UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Clinicopathological characterization of a squamous cell carcinoma case series of the oral cavity and oropharynx, determination of p16 y p53

Gregorio Londoño Montoya. MD.

Universidad Nacional de Colombia
Faculty of Medicine, Department of Pathology
Bogotá DC, Colombia
2022

Abstract

Introduction

Squamous cell carcinoma of the head and neck is a malignant neoplasm of intermediate prognosis with an increase in the number of cases in recent years. Two types are described in the oropharynx cavity: those related to human papillomavirus (HPV) infection related to the basaloid histological variant and those that are not, which in turn are related to other risk factors such as tobacco use and alcohol consumption, and usually present with a conventional histological variant. HPV-related carcinoma usually has a better prognosis even in advanced stages because it does not initially have the TP53 gene mutation, unlike non-HPV-related carcinoma that does.

Materials and methods

The objective of this project is to find the differences in the expression by immunohistochemistry of a surrogate marker for HPV infection (p16) and the expression of p53, using accepted scales, as well as their association with risk factors and histological variants, in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx at the Hospital Universitario Nacional between the years 2017-2021.

Results

Fifty patients with squamous cell carcinoma (18 [36%] women, 32 [64%] men) with a mean age of 64 years were found. 27 (54%) in oral cavity with a prevalence of the conventional variant of 18 (66%). 23 (46%) in the oropharynx with 12 (52%) of the basaloid variant. For immunohistochemical staining, 19 (38%) were positive for p16 in the oropharynx and 21 (40%) positive for p53 in the oral cavity, the distribution for risk factors was in p16, 1 (5%) with only alcohol consumption, 3 (15%) exclusive use of tobacco and 4 (20%) use of both; for p53, 3 (30%) patients used tobacco exclusively, 3 (30%) used alcohol exclusively, and 4 (40%) used both.

Conclusion

The association with HPV infection is more common in the oropharynx with a basaloid variant, alcohol and tobacco consumption is more common in the oral cavity, with a conventional histological variant. On the other hand, p16 staining is as expected, however, p53 staining was heterogeneous with some unexpected data such as double (p16 and p53) labelling.

Key words: squamous cell carcinoma, oropharynx, oral cavity, p16, p53, tabaco, alcohol.

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Caracterización Clínico-patológica de una serie de Casos de Carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaringe, determinación de p16 y p53

Gregorio Londoño Montoya. MD.

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Patología
Bogotá DC, Colombia
2022

Caracterización Clínico-patológica de una serie de Casos de Carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaringe, determinación de p16 y p53

Gregorio Londoño Montoya. MD.

Trabajo de Investigación final presentada como requisito parcial para optar al título de:

Especialista en Patología Anatómica y Clínica

Directora:

Jinneth Acosta Forero MD

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina
Departamento de Patología
Bogotá
2022

Resumen

Introducción

El carcinoma escamocelular de cabeza y cuello es una neoplasia maligna de pronóstico intermedio con un incremento en el número de casos en los últimos años. En cavidad orofaringe se describen dos tipos: aquellos relacionados con la infección del virus del papiloma humano (VPH) relacionado con la variante histológica basaloide y aquellos que no, los cuales a su vez se relacionan con otros factores de riesgo como el uso de tabaco y el consumo de alcohol, además de la variante histológica convencional . El carcinoma relacionado con VPH usualmente tiene un mejor pronóstico incluso en etapas avanzadas debido a que inicialmente no posee la mutación para el gen *TP53* a diferencia del no relacionado con VPH que la tiene.

Materiales y métodos

El objetivo de este proyecto es encontrar las diferencias en la expresión por inmunohistoquímica de un marcador subrogado para la infección por VPH (p16) y de la expresión de p53, utilizando escalas aceptadas, así como su asociación con factores de riesgo y variables histológicas, en pacientes con carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaringe del Hospital Universitario Nacional entre los años 2017-2021 .

Resultados

Se encontraron 50 pacientes con carcinoma escamocelular (18 [36%] mujeres, 32[64%] hombres) con una edad promedio de 64 años, en 27 (54%) cavidad oral con una prevalencia del variante convencional de 18(66%) y 23 (46%) en orofaringe con 12 (52%) de la variante basaloide. Para la marcación con inmunohistoquímica el 19 (38%) fueron positivos para p16 en orofaríngey 21 (40%) positivos para p53 en cavidad oral, la distribución para factores de riesgo fue en p16, el 1 (5%) con consumo de alcohol únicamente, 3 (15%) uso exclusivo de tabaco y 4 (20%) uso de ambos; para p53 3 (30%) pacientes con uso de tabaco exclusivamente, 3 (30%) con consumo de alcohol exclusivamente y 4 (40%) con uso de ambos

Conclusión

La asociación con infección por VPH es más común en orofaringe con variante basaloide, el consumo de alcohol y tabaco es más común en cavidad oral, con variante histológica convencional, por otra parte, la marcación para p16 acorde a lo esperado, sin embargo, la marcación para p53 fue heterogénea con algunos datos inesperados como marcación doble (p16 y p53).

Palabras claves: Carcinoma escamocelular, orofaringe, cavidad oral, p16, p53, tabaco, alcohol

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Gregorio Londoño Montoya

02/02/2023

Contenido

Introducción 8

Objetivos 9

Objetivo general: 9

Objetivos específicos 9

Marco teórico 10

Definición 10

Epidemiología 10

Factores de riesgo 10

Clasificación Histológica 13

Detección de VPH 14

Detección de p53 14

Vacunación 15

Hipótesis 16

Metodología 16

Tipo de estudio 16

Lugar de estudios 16

Tiempo 16

Fuente de información 16

Criterios de inclusión 16

Criterios de exclusión: 16

Tamaño de la muestra 16

Variables 16

Materiales y métodos 18

Consideraciones Éticas 18

Cronograma de actividades 19

Presupuesto y Financiación 19

Resultados 20

Discusión 30

Bibliografía 32

Introducción

El carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaringe es una neoplasia que se vincula con factores de riesgo específicos y cuya modificación puede impactar su incidencia. A diferencia del carcinoma escamocelular de cérvix, esta enfermedad se encuentra poco estudiada, sin ninguna prueba de cribado para su detección temprana, a pesar de presentar un claro aumento desde 1980 posiblemente atribuible a los cambios sociales y de costumbres en esa época, por lo que la implementación de prácticas de prevención primaria para esta enfermedad podría tener un alto impacto en morbimortalidad.

El factor de riesgo más comúnmente asociado, desde la década de 1950, es el uso de tabaco, el cual se ha visto relacionado hasta en 75% de los casos, principalmente en pacientes en su séptima década de vida; no solo con el cigarrillo sino incluso su consumo por aspiración conocido como el rapé, el tabaco mascado, así como preparaciones similares como el quid-betel popular en India, Pakistán y Bangladesh. Su uso crónico crea mutaciones con aumento de la función de protooncogenes como el KRAS y ocasiona pérdida de función en genes supresores de tumores como el p53. Gracias a múltiples campañas de salud pública a finales de los 80´s y principios de los 90´s el uso de tabaco se redujo notablemente desde entonces en países desarrollados, sin embargo, no ha sido así con esta neoplasia la cual ha mostrado un incremento en todas las latitudes. Esto se atribuye al aumento de infección por el virus del papiloma humano y más algunas prácticas sexuales que incluye: sexo oral, sexo vaginal, contacto oro-anal a su vez hay un incremento en el riesgo con la exposición que incluye edad de inicio de relaciones sexuales y número de parejas.

Otro factor de riesgo de importancia es el consumo de alcohol el cual tiene un efecto sinérgico con el uso de tabaco y cuya toxicidad es dosis dependiente. Ocasiona metabolitos tóxicos principalmente a nivel hépatico con daño celular directo y que ocasiona déficit nutricional.

A pesar del papel que desempeña el virus del papiloma humano (VPH) en el desarrollo de esta neoplasia, su detección al momento del diagnóstico se asocia con buen pronóstico, en especial si no se fuma, y con aumento en la sobrevida; no obstante presentarse en estados avanzados con tumores mayores a 4 cm. Esta detección también tiene implicaciones en las decisiones terapéuticas. En el laboratorio de patología se hace este diagnóstico más comúnmente a través de un marcador subrogado, como es p16 que indirectamente indica integración de DNA viral a DNA celular y su transformación oncogénica, a partir de la unión de la proteína viral E7 con la proteína del retinoblastoma (pRb), generando una degradación de pRb lo que permite la liberación del factor de transcripción E2F que permite que el ciclo celular progrese. Las mutaciones en TP53 que causan proliferación celular, están vinculadas con el uso de cigarrillo y alcohol, por lo tanto, se asocian con peor pronóstico; sin embargo, aún no se propone como marcador pronóstico debido a que la evidencia es limitada y se requiere validar su verdadero impacto.

Finalmente es prometedor el posible beneficio que pueda tener la vacunación para combatir el carcinoma escamocelular relacionado con el VPH, en estudios preliminares se ha encontrado disminución de la presencia del virus en mucosa oral, pero estos hallazgos no han sido consistentes, todavía no es claro si su uso en hombres podría llevar a algún tipo de prevención. La vacunación es hoy por hoy controversial siendo recomendada por algunas agencias estatales, pero por otras no. Se requiere mayor observación y cohortes más numerosas para contestar esta pregunta, pero las expectativas son grandes ya que podría ser la única manera de reducir la incidencia.

Dado el limitado número de series de casos de cabeza y cuello con análisis de p16 y mutación de p53 en nuestro país y considerando que el Hospital universitario nacional se ha convertido en un centro de referencia para tumores de cabeza y cuello, presentamos una serie de casos con análisis por inmunohistoquímica de p16 y p53

Objetivos

Objetivo general:

Describir la casuística de carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaríngе en el Hospital Universitario Nacional y la expresión por inmunohistoquímica de p16 como marcador subrogado de la infección por VPH, y la expresión de p53

Objetivos específicos

- Describir las características demográficas de los pacientes en cuanto a sexo, edad y factores de riesgo (alcohol, tabaco).
- Describir la localización y características histológicas de los casos.
- Clasificar el carcinoma escamocelular según la clasificación de la OMS (2016) como VPH positivo y VPH negativo para los carcinomas escamocelulares de orofaringe y según el tipo histológico para las otras localizaciones.
- Identificar el TNM, así como presencia o no de lesión precursora.
- Introducir variable de SOBREVIDA de ser posible (vivo con enfermedad, curado, muerto).
- Encontrar las diferencias estadísticas entre los casos P16(+), P16(-) y p53(+), p53(-) de las diferentes variables.

Marco teórico

Definición

El carcinoma escamocelular de cavidad oral es una neoplasia maligna de origen epitelial que se origina más comúnmente en lengua, está asociado con el uso de tabaco y el consumo de alcohol, por otro lado el carcinoma escamocelular de orofaringe es una neoplasia maligna epitelial que se origina más frecuentemente en la amígdala y está asociada a la infección crónica de genotipos de alto riesgo del virus del papiloma humano (1,2,15).

Epidemiología

El carcinoma escamocelular corresponde a más de 90% de los tumores malignos de cavidad oral y orofaringe, la incidencia en orofaringe ha aumentado considerablemente en las últimas décadas. En Estados Unidos, por ejemplo, se estima un incremento de 224% entre 1998 y 2004 (1,2). Según las estadísticas de GLOBOCAN la incidencia en ambas localizaciones se concentra principalmente en Norteamérica, Europa y Australia, su mortalidad se concentra principalmente en Europa, India, Pakistán, Bangladesh, Gabón, Angola, Marruecos y Brasil, y se estima además que seguirá en aumento (2). En Colombia ambas localizaciones se encuentran entre las 15 primeras causas de mortalidad por cáncer, es un tema poco estudiado y esencialmente de poco interés para la salud pública ya que se ha mantenido sin cambios desde hace 10 años (3,4), con tasas de mortalidad para hombres de 1.3 y mujeres de 0.9, y prevalencia estimada mayor en hombres para el 2017 (1,4), con tasas de mortalidad en cavidad oral de 0.6 para hombres, 0.4 para mujeres y tasas de mortalidad para orofaringe de 0.5 para hombres y 0.3 para mujeres (35) .

Factores de riesgo

Entre los factores de riesgo descritos para el carcinoma de cavidad oral se encuentran el consumo de tabaco y de alcohol. En los carcinomas de orofaringe el factor de riesgo de mayor importancia es la infección por el virus del papiloma humano (VPH), la cual es una causa atribuible en el 25% a 31.4% de los casos en esta localización (1,13). El género masculino es un factor de riesgo para ambas neoplasias con un riesgo relativo de 2.44 respecto al género femenino, además se asocia a una mayor mortalidad con un riesgo relativo de 2.8. Debido a que ambas neoplasias, en especial las localizadas en orofaringe son comúnmente diagnosticada en etapas tardías, su mortalidad oscila en 50-55% (1,16).

El tabaco es un importante factor de riesgo con un riesgo relativo de 8.3 para el desarrollo de carcinoma de cavidad oral, en fumadores pesados (más de 25 cigarrillos al día) incrementa hasta 17 veces el riesgo de esta neoplasia (2,6,8,16) y se encuentra relacionado más comúnmente en cavidad oral, donde se asocia con lesiones preneoplásicas bien establecidas como la leucoplaquia, la eritroplaquia y la estomatitis por nicotina (6). Cualquier tipo de consumo de tabaco está vinculado, como lo es el cigarrillo, pero también la presentación aspirada, el rape, y las combinaciones como quid betel, común en India, Bangladesh y Paquistán (6). El método propuesto de carcinogénesis es el siguiente: durante la combustión, el cigarrillo produce hidrocarburos aromáticos policíclicos, que por sí solos o por medio del sistema citocromo P450 crean los llamados aductos de ADN, que actúan en competencia directa con las bases nitrogenadas dando así lugar a alteraciones de secuencia que principalmente afecta la vía KRAS y P53 (7).

El consumo crónico de alcohol (todas sus presentaciones) ha sido vinculado con un riesgo elevado de padecer neoplasia de las vías aero-digestivas superiores (cavidad oral, orofaringe, laringe, esófago) así como de hígado y con menor riesgo en mama, colon y recto (9,16). Los primeros hallazgos fueron en 1910 en consumidores de absenta con un incremento en la incidencia de cáncer de esófago, posteriormente se calcularía un riesgo relativo de 18 para este mismo tipo de cáncer cuando el consumo de alcohol es superior a 80 g/día (9). El uso concomitante de tabaco aumenta el riesgo relativo a 22 y a la vez dificulta su estudio ya que ambos se encuentran frecuentemente asociados (9). En las vías aéreas superiores los riesgos relativos son 13.5 para cavidad oral, 15.2 para orofaringe y 28.6 para hipofaringe, relacionando el alcohol en hasta 65% de los casos y siendo prevenible con la abstención en hasta un 80% de los casos (9,10).

El Alcohol tiene un efecto directamente tóxico sobre los epitelios causando cambios en las membranas celulares que aumenta la penetración de otros carcinógenos como el humo de cigarrillo; su uso crónico causa atrofia y cambios lipomatosos en la glándula parótida afectando la calidad de la saliva la cual se hace más viscosa, y como consecuencia la cavidad oral pierde una de sus barreras protectoras contra las sustancias tóxicas aumentando así su tiempo de exposición (9).

Uno de los metabolitos del etanol, el acetaldehído producido por la enzima alcohol deshidrogenasa ha demostrado inhibición de la enzima O6 metil-guaniltransfersa la cual interviene en la corrección de bases defectuosas causadas por agentes alquilantes (9,11). El acetaldehído también se une al ADN causando aductos estables como N2-etildeoxiguanosina y la a-methyl-g-hydroxy-1,N2-propano-20-deoxyguanosine (Cr-PdG), dando como resultado errores en la replicación y en genes supresores de tumores. Se debe tener en cuenta que este último se produce con la presencia de oxígeno y espermidina, este primero encontrándose aumentado por el estrés oxidativo (9,10). Adicionalmente, se ha observado mayor susceptibilidad en polimorfismos en la enzima ADH1C*1 y ALDH2 con acumulación de acetaldehído en cavidad oral, faringe y esófago. Finalmente, el acetaldehído también es producido por bacterias orales por lo que una mala higiene oral, común en los alcohólicos, es otro factor de riesgo para este tipo de carcinomas.

El uso crónico de alcohol induce el sistema citocromo P-4502E1 (CYP2E1) para la conversión del etanol en acetaldehído y de otros carcinógenos como: nitrosaminas, aflatoxinas, hidrocarburos policíclicos, hidracinas entre otros, muchos de ellos presentes en el humo de cigarrillo lo cual resalta la sinergia que existe entre estos dos factores de riesgo.

Sumado a esto la presencia de deficiencia nutricional, muy comúnmente presentada en los pacientes alcohólicos, puede favorecer un incremento en el estrés oxidativo y la mayor demanda de glutatión, vitamina E y folato, así como la deficiencia de hierro relacionado en algunos estudios con carcinoma de vías aero-digestivas relacionado con el síndrome de Plummer–Vinson (9,10).

El zinc es necesario para la producción de glutatión y para la conversión de retinol a retinal. El retinol también es esencial ya que a partir de este se produce el ácido retinoico, en cuyo proceso además participan las ya mencionadas Alcohol deshidrogenasa y el aldehído deshidrogenasa. El ácido retinoico participa en vías de diferenciación y proliferación celular por medio de diversos receptores nucleares. Es por esto que el consumo crónico de alcohol al afectar la producción hepática de ácido retinoico por medio

de degradación y de competencia directa y la activación del sistema CYP2E1, contribuye aún más al catabolismo del ácido retinoico.

Por último, se ha visto una deficiencia en la respuesta inmune innata y adaptativa en el alcoholismo, específicamente en la disminución en la acción de las células *natural killer*, células citotóxicas encargadas de control celular, aunque es importante resaltar que los resultados solo se han visto en modelos murinos con resultados conflictivos en modelos humanos (9,11).

El VPH pertenece a la familia papillomaviridea, tiene 7908 pares de bases y existen diferentes genotipos. Los genotipos que típicamente se vinculan con el carcinoma orofaríngeo son el 16,18,31, 45 (1) sin embargo recientemente se ha visto el ascenso de otros genotipos, como el 66, 59,51, por lo menos en la cavidad oral (9). El genoma del virus se compone por un área de regulación de transcripción corriente arriba y un área que codifica para 7 proteínas, las cuales se dividen en 2 grupos las "E" (early) que se transcriben tempranamente en la infección de la célula escamosa epitelial y las "L" (late) que se producen tardíamente. Las proteínas de más interés son las E6 y E7, directamente implicadas en el potencial neoplásico del virus. La proteína E6 degrada la proteína p53 que tiene como resultado una inhibición de la apoptosis; la proteína E7 por su parte degrada a la proteína de retinoblastoma pRB la cual libera al factor E2F que hace que el ciclo celular progrese desde G1 a S, permitiendo además la sobreexpresión de P16 el cual inhibe al complejo ciclina D, CDK4, CDK6 que a su vez inhibe a pRB liberando E2F, por lo tanto, p16 actúa como un marcador subrogado para transcripción activa de VPH y es vital para la supervivencia de la célula epitelial escamosa (9).

Tp53 por lo tanto no se encuentra mutado inicialmente en el carcinoma orofaringeo dependiente de VPH, a diferencia del carcinoma de cavidad oral dependiente de tabaco, por lo tanto, se relaciona con un mejor pronóstico y una mayor tasa de apoptosis después de radiación (1,10). En estudios de expresión en inmunohistoquímica una sobrexpresión de P53, que significa mutación, está relacionada con extensión extra nodal y por lo tanto un peor pronóstico (21).

La historia natural de la enfermedad empieza con la perturbación de la barrera epitelial, la penetración del VPH y la infección de las células basales con una proliferación de estas, debido a la acción de las oncoproteínas virales, permitiendo así una infección persistente debido a la imposibilidad del sistema inmune de eliminar al virus. Seguido a esto, en un espacio de tiempo que puede ser hasta 10 años la lesión se transforma a carcinoma invasivo. (Se debe notar que a la fecha no se conocen en la orofaringe lesiones premalignas que puedan ser susceptibles de detección temprana) (12). La orofaringe presenta un sitio ideal para este tipo de lesiones avanzadas ya se encuentra en un lugar de difícil acceso y visualización, anatómicamente está conformada por las amígdalas, el paladar blando, los pilares faríngeos, la base de la lengua y la úvula (5). Las amígdalas representan el lugar más común en la orofaringe para el carcinoma escamocelular.

La infección de VPH es más prevalente en hombres que en mujeres (11.3% vs 3.2). Siendo la infección oral 6 veces más común en los primeros. Su prevalencia se ve aumentada si son hombres que tienen sexo con hombres al compararse con mujeres que tienen sexo con mujeres (12.7% vs 3.6%) y esta prevalencia aumenta hasta 22.2% cuando se tienen más de dos parejas sexuales y se es hombre (10,16).

Clasificación Histológica

El carcinoma escamocelular de cavidad oral es VPH negativo en más de 90% de los casos, se presenta en pacientes mayores de 60 años, se localiza frecuentemente en lengua. Su morfología histológica es en la gran mayoría de los casos convencional; forma nidos y cordones de células grandes con citoplasma amplio y núcleo redondo con perlas corneas y disqueratinocitos, frecuentemente se identifica epitelio displásico adyacente al tumor, para tumores de alto grado donde la morfología es equívoca se puede utilizar inmunohistoquímica para AE1/AE3, CK5/6, p63 y p40. (15) se recomienda su graduación en bien, moderada y pobremente diferenciado, aunque esta característica esta pobremente correlacionada con desenlaces clínicos. Se han descrito otras morfologías como: sarcomatoide, adenoescamosos, verrucoso, linfoepitalial entre otras, algunas como la variante sarcomatoide y adenoescamosa están asociadas a un peor pronóstico.

El carcinoma escamocelular de orofaringe se asocia con mayor frecuencia a la infección por VPH, por prácticas como el sexo oral.La organización mundial de la salud recomienda clasificarlo como VPH + y VPH –y desestimula su graduación. Se origina del epitelio de las criptas creciendo debajo del mismo, su morfología consiste en células de aspecto basaloide que forman nidos confluentes, no presenta queratinización individual ni formación de perlas córneas y de hacerlo se localiza en la periferia en un patrón descrito como “de adentro hacia afuera” (*inside out)*, la células presentan una relación núcleo citoplasma alta, mitosis y cuerpos apoptóticos frecuentes, los nidos están rodeados por estroma linfocitario que puede penetrarlos (15). Se presenta en pacientes menores de 60 años, con un pronóstico más favorable que el carcinoma escamocelular de cavidad oral de otras localizaciones (11,15). La tabla 1.1. resume las características del carcinoma orofaringe VPH + y VPH -. Se debe realizar siempre inmunohistoquímica para p16 el cual se utiliza como marcador subrogado de la infección por VPH, la cual es considerada factor pronóstico independiente siendo la supervivencia a 3 años con respecto a el no relacionado con VPH 82 vs 57% (15,16,19).

Tabla 1.1 Clasificación De carcinoma escamocelular de orofaríngе VPH + y VPH - según la OMS.

Características	**VPH + orofaringe**	**VPH – cavidad oral**
Edad media	50 – 56 años	60 – 70 años
Factores de riesgo	Comportamiento sexual	Tabaco y uso de alcohol
Origen postulado	Criptas	Superficie
Displasia	Rara	Frecuentemente presente
Morfología	Comúnmente carcinoma escamocelular no queratinizante	Carcinoma escamocelular convencional
Graduación	No aplicable	Aplicable

P16 inmunohistoquímica	Positiva	Negativa
Supervivencia a 3 años	82%	57%

Pronóstico

Los factores que determinan el pronóstico favorable aparte de la presencia o no de VPH, son: el tamaño del tumor en el diagnóstico inicial con puntos de corte para el estado T2 la medida de 2 cm y para el estado T4: 4 cm, la cantidad de ganglios positivos siendo un punto de corte 4 y la presencia o no de metástasis, es así que en un tumor de más de 4 centímetros pero menos de 4 ganglios positivos VPH positivo la sobrevida a 5 años puede llegar a 70% en contraste con el mismo tamaño y número de ganglios positivos pero la ausencia de VPH donde apenas llega a 15% (17,18).

Detección de VPH

La detección del VPH se debe hacer en primera medida con inmunohistoquímica para p16, la marcación debe ser de moderada a fuerte, nuclear y citoplasmática y en bloque (20). Existen otros métodos; como la detección del ADN viral por reacción en cadena de la polimerasa, sin embargo, debido a que el ADN viral se integra con el de la célula al momento de la infección, esta prueba no indica necesariamente transcripción activa, esta técnica tiene la ventaja de que se puede realizar en tejidos del bloque de parafina por medio de microdisección y se puede realizar una matriz de tejido, también permite genotipificar el virus. Cuando se comparan la PCR y la detección de p16 por inmunohistoquímica la sobrevida es similar por lo cual inicialmente se prefiere la segunda por su amplia disponibilidad (19,20).

Debido a que una prueba que detecte ADN viral no implica necesariamente transcripción activa, se desarrollaron pruebas para la detección de ARN viral para las proteínas E6 y E7, por lo tanto, es considerado el Gold standard de detección ya que indica transcripción activa; sin embargo, su estandarización en laboratorios clínicos puede resultar compleja y generalmente solo se utiliza en investigación (19,20).

En Colombia se ha realizado genotipificación utilizando microdisección del corte histológico y amplificación de ADN viral en este tipo de cánceres en muestras de cavidad oral, orofaringe y laringe, y se ha encontrado una prevalencia de 23,9%, 13.3% y 17.5% respectivamente con una prevalencia total de 18.2%, los genotipos más prevalentes fueron 16 (82%) y 18 (18%) (14). En otro estudio donde se incluyó cavidad oral y orofaringe se encontró el genotipo 16 (21,7 % de muestras con un 90% en las muestras positivas) como el más frecuente, seguido del genotipo 58 (10 % de muestras positivas) (17), también se observó que la infección es más frecuente para hombres en orofaringe y laringe e igual entre hombres y mujeres en cavidad oral.

Detección de p53

La mutación en TP53 constituye una importante vía para el desarrollo del cáncer relacionado con 50% de los tumores humanos, está presente en neoplasias malignas hereditarias y esporádicas de, pulmón, cerebro, glándula mamaria y colon (33). En el caso de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello, se encuentra mutado en 90% de los casos (15, 21,23) más frecuentemente en laringe y en menor proporción

(26%) en orofaringe, su frecuencia varía entre 75-85% en los canceres no relacionados con VPH (33). La mutación más frecuente es tipo "*missense*" ocurriendo en la región central en el domino que se une al ADN, en cualquiera de los codones R248, R273, G245, R175, R282 y H179; el espectro es bastante amplio (23) dando como resultado una proteína inactiva anormal causando supervivencia y proliferación (23,32, 35). Es uno de los primeros pasos en la carcinogénesis debido a que se ha detectado en lesiones premalignas (33,32, 35). La asociación de estas mutaciones con factores de riesgo como uso de tabaco y consumo de alcohol no es del todo clara con algunos estudios asociándola y otros no, esto debido tal vez diversos métodos de detección, a su ocurrencia en múltiples sitios anatómicos y que existen diversas maneras para su detección desde secuenciación de ADN hasta inmunohistoquímica, su positividad en estudios clínicos varia de 30-70%, para carcinomas no relacionados a VPH de 75-85% (23, 32, 35).

El gen TP53 mutado produce una proteína anormal de vida media prolongada, que favorece su detección por inmunohistoquímica con una correlación con secuenciación para la mutación que varía entre 30- 70% (23,32) , desafortunadamente no se encuentra estandarizada para su uso clínico de rutina en este tipo de neoplasias y existe gran variabilidad para su interpretación desde un sistema simple que no gradúa la intensidad de marcación y que toma como positivo una tinción nuclear en las células del tumorales a partir de 25-30% (24, 27,28), hasta un sistema que discrimina los porcentajes nucleares desde 10-100% acompañado de una graduación de la intensidad de marcación típicamente identificado como débil, moderado y alto (15, 26).

Recientemente se han descrito 3 patrones de marcación de inmunohistoquímica los cuales se relacionan con mutaciones de gen TP53 (utilizando secuenciación), los patrones "mutantes" descritos son: 1. Ausencia total de marcación en células tumorales con control interno de patrón silvestre en células estromales 2. Tinción citoplasmática con o sin tinción nuclear y 3. Tinción nuclear fuerte en al menos 80% de células tumorales (45).

En otros órganos como útero, ovario, vejiga, pulmón y estómago está más difundida su utilidad como marcador subrogado de las mutaciónes en el gen TP53, existe variabilidad en los puntos de corte algunos precisos como en el caso de carcinoma gástrico, otros con rangos amplios de 70-100% como el caso de útero y ovario, otros puramente descriptivos, como en seno, donde se divide en silvestre (tinción nuclear débil y dispersa), aumentada o ausente con cortes arbitrarios y en ocasiones ambiguos (36,37,38,39). En estas localizaciones se describe un patrón nulo (null) donde se pierde toda marcación y que se correlaciona con una proteína muy alterada que impide la formación del complejo antígeno anticuerpo dando como resultado una tinción ausente (37,38). Su uso se ha popularizado debido a la fuerte relación con pronóstico (40).

Vacunación

Como es de esperarse la vacunación para VPH es una potencial herramienta para la prevención, sin embargo, hasta el momento se encuentra poco estudiada con resultados iniciales prometedores en la reducción de la prevalencia de la detección del virus en cavidad oral (1). En un estudio reciente realizado en la ciudad de Nueva York en población afroamericana y latina (n=1259) se encontró que la vacunación disminuye la prevalencia de los genotipos de 6, 11, 16, 18 en cavidad oral, (incluidos en la vacuna cuadrivalente), así como en la disminución en la detección de otros genotipos no incluidos en la vacunas (cuadri o nonavalente) como el 51, 59 y 66, cuando se realiza un regresión logística después de ajustar para edad y años desde inicio de actividad sexual (22).

Hipótesis

Se estima que los casos de carcinoma escamocelular de cavidad oral estén relacionados con el uso de tabaco y alcohol en su mayoría y tengan marcación positiva (fuerte) para p53. Asimismo, se estima que los casos de carcinoma escamocelular de orofaringe estén relacionados con VPH con marcación positiva para p16.

Metodología

Tipo de estudio

Descriptivo retrospectivo

Lugar de estudios

Hospital Universitario Nacional

Tiempo

36 meses en los que se realizará elaboración del protocolo, presentación a comité de ética, recolección de casos, análisis de casos, estudios complementarios y elaboración del artículo final para publicación.

Fuente de información

Historia clínica, Reporte de patología de biopsia o pieza quirúrgica, láminas histológicas, bloques histológicos.

Criterios de inclusión

Reportes de patología de biopsias o piezas quirúrgicas diagnosticadas con carcinoma escamocelular de cavidad oral u orofaringe de las que se disponga bloques y/o láminas histológicas.

Criterios de exclusión:

Reporte de patología de tumor en cavidad oral u orofaríngea que no sea carcinoma escamocelular.

Tamaño de la muestra

Todos los casos diagnosticados por estudio histológico presentes en los reportes del Hospital Universitario Nacional desde el 2017 hasta 2020.

Variables

En las siguientes tablas se describen las variables a analizar.

Identificación

Variable	Definición	Tipo de variable	Reporte de variable

Identificación del paciente	Numero asignado a historia clínica	Cualitativa Independiente. Discreta	Numero enteros
Numero de reporte	Numero asignado al caso en el laboratorio de patología	Cualitativa Independiente. Discreta	Números enteros

Datos sociodemográficos

Variable	Definición	Tipo de variable	Reporte de variable
Edad	Edad en años al momento de diagnostico	Cuantitativa. Independiente. Discreta.	Numero enteros
Sexo	Sexo	Cualitativa. Independiente. Dicotómica.	Hombre, mujer
Procedencia, ciudad y departamento	Departamento de procedencia y ciudad, donde reside	Cualitativa. Independiente. Nominal.	Nombre de ciudad y departamento
Procedencia mundial	Continente en el que nació	Cualitativa Independiente Nominal	Nombre de continente: Suramérica, Centroamérica, Norteamérica, África, Oceanía, Europa, Asia

Antecedentes personales

Variable	Definición	Tipo de variable	Reporte de variable
Tabaquismo	Uso activo o pasado de tabaco en cualquier presentación, paquetes año	Cualitativa. Independiente. Nominal	Uso activo o no.
Consumo de alcohol	Consumo activo de alcohol	Cualitativa. Independiente. Nominal	Activo o no

Información en reporte patológico

Variable	Definición	Tipo de variable	Reporte de variable
Localización anatómica	Localización primaria de lesión	Cualitativa. Independiente. Nominal	Cavidad oral, orofaringe
Tipo de carcinoma escamocelular	Subtipo de carcinoma escamocelular	Cualitativa. Independiente. Nominal	queratinizante, no queratinizante, basaloide, verrucoso, fusocelular.
Estatus de P16	Expresión de p16 por inmunohistoquímica	Cualitativa. Independiente. Nominal	Positivo o negativo

Estatus de p53	Expresión de p53 por inmunohistoquímica	Cualitativa. Independiente. Nominal	Fuerte o débil

Materiales y métodos

Se realizará una búsqueda de los casos de carcinoma escamocelular en la cavidad oral y orofaringe. En orofaringe se incluyen las siguientes estructuras anatómicas: amígdala palatina, paladar blando, base de lengua. Una vez identificados los casos se procederá a revisar láminas y bloques de parafina para posteriormente seleccionar los bloques con mayor representación del tumor y realizar estudio de inmunohistoquímica para p16 y p53. Se reservará una parte del tejido para estudio de segunda fase. Una vez terminado el proceso de inmunohistoquímica se hará su respectivo análisis e interpretación de resultado utilizando la guía del Colegio Americano de Patólogos.

Se utilizó la guía para interpretación de p16 recomendada por el colegio americano de Colegio Americano de Patólogos (20), la cual considera una marcación para p16 positiva como tinción nuclear y citoplasmática, fuerte en bloque y que se encuentre en más de 70% de células tumorales.

Para el p53 se utilizó el sistema diseñado para marcación de p53 en carcinomas de cabeza y cuello adaptado por Lahin et al (26), brevemente toma en cuenta dos variables: la primera es el porcentaje de células positivas con tinción nuclear y asignación de un valor, < 25% [1], 25-49% [2], 50-74% [3], > 75% [4]. La segunda variable es la intensidad de la tinción: 0 no tinción, 1 tinción débil, 2 tinción moderada, 3 tinción fuerte, por último, con el producto de ambos obtenemos una marcación débil [0-5.9] y una marcación fuerte [6-12].

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa Microsoft Excel.

Consideraciones Éticas

La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo por personal idóneo que cuente con el conocimiento científico y que tengan presente las consideraciones éticas según el código de Núremberg, el informe Belmont y por la Declaración de Helsinki, también resaltan que si bien el objetivo de toda investigación médica debe de ser la generación de un nuevo conocimiento debe de tener prelación los derechos de los participantes en la misma, así como la protección de sus datos recolectados, los personales y su intimidad.

Siguiendo las recomendaciones de la resolución 8430 de 1993 del ministerio de salud de Colombia nuestra investigación es un estudio sin riesgo por ser retrospectivo, no se realiza un intervención o “modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, sicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran; revisión de historias clínicas, entrevistas, cuestionarios y otros en los que no se identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta”.

Para iniciar la investigación el proyecto fue presentado y aprobado por los comités de ética del Hospital Universitario Nacional y de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Colombia quienes vigilan la utilidad idoneidad y seguridad de las investigaciones médicas.

El proyecto cuenta con la autorización de los comités de ética de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Colombia y del Hospital Universitario Nacional de Colombia.

Cronograma de actividades

Actividad	Mes 0-4	Mes 5-6	Mes 7-8	Mes 9-10	Mes 11-36
Preparación Protocolo					
Corrección Protocolo					
Presentación protocolo a comités de ética de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Colombia y del Hospital Universitario Nacional.					
Búsqueda de pacientes					
Recolección de información y base de datos					
Revisión y selección de láminas histológicas					
Realizar estudio de inmunohistoquímica					
Lectura de inmunohistoquímica e interpretación de resultados, iniciar proceso de Publicación de Artículo en Revista Médica Indexada.					

Presupuesto y Financiación

La financiación de este proyecto se llevó a cabo con recursos del departamento de patología de la Universidad Nacional de Colombia y gracias al apoyo del laboratorio interfacultades de dicha universidad así como el laboratorio de patología del hospital universitario nacional

Rubro	Justificación	valor	cantidad	TOTAL
Estudio inmunohistoquímico para p16	Objetivo del proyecto	28,000 COP/ unidad	30	840,000 COP
Estudio inmunohistoquímico para p53	Objetivo del proyecto	28,000 COP/unidad	30	840,000 COP
Papelería, impresiones.	Registro de los avances del proyecto de investigación	80,000 COP	----------	80,000 COP

Lápices, Bolígrafos, Borradores.	Protocolo de investigación, recolección de datos.	20,000 COP	-----------	20,000 COP
Tiempo de Docente	Revisión de casos, asesoría académica	3,000,000 COP	-----------	3,000,000 COP
Personal que realiza Inmunohistoquímica	Preparación y realización de estudios inmunohistoquímicos	1,250,000 COP	-----------	1,250,000 COP
Suma total	----------	----------	----------	6,030,000 COP

Resultados

Se encontraron 66 casos de carcinoma escamocelular localizados en la cavidad oral y región orofaríngea desde 2017 hasta 2021, de estos 53 tenían el material histológico disponible con un incremento de casos por año hasta el 2021 (Figura 1), los cuales correspondían a 50 pacientes (53 muestras para 50 personas, tres pacientes contaban con biopsia y espécimen quirúrgico), la distribución por genero fue: 32 (64%) hombres, 18 (36%) mujeres (Figura 2).

Figura 1. Carcinoma escamocelular de cavidad oral y orfaringe casos por año en el Hospital Universitario Nacional 2017-2021.

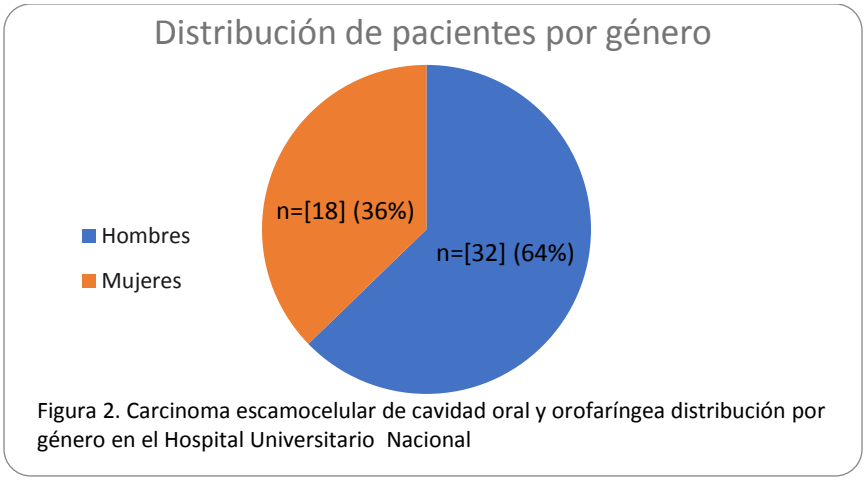


Figura 2. Carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaríngea distribución por género en el Hospital Universitario Nacional

El rango de edad fue de 29 a 91 años con un promedio de 61 años, la distribución por edades mostró un mayor porcentaje en el grupo mayor de 60 años (Tabla 1), con una edad promedio de 64 años; para los casos en cavidad oral la edad promedio fue de 61 años y de 64 años para orofaringe. La procedencia de los pacientes fue en su gran mayoría de la ciudad de Bogotá 31 (62%) frente a otros lugares 19 (39%), el segundo lugar más común en frecuencia fue el departamento de Cundinamarca (ver tabla 2).

Rango de edad	**Número de pacientes**	**Menores de 60 años (superior)/ mayores de 60 años (inferior).**
20-29	1 (2%)	21 (41%)
30-39	3 (6%)	
40-49	1 (2%)	
50-59	16 (31%)	
60-69	15 (29%)	29 (59%)
70-79	10 (22%)	
80-89	3 (6%)	
> 90	1 (2%)	
TOTAL	50 (100%)	

Tabla 1 Distribución por edad de pacientes carcinoma escamocelular Hospital Universitario Nacional 2017-2021.

De las 53 muestras, 36 (72%) fueron resecciones quirúrgicas y 17 (28%) fueron biopsias. La localización anatómica más común fue la cavidad oral con 29 (55%) casos siendo más común en lengua 21 (42%) (ver tabla 3). En la cavidad orofaríngea se identificaron 23 (46%) casos siendo más común la localización en la amígdala 12 (24%).

Bogotá	31 (62%)
Fuera de Bogotá	19 (38%)

Departamento (ciudades)	
Cundinamarca (La Calera, Soacha, Villeta, Chía, Mesitas, Zipaquirá, Fusagasugá, Chocontá)	11 (22%)
Meta (Villavicencio)	5 (10%)
Boyacá (Chiquinquirá)	1 (2%)
Casanare (Yopal)	1 (2%)
Huila (Neiva)	1 (2%)
Total	50 (100%)

Tabla 2 Procedencia de los pacientes carcinoma escamocelular Hospital Universitario Nacional

Localización	**Número de casos n=50**	
Cavidad oral	27 (54%)	
- **Lengua**	---------	21 (42%)
- **Otra área Cavidad oral**	---------	6 (12%)
Orofaringe	23 (46%)	
- **Base de lengua**	---------	4 (8%)
- **Amígdala**	---------	12(24%)
- **Paladar**	---------	2 (4%)
- **Otra área orofaringe**	---------	5 (10%)
Total		50 (100%)

Tabla 3 Localización de casos por región anatómica carcinoma escamocelular Hospital Universitario Nacional

Aunque la clasificación de la OMS no recomienda la subclasificación histológica para los carcinomas orofaríngeos, para un análisis objetivo, se evaluó este parámetro tanto para los casos de cavidad oral como para los casos de orofaringe, se encontró que el subtipo convencional fue el más común 29 (58%), seguido del basaloide 15 (30%) sumado a otros dos subtipos encontrados: sarcomatoide 3 (6%) y verrucoso 3 (6%)(Microfotografía 1) . En lengua se encontraron 3 variantes: convencional 17 (80%), sarcomatoide 3 (14%) y verrucoso 1 (6%); en la amígdala la variante más común fue basaloide 9(75%) seguida de convencional 3(25%), hallazgo similar al encontrado en base de lengua y otras áreas de orofaringe (figura 3).

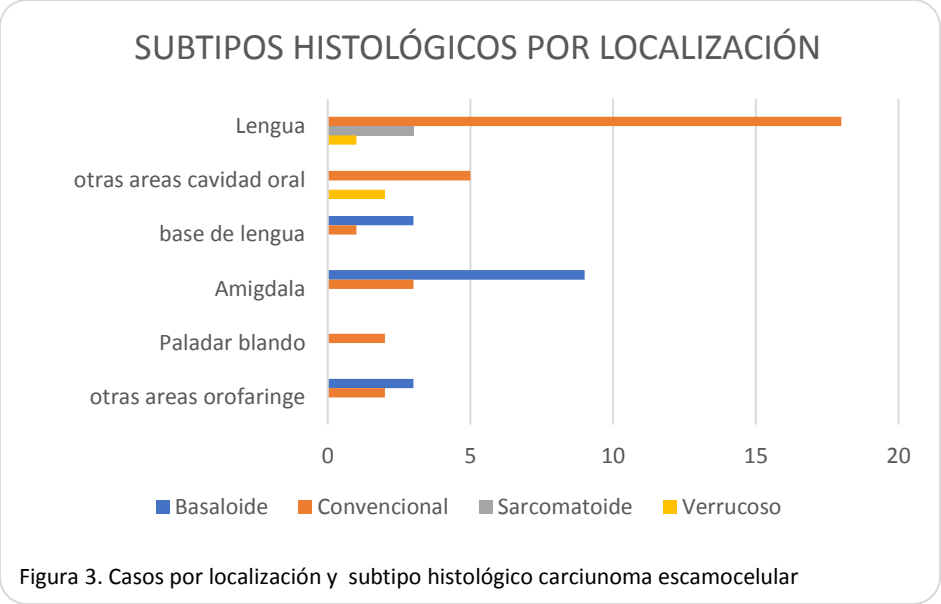
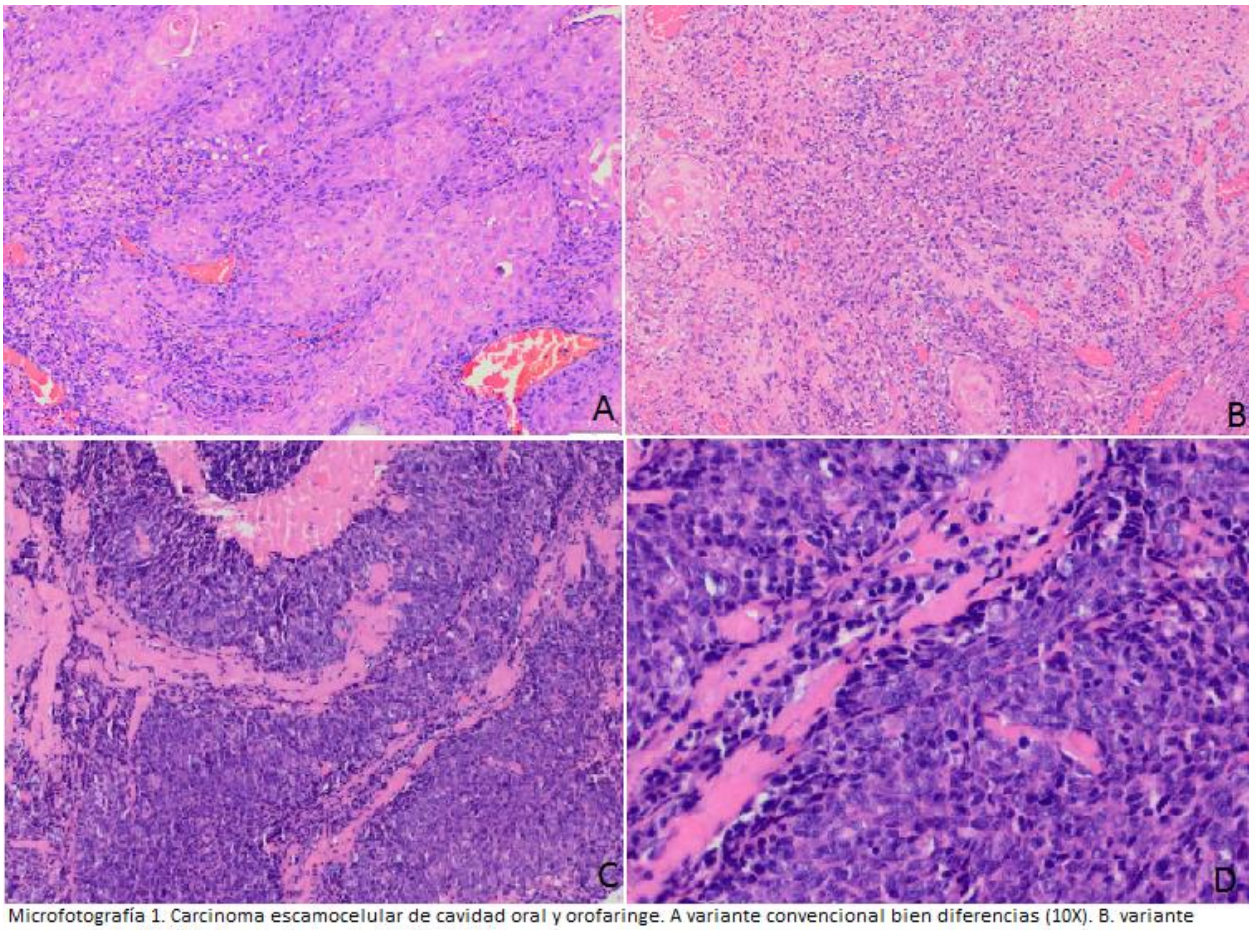


Figura 3. Casos por localización y subtipo histológico carciunoma escamocelular



Microfotografía 1. Carcinoma escamocelular de cavidad oral y orofaringe. A variante convencional bien diferencias (10X). B. variante sacromatoide (10X) C y D variante basaloide (10X - 40X)

El uso de tabaco se encontró en 17 (32%), distribuido por género: 13 (76%) hombres, 4 (24%) mujeres (Figura 4) y distribuido por tipo histológico: 9 (53%) convencional, 7 (41%) basaloide y 1 (6%) caso de sarcomatoide. El consumo de alcohol está presente en 9 (18%), con una distribución de género: hombres

8 (89%) mujeres 1 (11%) y un subtipo histológico: 5 (56%) basaloides, 3 (33%) convencionales y 1 (11%) sarcomatoide (Tabla 4). Se encontró además el uso concomitante de alcohol y tabaco en 5 (10%) casos. Al relacionar la localización con el hábito de fumar se encontró que el 33% de los pacientes con carcinomas localizados en lengua fuman, seguido por 3 casos en amígdala, un caso en paladar y 3 casos de base de lengua (Figura 5). La relación de localización con consumo de alcohol fue la siguiente: 4 casos en lengua, 2 casos en base de lengua, 1 caso en amígdala y 2 caso en otras áreas de orofaringe (Figura 6).

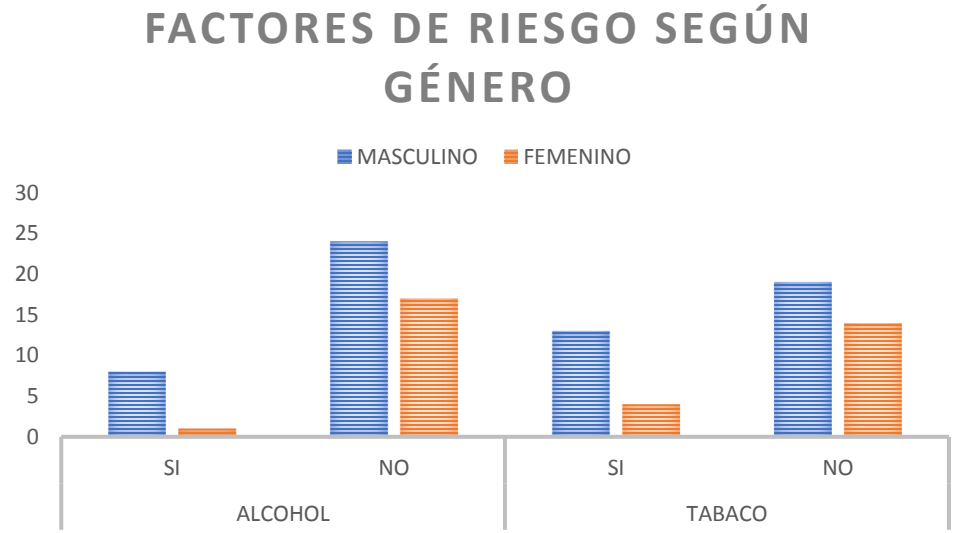


Figura 4 Distribución de factores de riesgo por género

Uso de tabaco y variante histológica	
Convencional	9 (53%)
Basaloide	7 (41%)
Sarcomatoide	1 (6%)
SUBTOTAL	17(100%)
Consumo de alcohol y variante histológica	
Convencional	3 (33%)
Basaloide	5 (56%)
Sarcomatoide	1 (11%)
SUBTOTAL	9 (100%)

Tabla 4 Factores de riesgo en pacientes por variante histológica carcinoma escamocelular.

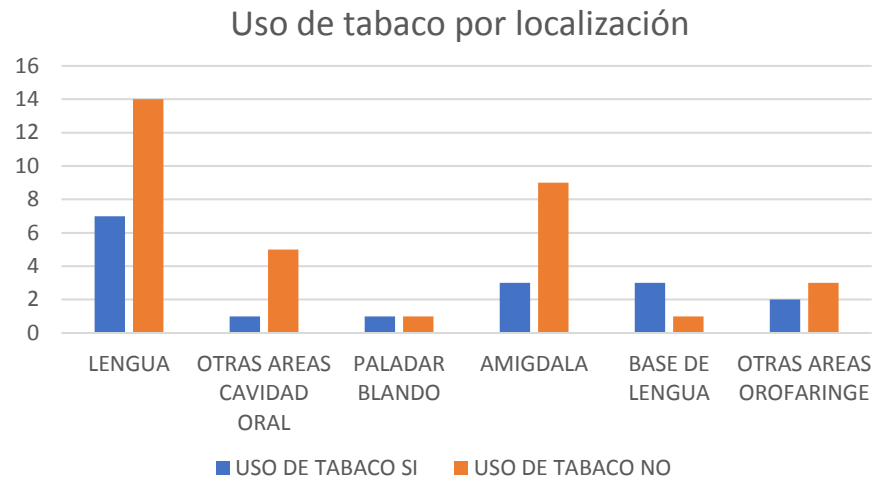


Figura 5. Uso de tabaco en pacientes por localización anatómica

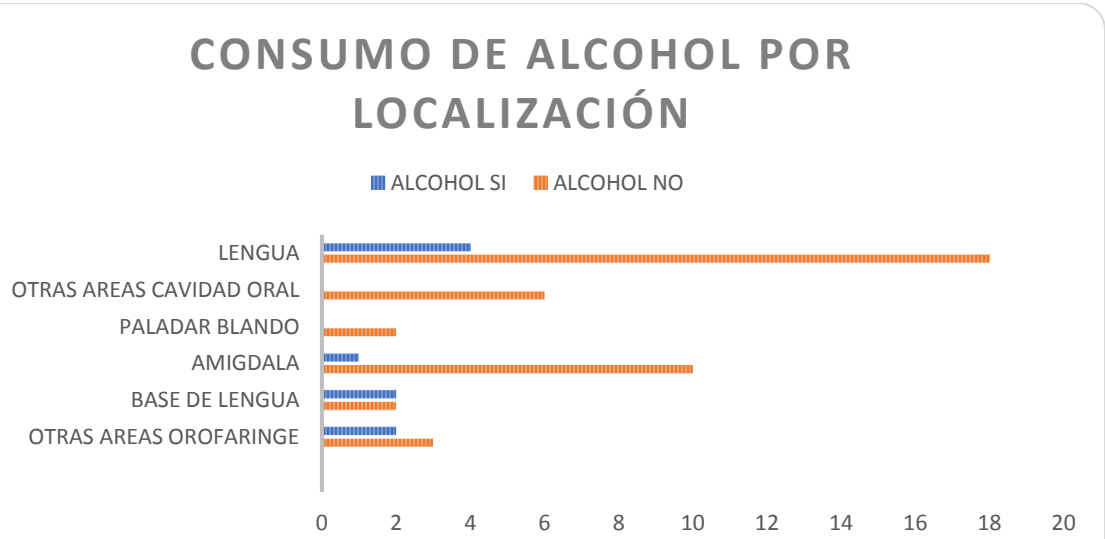


Figura 6. Consumo de alcohol en pacientes por localización anatómica

La marcación para p16 fue positiva en 19 (38%) casos (microfotografía 2), correspondiendo a 18 (78%) de casos en orofaringe y 1 (4%) de casos en cavidad oral. La distribución fue la siguiente: 1 (5%) de los casos localizados en lengua tenían marcación, 10 (83%) de los casos de amígdala, 3 (75%) de los casos de base de lengua, 4 (80%) de los casos en otra área de orofaringe (50%) y un caso (50%) en paladar. (Figura 7). Los casos se distribuyeron en la variable histológica basaloide (n14, 74%) y convencional (n=5, 26%)

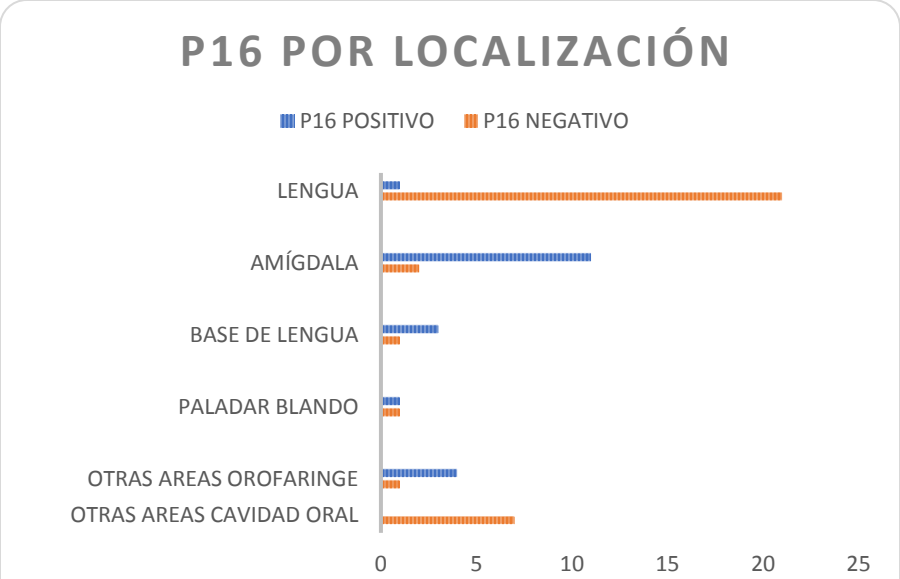
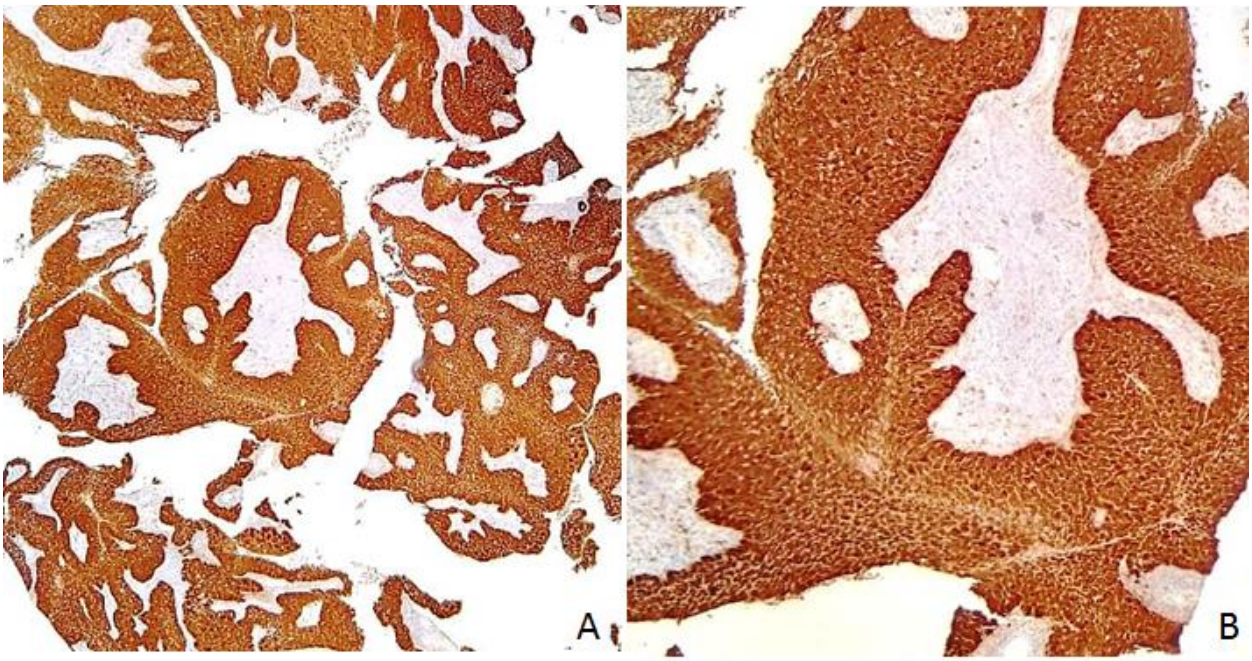


Figura 7. Marcación para p16 en casos por localización anatómica



Microfotografía 2. Marcación + para p16 orofaringe A 4X B 10X

La distribución por edad para la positividad de p16 fue la siguiente: 1 (5%) caso entre el grupo de edad 40-49 años, 10 (53%) pacientes tenía una edad entre 50-59 años, 5 (26%) pacientes tenía una edad entre 60 y 69 años y 3(16%) pacientes tenía más de 70 años (Figura 8) para una edad promedio de 53 años.

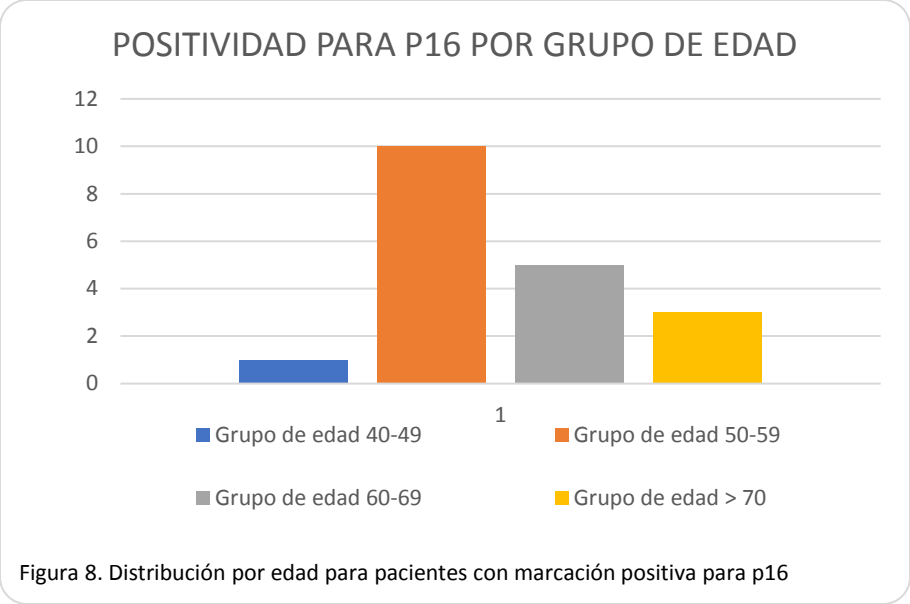


Figura 8. Distribución por edad para pacientes con marcación positiva para p16

De los casos positivos para p16, el 5% de los casos reportan consumo de alcohol únicamente, el 15% uso exclusivo de tabaco y un 20% uso de ambos (figura 9). Llama la atención que 19 casos (38%), no obtuvieron positividad para p16 y no utilizaban tabaco o consumían alcohol, 11 (57%) en lengua, 4 (21%) en otras áreas cavidad oral, 2 (11%) en otras áreas orofaringe, 2(11%) en amígdala.

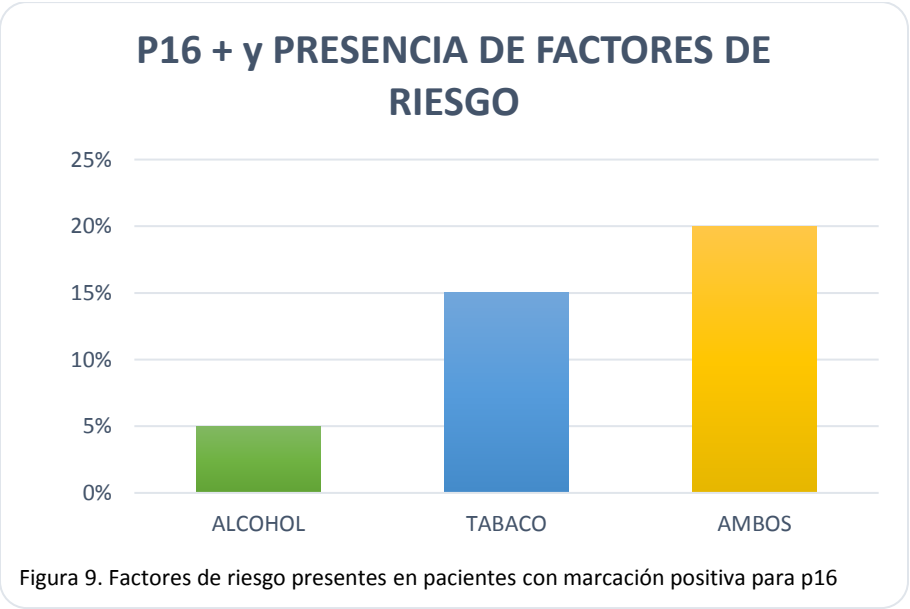


Figura 9. Factores de riesgo presentes en pacientes con marcación positiva para p16

En el análisis de p53 la marcación fuerte (valor entre 6-12) correspondió a 21 (40%) casos (microfotografía 3), los cuales eran de cavidad oral y de orofaringe, distribuidos de la siguiente manera: 11 (52%) en cavidad oral y 10 (48%) en cavidad orofaríngea. La distribución por localización en cavidad oral fue: 10 (47%) en lengua y 1(6%) en otras áreas de cavidad oral, para la cavidad orofaríngea: 5(24%) en amígdala, 2 (10%) en base de lengua, 1(5%) en paladar y 2(10%) en otras áreas de orofaringe (Figura 10

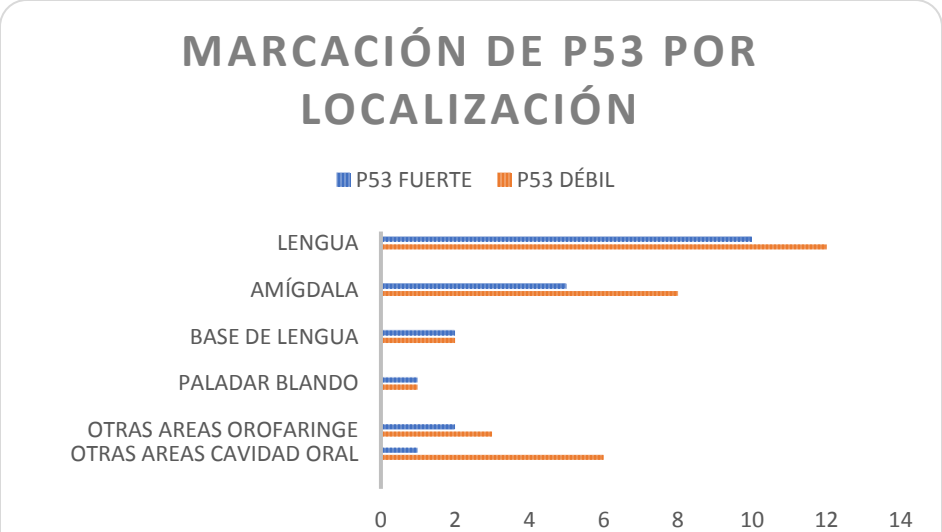
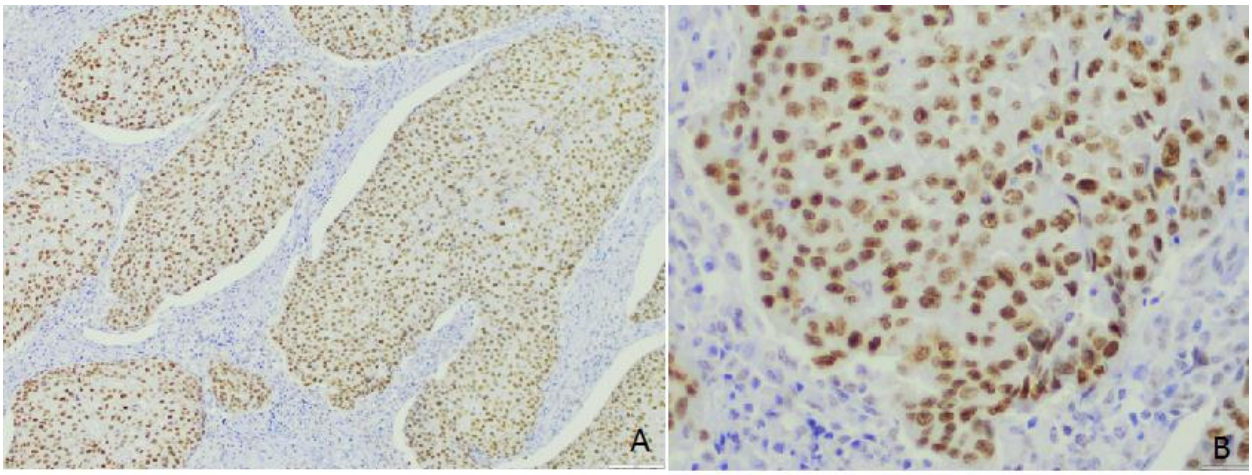


Figura 10. Casos con marcación fuerte para p53 por localización anatómica



Microfotografía 3. Marcación fuerte para p53 cavidad oral A 10X B 40X

La distribución por edad de la marcación fuerte se concentró en su mayoría en los grupos entre 50-79 años, distribuido de la siguiente manera 7 (33%) entre 50-59 años, 6 (29%) entre 60-69 años, 4 (19%) entre 70-79 años, 2 (10%) casos con una edad mayor a 80 años y un único caso para los grupos entre 30-49 años y menor a 30 años (Figura 11)

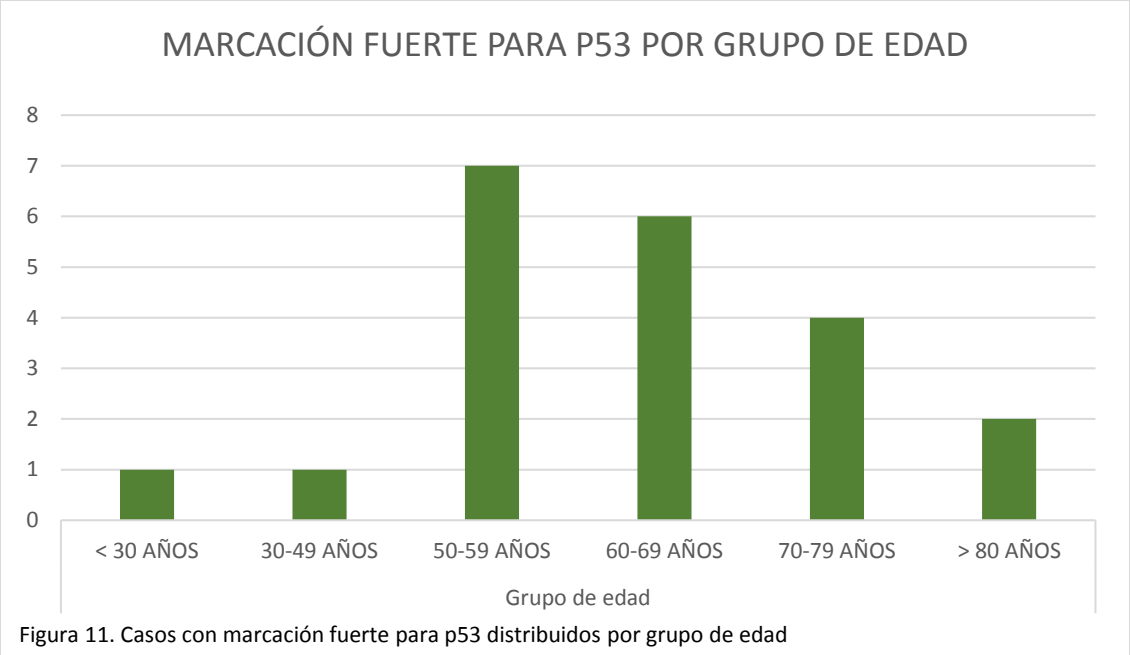


Figura 11. Casos con marcación fuerte para p53 distribuidos por grupo de edad

Se encontró consumo de alcohol y uso de tabaco en 10 (47%) paciente con marcación fuerte para 53, distribuidos de la siguiente manera: uso combinado de tabaco y de alcohol en 4 (40%), seguido de 3 (30%) pacientes con uso de tabaco exclusivamente y 3 (30%) con consumo de alcohol exclusivamente (Figura 12), al igual que en la tinción positiva para p16, llama la atención que en los restantes 11 (%) pacientes con marcación fuerte para p53 no se encontró uso de tabaco o alcohol.

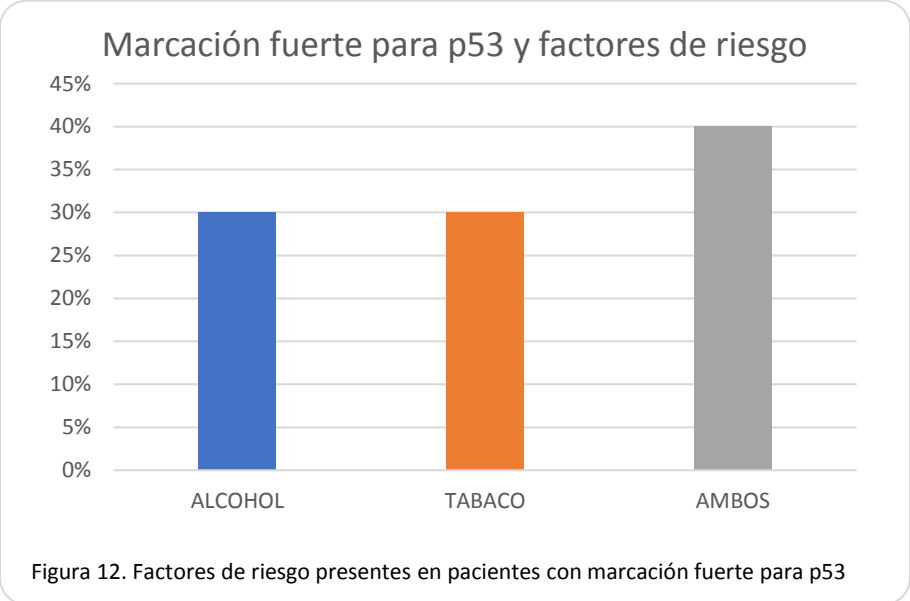


Figura 12. Factores de riesgo presentes en pacientes con marcación fuerte para p53

Se identificaron 10 casos que presentaron marcación positiva para p16 y marcación fuerte para p53 localizados principalmente en orofaringe (90% n=9) distribuidos de la siguiente manera: amígdala 4 (45%),

base de lengua 2 (22%), otras áreas orofaringe 2 (22%) y un (11%) caso en paladar 1 con un solo caso en cavidad oral localizado en lengua.

Los datos para la clasificación del sistema TNM se encontraban incompletos con un solo caso reportando la variable M, el 58% (n=31) de los casos tenía las variables T y N distribuidos en su gran mayoría en lengua y amígdala (Tabla 5), no se logró obtener información suficiente para determinar la variable de sobrevida por lo cual está no se pudo realizar.

Casos de amígdala por tamaño tumoral (T)		Casos en lengua por tamaño tumoral (T)	
T1	1 (17%)	T1	5 (29%)
T2	1 (17%)	T2	3 (18%)
T3	2 (33%)	T3	6 (35%)
T4	2 (33%)	T4	3 (18%)
Total	6 (100%)	Total	17 (100%)
Casos en amígdala por ganglios linfáticos (N)		**Casos en lengua por ganglios linfáticos (N)**	
N0	1 (17%)	N0	5 (33%)
N1	3 (50%)	N1	7 (47%)
N2	1 (17%)	N2	2 (12%)
N3	1 (17%)	N3	1 (6%)
Total	6 (100%)	Total	15 (100%)

Tabla 5.Tamaño tumoral (T) y ganglios linfáticos (N) lengua y amígdala

Discusión

Los hallazgos muestran una mayor cantidad de carcinomas escamocelulares en cavidad oral y orofaringe en hombres, congruente con lo informado en la literatura (15, 23,29,30); la proporción de casos fue mayor en el grupo de edad de 50-59 rango menor a series de casos nacionales en las cuales el predominio fue entre 60-69 años y menor a series internacionales (17,41). La edad promedio encontrada en la cavidad oral fue de 61 años la cual es menor a series de casos nacionales y similar a promedio internacional (41,17). La edad promedio para los casos de orofaringe fue de 64 años, igual a otras series nacionales pero mayor

a series internacionales (57 años) (17,41) este hallazgo es llamativo para nuestro país ya que se considera que los casos en orofaringe se presentan a una edad menor cuando están relacionados con VPH, sin embargo podría estar determinado por valores extremos ya que dos de los pacientes con mayor edad (91 y 85 años) se encontraban en este grupo.

El uso de tabaco fue elevado (32%) al compararse con el promedio de uso nacional estimado en 9.9%y bajo para otras series de casos nacionales e internacionales (68-73%) (41,42,43). El consumo de alcohol fue menor (18%) al promedio nacional (30%) y al encontrado en otras series de casos nacionales (42,43) y mucho menor a otras series internacionales donde se sitúa en 75% (41) sin embargo, no se vieron relacionados con una variante histológica, ni con una localización específica, posiblemente también por el número pequeño de casos. La baja prevalencia en los factores de riesgo puede ser debido a un subregistro en las historias clínicas ya que en muchos casos esta información no era detallada.

La tinción para p16 en orofaringe fue similar a los reportado en literatura internacional con una correlación con la variante histológica basaloide y localización en amígdala (15,41), fue más común en la población entre 50 y 59 años, la cual es una edad de presentación inusual, pero se ha observado en series de casos realizados en países en desarrollo (31,29), también se correlacionó más la variante basaloide y en especial en la localización de amígdala. Es de notar que uno de los casos en amígdala fue negativo para p16, a pesar de tener morfología basaloide, lo cual no descarta la relación con VPH pues la sensibilidad de la inmunohistoquímica es menor que a la detección por PCR o hibridación in situ con una sensibilidad variable entre 38-93% dependiendo de los criterios utilizados (34).

La marcación fuerte para p53 se relacionó con la variante histológica convencional y fue más frecuente en la cavidad oral lo cual es congruente con lo informado en la literatura (15) y se presentó en casos entre los 50 a 69 años (siendo el grupo de 50-59 años ligeramente mayor), edad de presentación temprana para esta neoplasia de acuerdo a lo informado en la literatura (15,33). Llama la atención el alto porcentaje de casos con marcación fuerte en amígdala, 6 de 7 de estos casos presentaban además p16 positivo hallazgo inusual en esta localización ya que se considera que en al menos el 70% de los casos es mutuamente excluyente (utilizando pruebas de inmunohistoquímica)(20,33). La marcación fuerte para p53 en esta localización (orofaringe), también tenían morfología basaloide hallazgo llamativo. Por último dos casos de base de lengua y 4 casos en amígdala fueron positivos para p16 y p53, lo cual podría indicar superposición entre la cavidad oral y orofaríngе con un proceso de carcinogénesis secuencial, también se ha descrito que hasta un 13% de los casos con marcación positiva para p16 por inmunohistoquímica no muestran evidencia de ADN viral por hibridación in situ en vez relacionándose con una mutación en Tp53 por marcación anormal y secuenciación (45).

El caso de marcación ausente para p53 podría ser considerado un patrón compatible con la mutación de Tp53 (45), en línea con lo visto en otros órganos donde su completa ausencia es sugestiva de la mutación (37,38) sin embargo debido a que el instrumento utilizado para medir la tinción no fue diseñada teniendo en cuenta este patrón no se tuvo en cuenta en el análisis.

El uso de tabaco y consumo de alcohol concomitante estuvieron relacionados con doble positividad para p16 y p53 en dos casos de base de lengua (cavidad orofaríngea) lo cual es inusual en esta localización (15,18,24).

las limitaciones de esta serie son el tamaño de la muestra (53 casos), su carácter retrospectivo que impidió obtener información relacionada con conductas o hábitos relacionados con mayor probabilidad

de infección por VPH, tampoco fue posible obtener valores completos del sistema TNM en todos los casos, tampoco fue posible determinar el desenlace de la gran mayoría de los pacientes debido a una pérdida de seguimiento en las historias clínicas, sin embargo llama la atención un alto porcentaje de casos en cavidad oral y orofaringe con estados T y N tempranos lo cual no se encontró en series nacionales o internacionales (17, 41,42) . Por último, no se realizó confirmación de la presencia de ADN viral o confirmación de mutación de PCR para Tp53.

En conclusión, esta serie de casos muestra menor rango de edad a lo esperado en cavidad oral, un bajo uso de alcohol y esperable para tabaco en poblaciones nacionales. El porcentaje de positividad para p16 fue similar al descrito en otras series y se relacionó con la variante histológica basaloide además de la localización en la orofaringe. La marcación fuerte para p53 fue heterogénea, presentándose en cavidad oral y orofaríngea, presente en todos los casos de variante sarcomatoide y relacionada con morfologías convencional y basaloide lo cual podría indicar un proceso de carcinogénesis secuencial en especial en orofaringe o en caso de presentarse de manera concomitante

Bibliografía

1. Kristen B. Pytynia, Dahlstrom KR, Sturgis EM. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. Oral Oncol. May; 50(5): 380–386, 2014.
2. AK Chaturvedi, EA Engels, RM Pfeiffer, BY Hernandez, W Xiao, E Kim, B Jiang, MT Goodman, M Sibug-Saber, W Cozen, L Liu, CF Lynch, N Wentzensen, R C Jordan, S Altekruse, WF Anderson, PS Rosenberg, ML Gillison. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. J Clin Oncol. Nov 10 2011.
3. C Pardo, A Suárez, JA Acosta, JJ Pérez. Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia cuarta edición. Instituto nacional de cancerología, Dic 2017.
4. C Pardo , R Cendales. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007-2011. Primera edición. Bogotá. D.C. Instituto Nacional de Cancerología, v.1. p. 148, 2015.
5. NJ Fischbein, N Lee. Leibel and Phillips Textbook of Radiation Oncology (Third Edition), 2010.
6. BW Neville, TA Day. Oral Cancer and Precancerous Lesions. CA Cancer J Clin ;52:195-215 2002.
7. SS Hetch. Lung Carcinogenesis by Tobacco Smoke Int J Cancer. 2012
8. Wilson D, Wakefield M, Owen N, Roberts L. Characteristics of heavy smokers. Preventive Medicine, 21(3), 311–319, 1992.
9. G PÖschl, HK Seitz. Alcohol & Alcoholism Vol. 39, No. 3, pp. 155–165, 2004.
10. HK Seitz, F Stickel,N Homann. Pathogenetic mechanisms of upper aerodigestive tract cancer in alcoholics. International Journal of Cancer, 108, 483–487, 2004.
11. JA Theruvathu, P Jaruga, RG Nath, M Dizdaroglu, P J Brooks. Polyamines stimulate the formation of mutagenic 1,N2-propanodeoxyguanosine adducts from acetaldehyde. Nucleic Acids Research Vol. 33, No. 11 3513–3520, 2005.
12. M Taberna, M Mena, MA Pavón, L Alemany , ML Gillison, R Mesía. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. Annals of Oncology 28: 2386–2398, 2017.
13. K Sonawane, R Suk, EY Chiao, J Chhatwal, P Qiu, T Wilkin, AG Nyitray, AG Sikora, AA Deshmukh. Oral Human Papillomavirus Infection: Differences in Prevalence Between Sexes and Concordance With Genital Human Papillomavirus Infection, NHANES 2011 to 2014. Ann Intern Med. 2017.

14. A Erira, LA Motta, A Chala, A Moreno, F Gamboa, DA García. Genotipificación, niveles de expresión y estado físico del virus del papiloma humano en pacientes colombianos con cáncer de células escamosas en la cavidad oral. Biomédica 2016.
15. AK. EI-Naggar, JKC Chan, JR. Grandis, T Takata, PJ. Slootweg. WHO Classification of Head and Neck Tumours. International Agency for Research on Cancer, 2017.
16. S Syrjänen, K Syrjänen. HPV in Head and Neck Carcinomas: Different HPV Profiles in Oropharyngeal Carcinomas – Why?. Acta Cytologica, 2019.
17. K Quintero, GA Giraldo, ML Uribe, A Baena, AC López, E Alvarez, GI Sánchez. Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. Braz J Otorhinolaryngol;79(3):375-81, 2013.
18. American Joint committee on cancer. AJCC Cancer staging Manual 8th edition, Springer, Chicago 2017.
19. M Robinson, A Schache, P Sloan, S Thavaraj. HPV Specific Testing: A Requirement for Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma Patients. Head and Neck Pathol 2012.
20. JE Lewis, Beth Beadle, JA Bishop, RD Chernock, C Colasacco, C Lacchetti, JT Moncur, JW Rocco, MR Schwartz, RR Seethala, NE Thomas, WH Westra, WC Faquin. Human Papillomavirus Testing in Head and Neck Carcinomas. College of American Pathologists. 2017.
21. AA Hashmi, ZF Hussain, SK Hashmi,M Irfan, EY Khan, N Faridi, A Khan, MM Edhi. Immunohistochemical over expression of p53 in head and neck Squamous cell carcinoma: clinical and prognostic significance. l. BMC Res Notes 11:433, 2016.
22. NF Schlecht, M Masika, A Diaz. Risk of Oral Human Papillomavirus Infection Among Sexually Active Female Adolescents Receiving the Quadrivalent Vaccine. JAMA Network Open, 2019.
23. G Zhou, Z Liu, JN Myers. TP53 Mutations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Their Impact on Disease Progression and Treatment Response. J Cell Biochem, 117(12): 2682–2692, 2016.
24. D Taylor, WM Koch, M Zahurak, K Shah, D Sidransky, WH Westra. Immunohistochemical Detection of p53 Protein Accumulation in Head and Neck Cancer: Correlation with p53 Gene Alterations. Human Pathology Vol 30, No. 10, 1999.
25. M Orsaria, S Marzinotto, L De MarchI, V Giacomarra, S Boria, C Rubini, AP Londero, C Di Loreto, L Mariuzzi. HPV-related Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma: p16INK4A Immunohistochemistry or HPV Genotyping? Anticancer research 35: 4733-4740, 2015.
26. L Amlani, E Bellile, M Spector, J Smith, C Brenner, L Rozek, A Nguyen, K Zarins, D Thomas, J McHugh, J Taylor, G Wolf. Expression of P53 and Prognosis in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC). Int J Cancer Clin Res, 2019.
27. L Alos, M Castillo, A Nadal, M Caballero, C Mallofre, A Palacin, A Cardesa. Adenosquamous carcinoma of the head and neck: criteria for diagnosis in a study of 12 cases. Histopathology 44, 570–579, 2004.
28. RP Masand, SK El-Mofty, X-J Ma, Y Luo, JJ Flanagan, JS Lewis. Adenosquamous Carcinoma of the Head and Neck: Relationship to Human Papillomavirus and Review of the Literature. Head and Neck Pathol 5:108–116, 2011.

29. AA Hashmi, N Younus , S Naz. P16 Immunohistochemical Expression in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Association With Prognostic Parameters, Cureus 12(6), 2020.

30. PT Hennessey , WH Westra, JA Califano. Human Papillomavirus and Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Recent Evidence and Clinical Implications. J Dent Res 88(4):300-306, 2009.

31. M Ralli, S Singh, SPS Yadav, N Sharma, R Verma, R Sen. Assessment and clinicopathological correlation of p16 expression in head and neck squamous cell carcinoma. Journal of Cancer Research and Therapeutics, Vol 12 Iss1, 2016.

32. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. Nature 351: 453-456, 1991.

33. Wong, K. S., Krane, J. F., & Jo, V. Y. Heterogeneity of p16 immunohistochemistry and increased sensitivity of RNA in situ hybridization in cytology specimens of HPV-related head and neck squamous cell carcinoma. In Cancer Cytopathology Vol. 127, Issue 10, pp. 632–642, 2019.

34. Yepez MC, Uribe C, Arias N, Navarro E, de Vries E, Gamboa O, Gil OF, Pardo C. Sistema de información de cáncer en Colombia -SICC (Versión 1.0). [Internet]. Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Cancerología -INC 2017. Disponible de: http://www.infocancer.co, fecha de acceso 2022.

35. Johnson, D. E, Burtness, B, Leemans, C. R., Lui, V. W. Y, Bauman, J. E., & Grandis, J. R. Head and neck squamous cell carcinoma. In Nature Reviews Disease Primers (Vol. 6, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC, 2020.

36. Salinas-Sánchez, A. S., Atienzar-Tobarra, M., Lorenzo-Romero, J. G., Sánchez-Sánchez, F., Giménez-Bachs, J. M., Donate-Moreno, M. J., Pastor-Navarro, H., Hernández-Millán, I., Segura-Martín, M., & Escribano-Martínez, J. Sensitivity and Specificity of P53 Protein Detection by Immunohistochemistry in Patients with Urothelial Bladder Carcinoma. In Urologia Internationalis (Vol. 79, Issue 4, pp. 321–327), 2007.

37. Thompson, E.F., Chen, J., Huvila, J. et al. p53 Immunohistochemical patterns in HPV-related neoplasms of the female lower genital tract can be mistaken for TP53 null or missense mutational patterns. Mod Pathol 33, 1649–1659, 2020.

38. Köbel, M., Ronnett, B. M., Singh, N., Soslow, R. A., Gilks, C. B., & McCluggage, W. G. Interpretation of P53 Immunohistochemistry in Endometrial Carcinomas. In International Journal of Gynecological Pathology (Vol. 38, pp. S123–S131). Ovid Technologies, 2019.

39. Hwang, H. J., Nam, S. K., Park, H., Park, Y., Koh, J., Na, H. Y., Kwak, Y., Kim, W. H., & Lee, H. S. Prediction of TP53 mutations by p53 immunohistochemistry and their prognostic significance in gastric cancer. In Journal of Pathology and Translational Medicine (Vol. 54, Issue 5, pp. 378–386). The Korean Society of Pathologists and The Korean Society for Cytopathology,2020.

40. Heckl, M., Schmoeckel, E., Hertlein, L., Rottmann, M., Jeschke, U., & Mayr, D. (2018). The ARID1A, p53 and ß-Catenin statuses are strong prognosticators in clear cell and endometrioid carcinoma of the ovary and the endometrium. In E. Asselin (Ed.), PLOS ONE Vol. 13, Issue 2, p. e0192881, 2018.

41. Beynon, R. A., Lang, S., Schimansky, S., Penfold, C. M., Waylen, A., Thomas, S. J., Pawlita, M., Waterboer, T., Martin, R. M., May, M., & Ness, A. R. Tobacco smoking and alcohol drinking at diagnosis of head and neck cancer and all-cause mortality: Results from head and neck 5000, a prospective observational cohort of people with head and neck cancer. In International Journal of Cancer Vol. 143, Issue 5, pp. 1114–1127.2018.

42. López, A. F., & Sanabria Quiroga, Á. E. Características clínicas y administrativas que se relacionan con el retraso en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello. In Revista Colombiana de Cirugía (Vol. 35, Issue 1, pp. 66–74), 2020.

43. Ministerio de Justicia y del Derecho, Observatorio de Drogas de Colombia. Estudio Nacional de Consumo de Sustancias Psicoactivas Colombia 2019. Bogotá DC,2019.

44. Rettig, E., Kiess, A. P., & Fakhry, C. The role of sexual behavior in head and neck cancer: implications for prevention and therapy. In Expert Review of Anticancer Therapy (Vol. 15, Issue 1, pp. 35–49), 2014.

45. Benzerdjeb, N., Tantot, J., Blanchet, C., Philouze, P., Mekki, Y., Lopez, J., & Devouassoux-Shisheboran, M. Oropharyngeal squamous cell carcinoma: p16/p53 immunohistochemistry as a strong predictor of HPV tumour status. Histopathology (Vol. 79, Issue 3, pp. 381–390), 2021.