. Jung AC, Guihard S, Krugell S, Ledrappier S, Brochot A, Dalstein V, et al. CD8-alpha T-cell infiltration in human papillomavirus-related oropharyngeal carcinoma correlates with improved patient prognosis. *International journal of cancer*. 2013;132(2):E26-36.

79. Hoffmann TK, Arsov C, Schirlau K, Bas M, Friebe-Hoffmann U, Klusmann JP, et al. T cells specific for HPV16 E7 epitopes in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx. *International journal of cancer*. 2006;118(8):1984-91.

80. Williams R, Lee DW, Elzey BD, Anderson ME, Hostager BS, Lee JH. Preclinical models of HPV+ and HPV- HNSCC in mice: an immune clearance of HPV+ HNSCC. *Head & neck*. 2009;31(7):911-8.

81. Heusinkveld M, Goedemans R, Briet RJ, Gelderblom H, Nortier JW, Gorter A, et al. Systemic and local human papillomavirus 16-specific T-cell immunity in patients with head and neck cancer. *International journal of cancer*. 2012;131(2):E74-85.

82. Castellsague X, Alemany L, Quer M, Halc G, Quiros B, Tous S, et al. HPV Involvement in Head and Neck Cancers: Comprehensive Assessment of Biomarkers in 3680 Patients. *Journal of the National Cancer Institute*. 2016;108(6):djv403.

83. Levine AJ, Perry ME, Chang A, Silver A, Dittmer D, Wu M, et al. The 1993 Walter Hubert Lecture: the role of the p53 tumour-suppressor gene in tumorigenesis. *British journal of cancer*. 1994;69(3):409-16.

84. Haraf DJ, Nodzinski E, Brachman D, Mick R, Montag A, Graves D, et al. Human papilloma virus and p53 in head and neck cancer: clinical correlates and survival. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1996;2(4):755-62.

85. Worden FP, Kumar B, Lee JS, Wolf GT, Cordell KG, Taylor JM, et al. Chemoselection as a strategy for organ preservation in advanced oropharynx cancer: response and survival positively associated with HPV16 copy number. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(19):3138-46.

86. Ren, Z. H., Hu, C. Y., He, H. R., Li, Y. J. & Lyu, J. Global and regional burdens of oral cancer from 1990 to 2017: Results from the global burden of disease study. *Cancer Commun* 40, 81 (2020).
87. Pérez-Islas, E. *et al.* Prognostic importance of DNA from human papillomavirus in patients with oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 27, e150–e158 (2022).
88. Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 20.16-2017: Reporte alcohol . 49 https://encuestas.insp.mx/repositorio/encuestas/ENCODAT2016/doctos/informes/r eporte_encodat_alcohol_2016_2017.pdf.
89. Su, C. C. *et al.* Incidence of oral cancer in relation to nickel and arsenic concentrations in farm soils of patients' residential areas in Taiwan. *BMC Public Health* 10, 67 (2010).
90. Boffetta, P. & Nyberg, F. Contribution of environmental factors to cancer risk. *Br Med Bull* 68, 71–94 (2003).
91. Dantas, T. S. *et al.* Influence of Educational Level, Stage, and Histological Type on Survival of Oral Cancer in a Brazilian Population: A Retrospective Study of 10 Years Observation. *Medicine* 95, (2016).
92. Saraswat, N., Everett, B., Pillay, R., Prabhu, N. & George, A. Knowledge, attitudes and practices of general medical practitioners in developed countries regarding oral cancer: an integrative review. *Fam Pract* 37, 592 (2020).
93. Warnakulasuriya, S. & Kerr, A. R. Oral Cancer Screening: Past, Present, and Future. *J Dent Res* 100, 1313 (2021).
94. Radoï, L. *et al.* Family history of cancer, personal history of medical conditions and risk of oral cavity cancer in France: the ICARE study. *BMC Cancer* 13, 560 (2013).
95. Aghiorghiesei, O. *et al.* The World of Oral Cancer and Its Risk Factors Viewed from the Aspect of MicroRNA Expression Patterns. *Genes (Basel)* 13, (2022).
96. Bussu, F. *et al.* HPV as a marker for molecular characterization in head and neck oncology: Looking for a standardization of clinical use and of detection method(s) in clinical practice. *Head Neck* 41, 1104–1111 (2019).
97. de Martel, C., Plummer, M., Vignat, J. & Franceschi, S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer* 141, 664–670 (2017).
98. Vista de Comparación entre incidencia y factores de riesgo de cáncer oral en diferentes países de América Latina. <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RSD/article/view/24336/30017>.

99. Tumban, E. A Current Update on Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Cancers. *Viruses* 11, (2019).
100. Westra, W. H. Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. *Oral Oncol* 50, 771–779 (2014).
101. Jayarajah, U. & Abeygunasekera, A. M. Cancer services in Sri Lanka: current status and future directions. *J Egypt Natl Canc Inst* 33, (2021).
102. Semprini, J. & Williams, J. C. Community socioeconomic status and rural/racial disparities in HPV-/+ head and neck cancer. *Tech Innov Patient Support Radiat Oncol* 26, (2023).
103. Vilarim, R. de C. B. *et al.* Characteristics and prevalence of orofacial pain as an initial symptom of oral and oropharyngeal cancer and its impact on the patient's functionality and quality of life. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 134, 457–464 (2022).
104. Vasicek SM, Pondorfer P, Holzmeister C, Graupp M, Weiland T, Wolf A, et al. Head and neck cancer in Styria : An epidemiologic and clinical audit. *Wien Klin Wochenschr.* 2020 ;132(15–16):444–51.
105. Un cáncer de lengua oral M1 positivo para p16 responde completamente al régimen EXTREME: informe de un caso - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34216483/>.
106. Saxena, P. & Prasad, S. Evaluation of p16 expression in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Pathol* 26, 376–381 (2022).
107. Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, Stützer H, Preuss SF, Hoffmann TK, et al. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 2007;120(8):1731–8.
108. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2010;363(1):24–35.
109. Geisler SA, Olshan AF, Weissler MC, Cai J, Funkhouser WK, Smith J, et al. p16 and p53 Protein expression as prognostic indicators of survival and disease recurrence from head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 2002;8(11):3445–53.
110. Stephen JK, Divine G, Chen KM, Chitale D, Havard S, Worsham MJ. Significance of p16 in Site-specific HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Clin Oncol.* 2013;2(1).

111. Salazar CR, Anayannis N, Smith R V., Wang Y, Haigentz M, Garg M, et al. Combined P16 and human papillomavirus testing predicts head and neck cancer survival. *Int J Cancer*. 2014;135(10):2404–12.
112. Parmar, A. *et al.* Interventions for the treatment of oral cavity and oropharyngeal cancer: chemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev* 2021, (2021).
113. Ding, D. *et al.* Association Between Lymph Node Ratio and Recurrence and Survival Outcomes in Patients With Oral Cavity Cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 145, 53–61 (2019).
114. Razak, A. A., Saddki, N., Naing, N. N. & Abdullah, N. Oral cancer survival among Malay patients in Hospital Universiti Sains Malaysia, Kelantan. *Asian Pac J Cancer Prev* 11, 187–191 (2010).
115. Goldenberg, D., Brooksby, C. & Hollenbeak, C. S. Age as a determinant of outcomes for patients with oral cancer. *Oral Oncol* 45, (2009).
116. Geleijnse, G. *et al.* Prognostic factors analysis for oral cavity cancer survival in the Netherlands and Taiwan using a privacy-preserving federated infrastructure. *Sci Rep* 10, (2020).
117. Tagliabue, M. *et al.* The prognostic role of sex and hemoglobin levels in patients with oral tongue squamous cell carcinoma. *Front Oncol* 12, (2022).
118. Valls-Ontañón, A. *et al.* Impact of human papilloma virus in patients with oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Med Clin (Barc)* 152, 174–180 (2019).
119. Doll, C. *et al.* The Prognostic Significance of p16 and its Role as a Surrogate Marker for Human Papilloma Virus in Oral Squamous Cell Carcinoma: An Analysis of 281 Cases. *Anticancer Res* 42, 2405–2413 (2022).
120. Du, E. *et al.* Long-term Survival in Head and Neck Cancer: Impact of Site, Stage, Smoking, and Human Papillomavirus Status. *Laryngoscope* 129, 2506–2513 (2019).
121. Wenzel, S., Sagowski, C., Kehrl, W. & Metternich, F. U. [Retrospective analysis of the prognostic significance of depth of invasion of advanced oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas with lymph node metastases]. *HNO* 52, 604–610 (2004).
122. Quintana DMVO, Dedivitis RA, Kowalski LP. Prognostic impact of perineural invasion in oral cancer: a systematic review. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*. 2022;42(1):17.
123. Wreesmann VB, Katabi N, Palmer FL, Montero PH, Migliacci JC, Gönen M, et al. Influence of extracapsular nodal spread extent on prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016;38(Suppl 1):E1192.

124. Rajappa, S. K. *et al.* Extracapsular extension in oral cavity cancers-predictive factors and impact on recurrence pattern and survival. *Int J Oral Maxillofac Surg* 48, 989–994 (2019).
125. Rajappa, S. K. *et al.* Extracapsular extension in oral cavity cancers-predictive factors and impact on recurrence pattern and survival. *Int J Oral Maxillofac Surg* 48, 989–994 (2019).
126. Diao, P. *et al.* Preoperative circulating platelet, neutrophil, and lymphocyte counts predict survival in oral cancer. *Oral Dis* 25, 1057–1066 (2019).
127. Hadjigol, S., Shah, B. A. & O'Brien-Simpson, N. M. The 'Danse Macabre'-Neutrophils the Interactive Partner Affecting Oral Cancer Outcomes. *Front Immunol* 13, (2022).
128. Tagliabue, M. *et al.* The prognostic role of sex and hemoglobin levels in patients with oral tongue squamous cell carcinoma. *Front Oncol* 12, (2022).
129. Ma, S. J. *et al.* Defining the optimal threshold and prognostic utility of pre-treatment hemoglobin level as a biomarker for survival outcomes in head and neck cancer patients receiving chemoradiation. *Oral Oncol* 133, (2022).
130. Cordella, C., Luebbers, H. T., Rivelli, V., Grätz, K. W. & Kruse, A. L. An evaluation of the preoperative hemoglobin level as a prognostic factor for oral squamous cell carcinoma. *Head Neck Oncol* 3, (2011).
131. Borsetto, D. *et al.* Prognostic Significance of CD4+ and CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Cancers (Basel)* 13, 1–15 (2021).
132. Lequerica-Fernández, P. *et al.* Prognostic Relevance of CD4+, CD8+ and FOXP3+ TILs in Oral Squamous Cell Carcinoma and Correlations with PD-L1 and Cancer Stem Cell Markers. *Biomedicines* 9, (2021).
133. Rungraungrayabkul, D. *et al.* Detection of Human Papillomavirus and p16INK4a Expression in Thai Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck Pathol* 16, 444–452 (2022).
134. Zafereo ME, Xu L, Dahlstrom KR, Viamonte CA, El-Naggar AK, Wei Q, et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity often overexpresses p16 but is rarely driven by human papillomavirus. *Oral Oncol.* 2016;56:47.
135. Doll, C. *et al.* The Prognostic Significance of p16 and its Role as a Surrogate Marker for Human Papilloma Virus in Oral Squamous Cell Carcinoma: An Analysis of 281 Cases. *Anticancer Res* 42, 2405–2413 (2022).
136. Jiarpinitnun, C. *et al.* Characteristics and Impact of HPV-Associated p16 Expression on Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in Thai Patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 21, 1679–1687 (2020).

137. Schildt, E. B. *et al.* Expression of p53, PCNA, Ki-67 and bcl-2 in relation to risk factors in oral cancer - a molecular epidemiological study. *Int J Oncol* 22, 861–868 (2003).
138. Daneste, H. *et al.* Immunoexpression of p53 mutant-type in Iranian patients with primary and recurrence oral squamous cell carcinoma. *Eur J Transl Myol* 33, (2022).
139. Tatemoto, Y. *et al.* Expression of p53 and p21 proteins in oral squamous cell carcinoma: correlation with lymph node metastasis and response to chemoradiotherapy. *Pathol Res Pract* 194, 821–830 (1998).
140. Kapranos N, Stathopoulos GP, Manolopoulos L, Kokka E, Papadimitriou C, Bibas A, Yiotakis J, Adamopoulos G. p53, p21 and p27 protein expression in head and neck cancer and their prognostic value. *Anticancer Res.* 2001;(1B):521-8.
141. Sajjanar M, Sajjan P, Puranik R, Vanaki S, Jayanth V, Naik P. “Analysis of immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor in oral squamous cell carcinoma using tissue microarray technology and whole sections:” A comparative study. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2020;24(3):499–504.

ANEXOS

APROBACIÓN INCAN



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL
DE CANCEROLOGÍA

CDMX, a 27 de mayo de 2021

No. Ref/INCAN/CI/0444/2021

Dra. Diana Vilar Compte
Investigador Principal
Presente.

En su oficio recibido el 17 de mayo de 2021, se presentó en la **Octava Sesión Ordinaria del Comité de Investigación**, renovación anual 2021-2022, correspondiente al protocolo: **FACTORES PRONÓSTICOS ASOCIADOS CON LA SUPERVIVENCIA DE PACIENTES CON CÁNCER BUCAL Y OROFARÍNGEO Y SU RELACIÓN CON LA INFECCIÓN DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO. ESTUDIO DE COHORTE AMBISPECTIVA, (018/024/INI) (CEI/1241/17)**, la cual se revisó y se aprobó por los integrantes del Comité de Investigación.

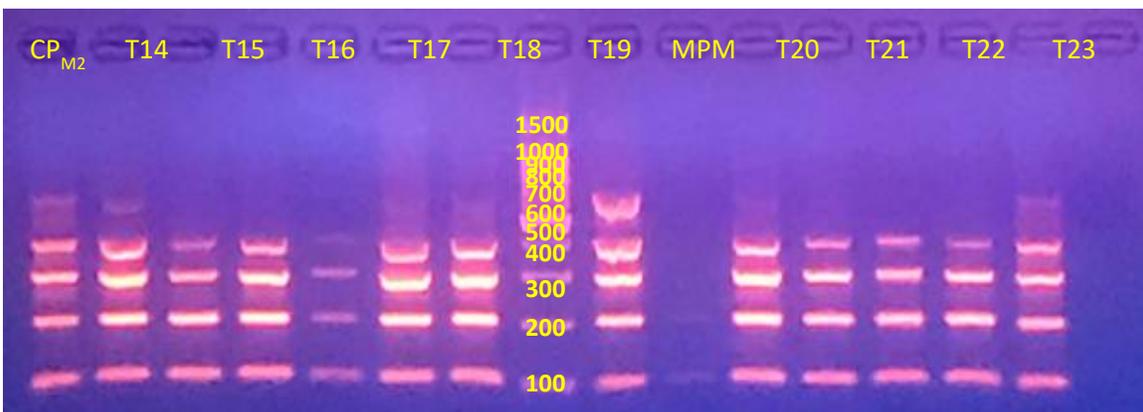
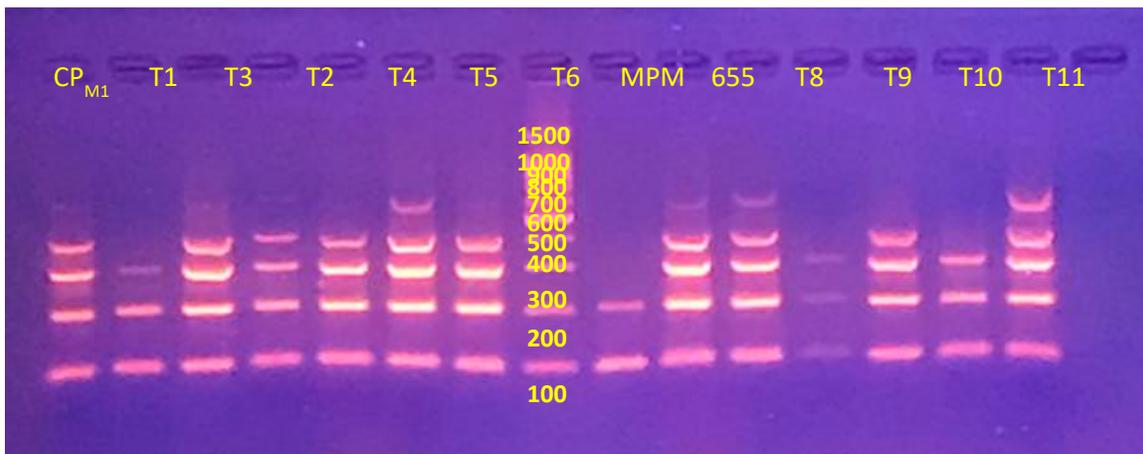
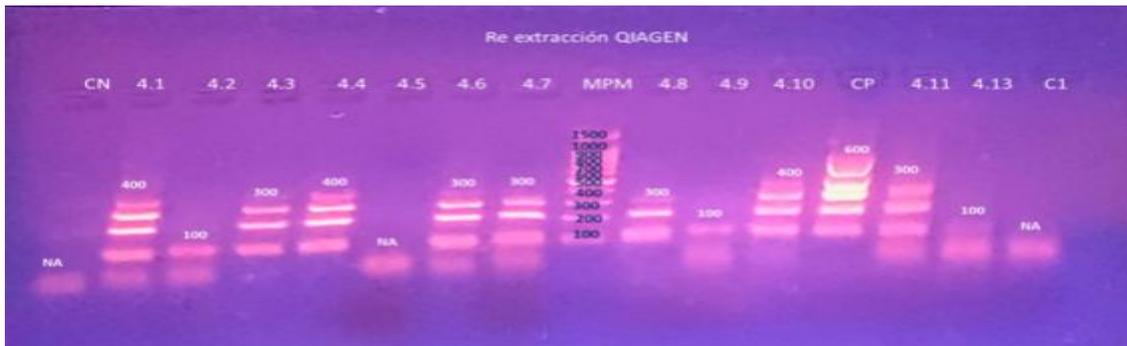
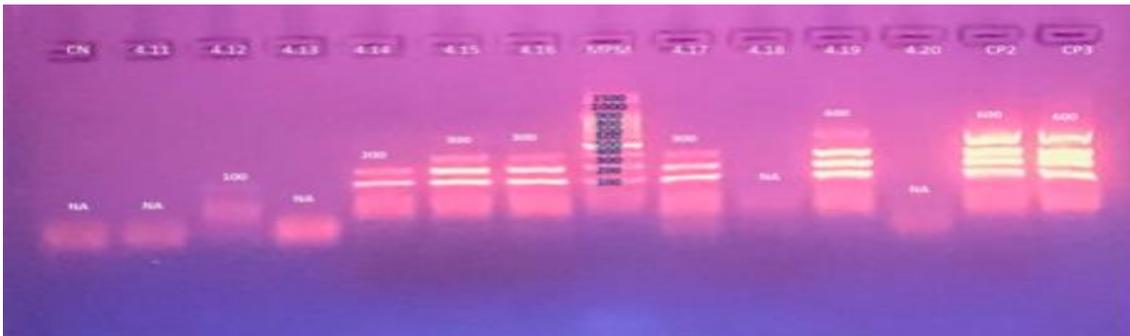
Esta renovación tiene **vigencia hasta el 27 de mayo de 2022**, por lo que se le solicita atentamente someter la renovación anual antes de esta fecha y así, evitar la suspensión de su protocolo.

Atentamente

Dr. David F. Cantú de León
Presidente del Comité de Investigación



CALIDAD DE LAS MUESTRAS



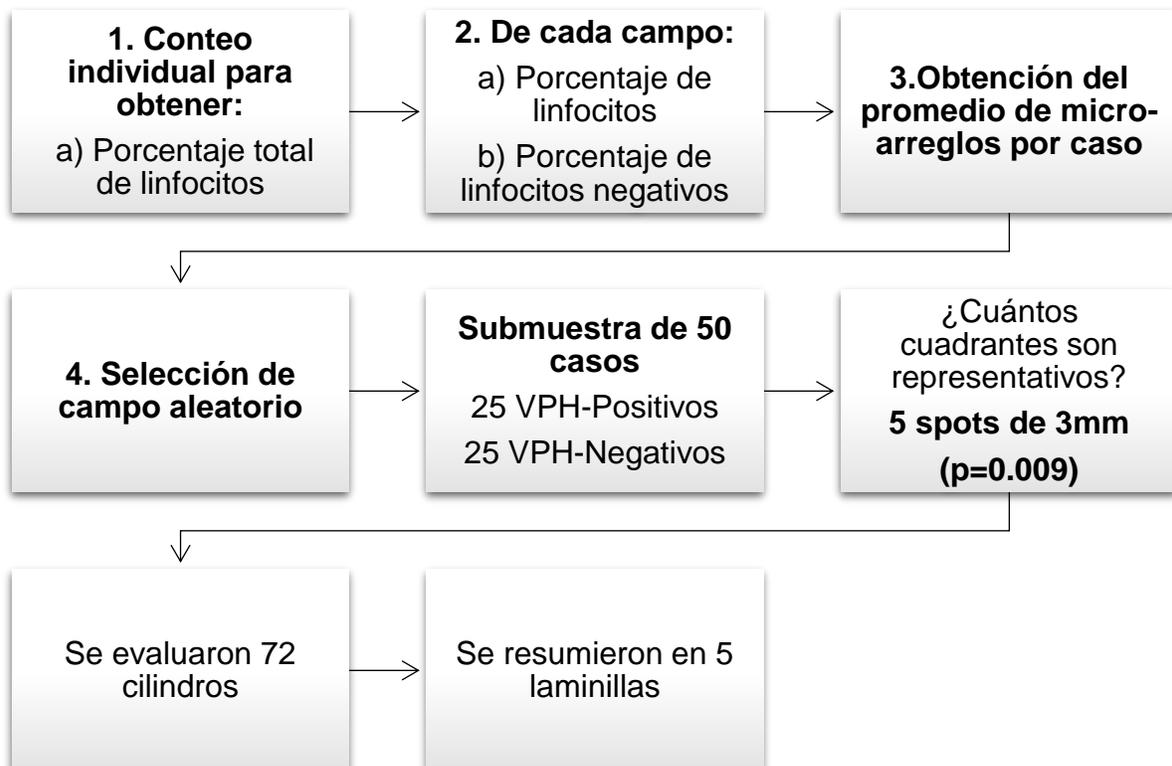
MATERIAL SUPLEMENTARIO

Estandarización para establecer el número de microarreglos para la evaluación de linfocitos

Como objetivo adicional de la presente investigación fue determinar cuantos microarreglos eran necesarios para la evaluación de su inmunexpresión.

Se conoce que un solo punch no es preciso para establecer la positividad de algún biomarcador incluso existe una controversia de cuantos punch son representativos del tejido completo así mismo de la circunferencia que se necesita emplear (141). A menudo se opta por duplicado o triplicado sin embargo, esta decisión podría estar sesgando el resultado del microambiente tumoral.

La metodología que se estableció fue cuantitativa para su evaluación emplenado el *software* ImageJ® tanto para la visualización y obtención de cada campo los pasos fueron los siguientes:



Por lo que la metodología que se estableció en la presente investigación permitió concluir que para evaluar algún tipo de inmunexpresión en el CB será necesario aproximadamente 5 spots de 3mm para su evaluación cuantitativa ($p=0.009$).

La probabilidad media de que el microarreglo prediga puntuaciones de especímenes completos aumenta con el aumento del número de punch. Por lo tanto, la cantidad de punch utilizados en los microarreglos de tejido puede resolver los problemas de heterogeneidad del tumor.

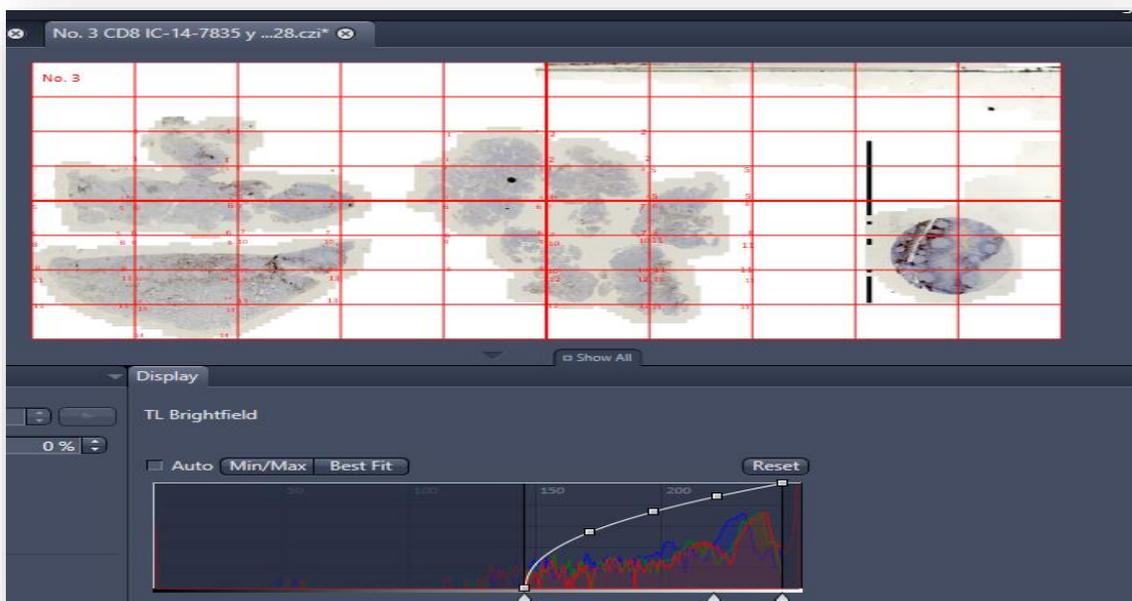


Figura 10.- Evaluación por cuadrante del tejido completo de 2 casos de carcinoma de células escosas orales mediante el programa ImageJ.

ANÁLISIS BIVARIADO PARA LA SUPERVIVENCIA GLOBAL

Se encontraron diferencias entre los pacientes VPH-positivos y VPH-negativos en los siguientes factores: la etapa clínica ($P=0.0001$), el IMC ($P=0.0001$), la escala Karnofsky ($P=0.07$) y ECOG ($P=0.0001$), la invasión extracapsular ($P=0.04$), la respuesta al tratamiento ($P=0.0001$) y la filtración glomerular al diagnóstico ($P=0.005$).

CURVAS DE SUPERVIVENCIA CON SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA

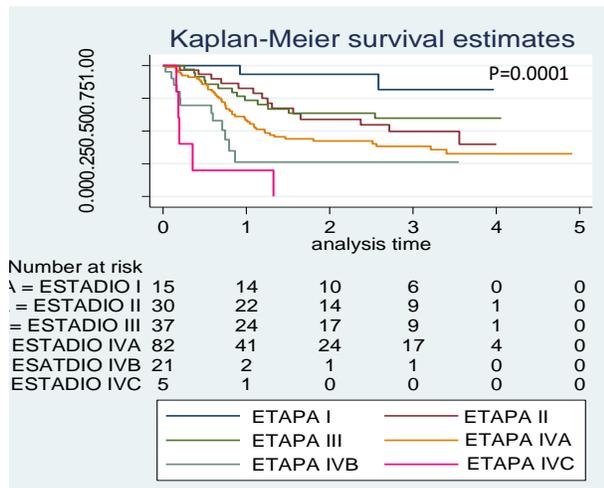


Figura 11.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier por etapa clínica

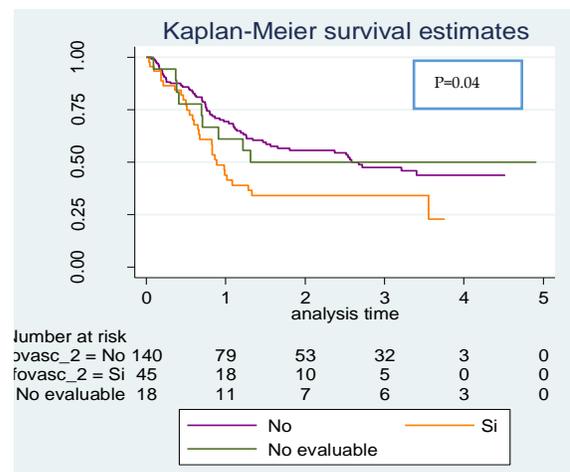


Figura 13.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier por invasión linfovascular

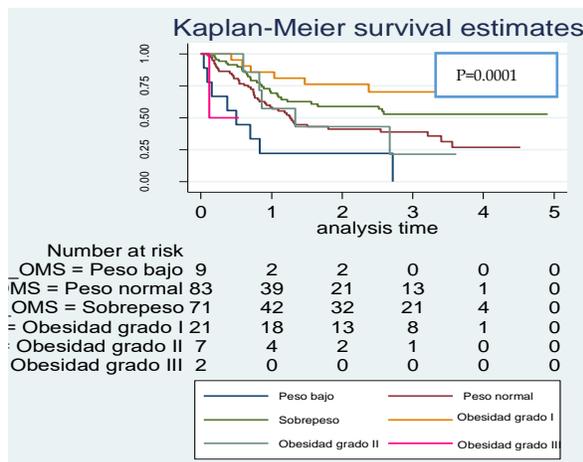


Figura 16.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier por IMC

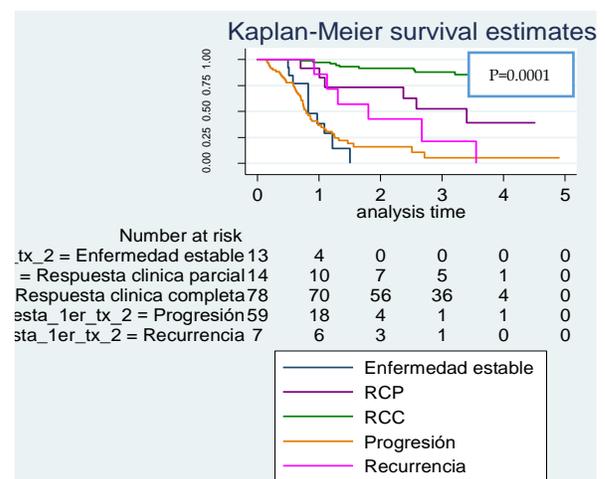


Figura 17.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier por tipo de respuesta

Análisis de pacientes con cáncer orofaríngeo

Se estableció como anexo a los pacientes con cáncer orofaríngeo por el bajo tamaño muestral además de ser consideradas como entidades distintas al cáncer oral. En total se incluyeron en esta cohorte 31 casos de los cuales, únicamente 13 casos fueron positivos. Los datos estratificados se pueden observar en la tabla 13

Tabla 133. Factores demográficos y clínicos de pacientes con CO estratificado por VPH

Factores demográficos	N= 44 (%)	VPH-Negativo n=31 (%)	VPH-Positivo n=13 (%)	Valor p
Género				
Hombre	33 (75.0)	21 (67.7)	12 (92.3)	0.086 ^a
Mujer	11 (25.0)	10 (32.3)	1 (7.7)	
Edad	62.3 ± 9.4	62.3 ± 10	62.2 ± 8	0.96 ^b
Escolaridad				0.21 ^a
Analfabeta	5 (11.4)	5 (16.1)	0 (0.0)	
< 6 años	22 (50.0)	16 (51.6)	6 (46.2)	
7 a 9 años	6 (13.6)	5 (16.1)	1 (7.6)	
10 a 12 años	4 (9.0)	2 (6.5)	2 (15.3)	
>12 años	7 (15.9)	3 (9.6)	4 (30.8)	
Estado civil				1.0 ^a
Soltero	8 (18.2)	6 (19.4)	2 (15.4)	
Casado	26 (59.0)	18 (58.0)	8 (61.5)	
Unión libre	3 (6.8)	2 (6.5)	1 (7.7)	
Divorciado	5 (11.4)	4 (12.9)	1 (7.7)	
Viudo	2 (4.5)	1 (3.2)	1 (7.7)	
Ocupación				0.17 ^a
Desempleado	16 (36.4)	13 (41.9)	3 (23.0)	
Ama de casa	6 (13.6)	4 (12.9)	2 (15.4)	
Trabajo no calificado	18 (40.9)	13 (41.9)	5 (38.5)	
Profesionista	2 (4.5)	1 (3.2)	1 (7.7)	
Jubilado	2 (4.5)	0 (0.0)	2 (15.4)	
Ingreso mensual	4000 (1800-	4400 (1600-	4000 (2000-	0.87 ^c
Tabaco	6200)	6000)	6400)	0.77 ^a
Negado	16 (36.4)	11 (35.5)	5 (38.5)	
Exfumador	11 (25.0)	7 (22.6)	4 (30.7)	
Fumador	17 (38.6)	13 (41.9)	4 (30.7)	
Alcohol				0.66 ^a
Negado	8 (18.2)	6 (19.4)	2 (15.4)	
Exbebedor	10 (22.7)	6 (19.4)	4 (30.8)	
Bebedor	26 (59.1)	19 (61.2)	7 (53.8)	
Comorbilidad				0.49 ^a
No	32 (72.7)	22 (71.0)	10 (76.9)	
Si	12 (27.3)	9 (29.0)	3 (23.1)	
Karfnosky				0.68 ^a
70	6 (13.6)	5 (16.1)	1 (7.7)	
80	7 (15.9)	6 (19.4)	1 (7.7)	
90	22 (50.0)	14 (45.1)	8 (61.5)	
100	9 (20.5)	6 (19.4)	3 (23.1)	
ECOG				0.47 ^a
Totalmente	22 (50.0)	17 (54.8)	5 (38.5)	
Restricción	19 (43.2)	11 (35.5)	8 (61.5)	
Ambulatorio	2 (4.5)	2 (6.5)	0 (0.0)	
Autocuidado	1 (2.3)	1 (3.2)	0 (0.0)	
IMC	24.16 ± 4.87	24.10 ± 5.0	24.9 ± 4.57	0.90 ^b

^a Prueba exacta de Fisher ^b Prueba t de Student ^c Prueba de U de Mann-Whitney

Tabla 14. Factores histopatológicos de pacientes con CO estratificados por VPH

Factores hispatológicos	n= 44 (%)	VPH- Negativo n=31 (%)	VPH-Positivo n=13 (%)	Valor p
Tipo de carcinoma				0.66 ^c
Epidermoide	37 (84.1)	26 (83.9)	11 (84.6)	
Epidermoide acantolítico	7 (15.9)	5 (16.1)	2 (15.4)	
Grado histológico				0.16 ^c
G1	2 (4.5)	2 (6.5)	0 (0.0)	
G2	40 (90.9)	29 (93.5)	11 (84.6)	
G3	2 (4.5)	0 (0.0)	2 (15.4)	
Invasión perineural n=41				0.32 ^a
No	24 (58.5)	19 (63.3)	5 (45.5)	
Si	2 (4.9)	2 (6.6)	0 (0.0)	
No evaluable	15 (36.6)	9 (30.0)	6 (54.5)	
Invasión linfovascular n=42				0.026 ^a
No	21 (50.0)	16 (51.6)	5 (45.5)	
Si	7 (16.7)	7 (22.5)	0 (0.0)	
No evaluable	14 (33.3)	8 (25.8)	6 (54.5)	
Invasión extracapsular				0.72 ^a
No	8 (18.2)	6 (19.4)	2 (15.4)	
No evaluable	33 (75.0)	22 (71.0)	11 (84.6)	
Si	3 (6.8)	3 (9.7)	0 (0.0)	
Etapa clínica				0.80 ^a
I	1 (2.3)	0 (0.0)	1 (7.7)	
II	1 (2.3)	1 (3.2)	0 (0.0)	
III	5 (11.4)	4 (12.9)	1 (7.7)	
IVa	17 (38.6)	12 (38.7)	5 (38.5)	
IVb	17 (38.6)	12 (38.7)	5 (38.5)	
IVc	3 (6.8)	2 (6.5)	1 (7.7)	0.004 ^a
P16 n=28				
Negativo	16 (57.1)	15 (75.0)	1 (12.5)	
Positivo	12 (42.9)	5 (25.0)	7 (87.5)	0.11 ^a
P53 n=28				
Negativo	18 (64.3)	11 (55.0)	7 (87.5)	
Positivo	10 (35.7)	9 (45.0)	1 (12.5)	0.67 ^a
P21 n=17				
Negativo	13 (76.5)	9 (75.0)	4 (80.0)	
Positivo	4 (23.5)	3 (25.0)	1 (20.0)	0.31 ^a
Respuesta al tratamiento n=20				
No	10 (50.0)	6 (42.9)	4 (66.7)	
Si	10 (50.0)	8 (57.1)	2 (33.3)	
Neutrófilos				0.58 ^a
Normal	24 (61.5)	17 (60.7)	7 (63.6)	
Alto	15 (38.5)	11 (39.3)	4 (36.4)	

^a Prueba exacta de Fisher

Tabla 15. Análisis univariado y multivariado de la sobrevida global de pacientes con CO.

Variables	Modelo Univariado		Modelo multivariado	
	HR (IC95%)	Valor p	HR (IC95%)	Valor p
IMC	0.84 (0.75-0.95)	0.005	0.73 (0.60-0.88)	0.001
Tabaco				
Negado	Referencia			
Exfumador	0.28 (0.77-1.03)	0.057	0.31 (0.002-0.40)	0.008
Fumador	1.02 (0.41-2.54)	0.950	0.34 (0.10-1.10)	0.072
Ingreso	0.99 (0.997-0.999)	0.046	0.99 (0.993-0.998)	0.003
Neutrófilos				
Normal	Referencia			
Alto	2.66 (1.07-6.59)	0.034	10.7 (2.67-43.1)	0.001
HPV				
Negativo	Referencia			
Positivo	0.56 (0.20-1.54)	0.268	0.82 (0.16-4.12)	0.814

SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

En esta cohorte a 5 años de seguimiento se presentaron 22 defunciones (50.0%).

En la figura XXX se observa un mayor número de muertes a mayor tiempo.

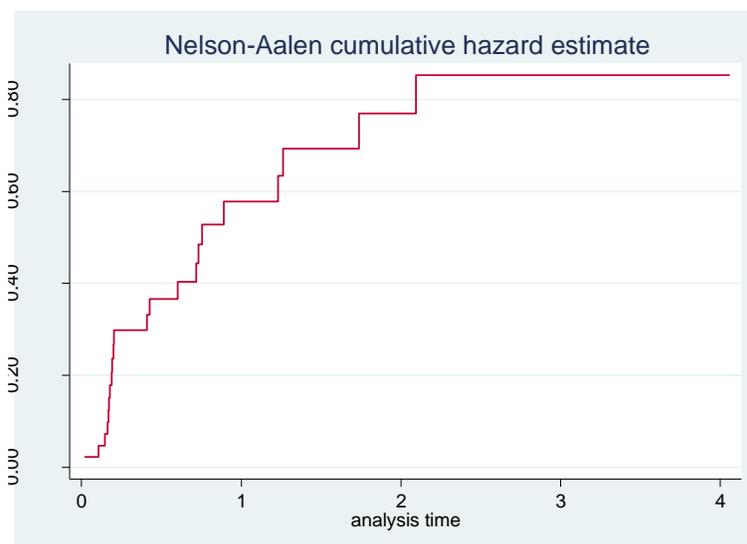


Figura 18.-Estimación del riesgo acumulado Nelson-Aalen

La mediana de seguimiento fue 0.81 años (Q1=0.19 años, Q3=2.12 años), y la mediana de supervivencia fue de 1.26 años (Q1=0.20 años), con un tiempo en riesgo de 52.6 años-persona.

Tabla 16. Hazard Ratio a 5 años de seguimiento

Interval	Beg. Total	Cum. Failure	Std. Error	Hazard	Std. Error	[95% Conf. Int.]		
0	1	44	0.5909	0.0741	0.8387	0.1493	0.5460	1.1314
1	2	18	0.7273	0.0671	0.4000	0.1600	0.0864	0.7136
2	3	12	0.9318	0.0380	1.2000	0.3200	0.5728	1.8272
3	4	3	0.9773	0.0225	1.0000	0.6124	0.0000	2.2002
4	5	1	1.0000	.	2.0000	0.0000	2.0000	2.0000

SUPERVIVENCIA RELACIONADA A LA INFECCIÓN POR VPH

La mediana de supervivencia para pacientes VPH-positivos fue de 1.73 años (Q1=0.31, Q3=2.27) vs 0.73 años VPH-negativos (Q1=0.19, Q2=1.57) (P= 0.26)

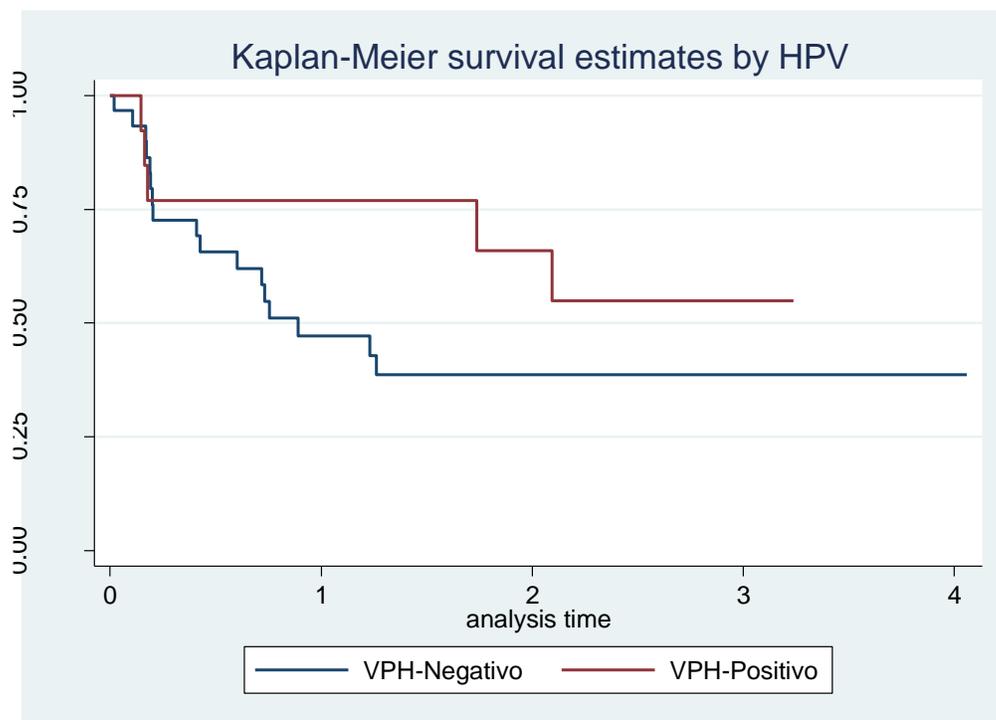


Figura 21.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier

El mayor número de muertes, tanto en pacientes VPH-positivas y VPH-negativas ocurrió dentro de los 2 primeros años. **(Figura 17)**

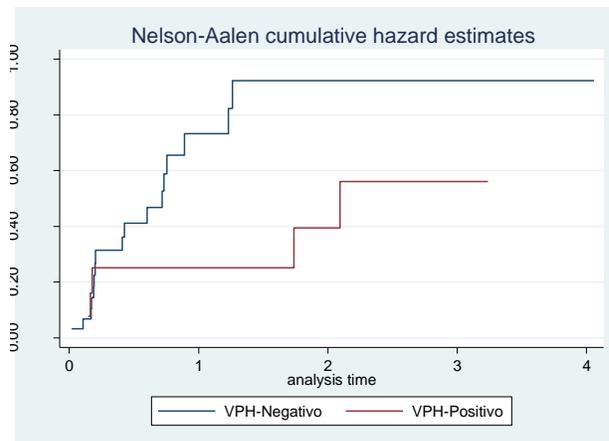


Figura 24.- Estimación de supervivencia Kaplan-Meier Nelson-Aalen

Tabla 17. Supervivencia a 5 años de seguimiento estratificada por VPH

Interval	Beg. Total	Cum. Failure	Std. Error	Hazard	Std. Error	[95% Conf. Int.]		
0	1	44	0.4595	0.0819	0.5965	0.1381	0.3258	0.8671
1	2	13	0.7598	0.0967	0.7692	0.3175	0.1468	1.3916