

Trabajo Fin de Grado
Grado en Medicina

PERFIL DEL INFILTRADO INFLAMATORIO PERITUMORAL EN EL CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD ORAL

Autor
MAIALEN CAMPO DE LA FUENTE
Director
PABLO AGUIRRE ECHEVARRÍA

© 2021, Maialen Campo de la Fuente

Donostia, 22 de abril de 2021

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| ÍNDICE | I |
| AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA | II |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| ANATOMÍA DE LA CAVIDAD ORAL | 1 |
| EPIDEMIOLOGÍA | 2 |
| Evolución histórica | 2 |
| Guipúzcoa | 4 |
| ETIOLOGÍA | 6 |
| CLÍNICA | 7 |
| TRATAMIENTO | 9 |
| SUPERVIVENCIA | 9 |
| TNM y estadío | 10 |
| GENÉTICA | 11 |
| MICROAMBIENTE TUMORAL | 11 |
| OBJETIVOS | 12 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 13 |
| ANÁLISIS CLÍNICO | 13 |
| ANÁLISIS HISTOLÓGICO | 14 |
| ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO | 15 |
| ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 17 |
| CONSIDERACIONES ÉTICAS | 17 |
| RESULTADOS | 18 |
| ANÁLISIS DE LOS TILs | 18 |
| ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS Y CLÍNICAS | 20 |
| TENDENCIAS OBSERVADAS | 23 |
| DISCUSIÓN | 24 |
| CONCLUSIÓN | 26 |
| CONFLICTOS DE INTERESES | 26 |
| BIBLIOGRAFÍA | 27 |
| ANEXO | 29 |

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi tutor y patólogo Pablo Aguirre Echevarría por su tiempo y dedicación, por guiarme en este trabajo y por introducirme en el mundo de la Anatomía Patológica; sin olvidarme del residente Ander Ezcurra, por acompañarme y motivarme.

DEDICATORIA

Dedicado a la familia Egaña-Azpiazu, por que algún día recuperéis la paz interior y porque no perdáis la alegría que os caracteriza.

1. INTRODUCCIÓN ^{1,2}

Los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello surgen en la mucosa de la cavidad oral, nasofaringe, orofaringe, hipofaringe, laringe y fosas nasales. Esta mucosa está tapizada por un epitelio escamoso poliestratificado, de manera que las neoplasias malignas desarrolladas se denominan genéricamente como carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC).

En cuanto a la cavidad oral, el carcinoma de células escamosas es el tipo más común, y se estima que constituye más del 90% de todas las neoplasias malignas orales.

1.1. ANATOMÍA DE LA CAVIDAD ORAL

Según el *American Joint Committee on Cancer Staging-Union Internationale Contre le Cancer (AJCC-UICC/2017)*, la cavidad oral se extiende desde la unión de la piel con los labios hasta la unión del paladar duro con el paladar blando (límite superior) y la línea de las papilas circunvaladas de la lengua (límite inferior). La cavidad oral se puede subdividir en ocho áreas: labios, mucosa oral, encía superior, encía inferior, trígono retromolar, paladar duro, suelo de la boca y 2/3 anteriores de la lengua (**Figura 1**).

Posterior a la cavidad oral se encuentra la orofaringe, que se extiende desde el plano del paladar duro hasta el plano del hueso hioides, separándose de la cavidad oral mediante la unión del paladar duro con el blando (límite superior), la línea de las papilas circunvaladas (límite inferior) y los pilares anteriores de las amígdalas palatinas (límite lateral). Comprende la base de la lengua, las amígdalas palatinas, los pilares anteriores y posteriores de las amígdalas palatinas, paladar blando, úvula y paredes posteriores faríngeas (**Figura 2**).

La cavidad oral y la orofaringe, a pesar de ser contiguas, se consideran dos entidades diferentes.

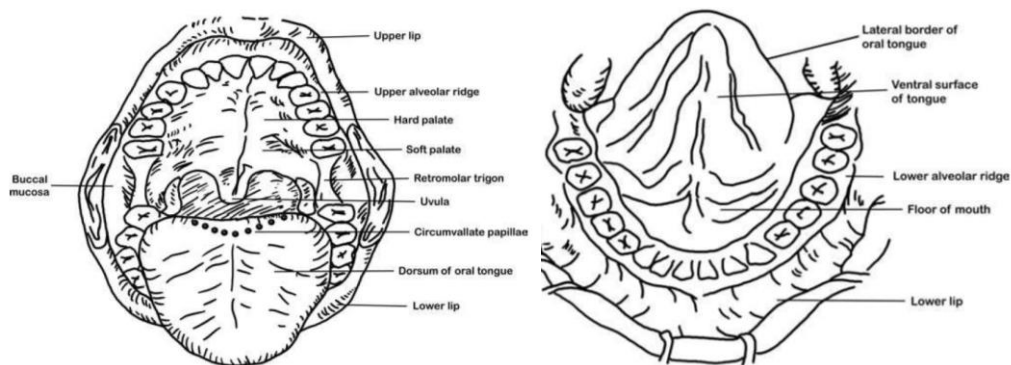


Figura 1. Diagramas que ilustran la relación entre las localizaciones de la cavidad oral. La cavidad oral se divide en labios, mucosa oral, encía superior, encía inferior, trígono retromolar, paladar duro, suelo de la boca y 2/3 anteriores de la lengua.¹

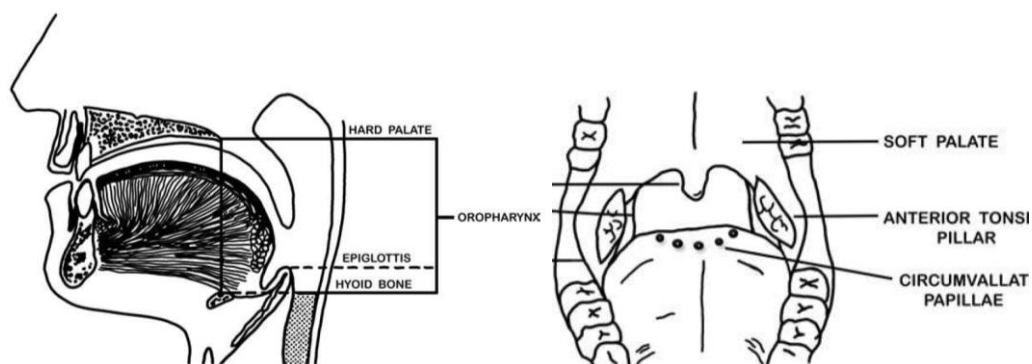


Figura 2. Diagramas que ilustran la relación entre las localizaciones de la orofaringe. La orofaringe se divide en base de la lengua, amígdalas palatinas, pilares anteriores y posteriores de las amígdalas palatinas, paladar blando, úvula y paredes posteriores faríngeas.¹

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

1.2.1. Evolución histórica

El CCECC “clásico” está fuertemente relacionado con el alcohol y el tabaco, por lo que en los hombres su mortalidad había ido en aumento hasta que con los cambios de hábitos la mortalidad comenzó a reducirse (**Figura 3**).

En cambio, en las mujeres la mortalidad era menor hasta que los cambios de hábitos hicieron aumentar de manera gradual su mortalidad (**Figura 4**).

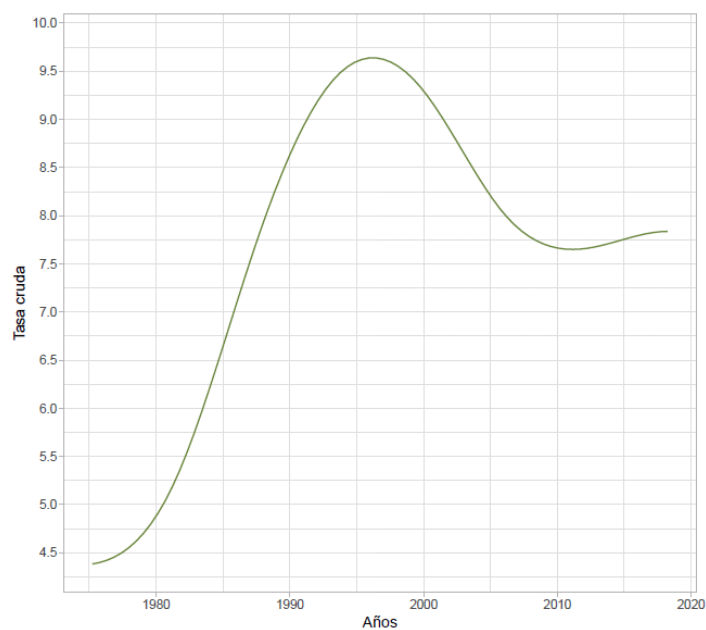


Figura 3. Mortalidad en España del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC). Hombres, 1975-2018, tasa cruda de mortalidad. Fuente: <http://ariadna.cne.isciii.es>

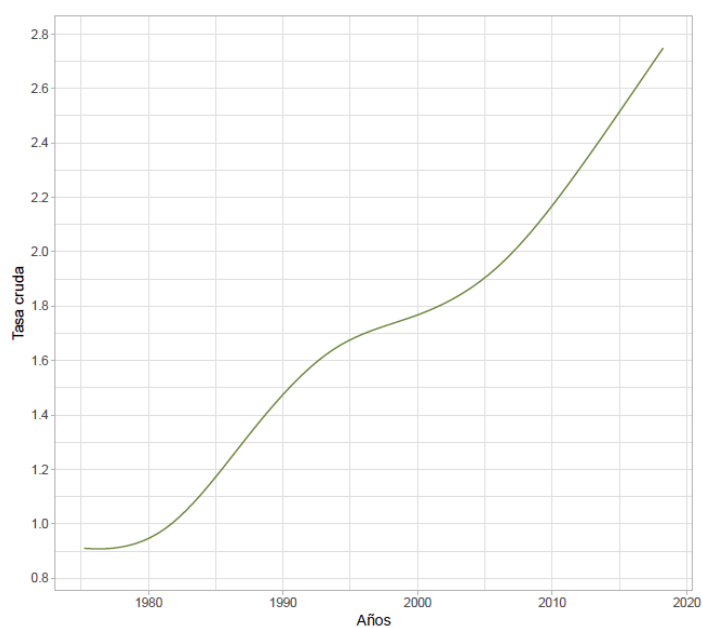


Figura 4. Mortalidad en España del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC). Mujeres, 1975-2018, tasa cruda de mortalidad. Fuente: <http://ariadna.cne.isciii.es>

La mortalidad por CCECC en España en los últimos años se ve reflejada en la **Tabla 1**, y la incidencia estimada para el año 2021 es de 8188 casos, de los cuales 5725 serán varones y 2463 mujeres.³

| Sexo | Año | Defunciones |
|---------|------|-------------|
| Mujeres | 2017 | 619 |
| | 2018 | 660 |
| Hombres | 2017 | 1831 |
| | 2018 | 1743 |

| Sexo | Año | Tasa cruda de mortalidad |
|---------|------|--------------------------|
| Mujeres | 2017 | 2.61 |
| | 2018 | 2.77 |
| Hombres | 2017 | 8.02 |
| | 2018 | 7.61 |

Tabla 1. Mortalidad en España del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC). Los hombres resultan más afectados que las mujeres. Los últimos datos publicados en el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) datan del 2018. Fuente: <http://ariadna.cne.isciii.es>

1.2.2. Guipúzcoa

Guipúzcoa cumple el mismo patrón epidemiológico de España, donde queda patente que, aunque la mortalidad es mayor en los hombres, los cambios de hábitos de la sociedad hacen disminuir la mortalidad masculina (**Figura 5**) y aumentar la femenina (**Figura 6**).

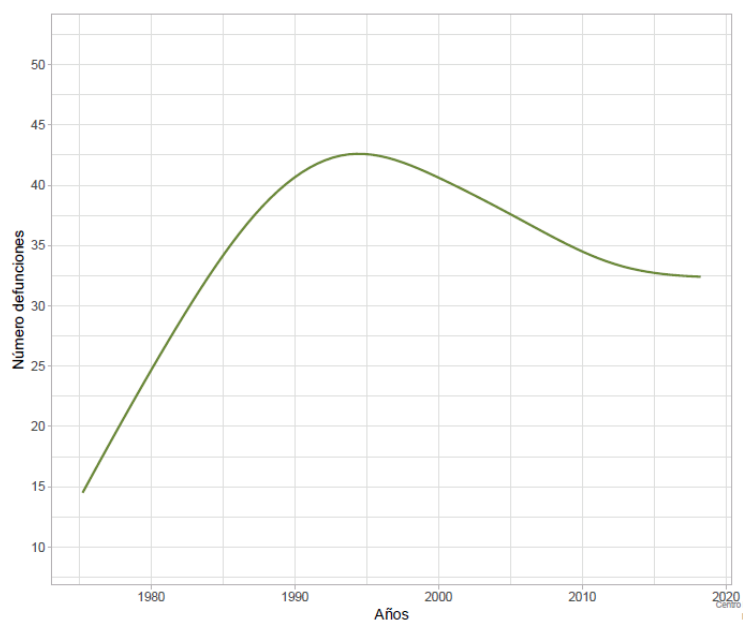


Figura 5. Mortalidad masculina del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC) en Guipúzcoa. En los hombres, la mortalidad está disminuyendo. 1975-2018, número de defunciones. Fuente: <http://ariadna.cne.isciii.es>

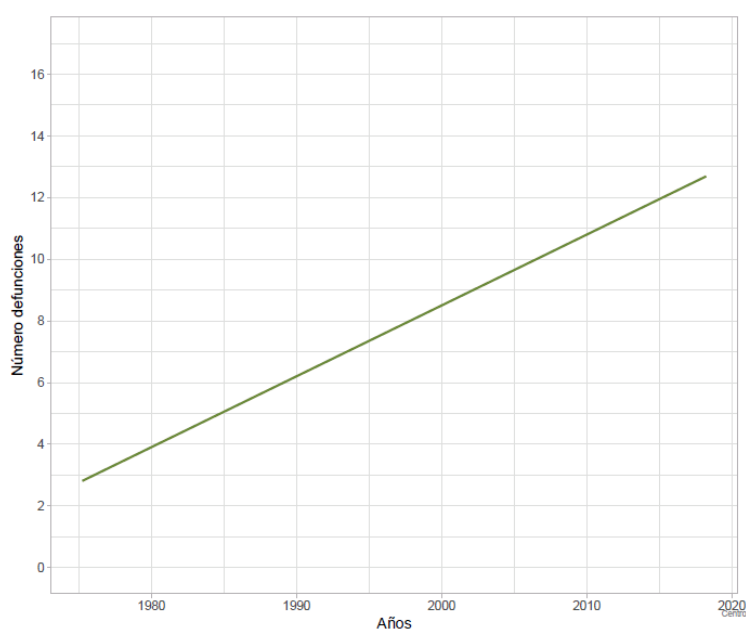


Figura 6. Mortalidad femenina del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC) en Guipúzcoa. En las mujeres, la mortalidad está en aumento. 1975-2018, número de defunciones. Fuente: <http://ariadna.cne.isciii.es>

La mortalidad por CCECC en Guipúzcoa en los últimos años se ve reflejada en la **Tabla 2.**

| Sexo | Año | Defunciones |
|---------|------|-------------|
| Mujeres | 2017 | 7 |
| | 2018 | 17 |
| Hombres | 2017 | 33 |
| | 2018 | 36 |

| Sexo | Año | Tasa cruda de mortalidad |
|---------|------|--------------------------|
| Mujeres | 2017 | 1.92 |
| | 2018 | 4.65 |
| Hombres | 2017 | 9.57 |
| | 2018 | 10.42 |

Tabla 2. Mortalidad en Guipúzcoa del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC). Los hombres resultan más afectados que las mujeres. Los últimos datos publicados en el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) datan del 2018. Fuente: <http://ariadna.cne.isciii.es>

1.3. ETIOLOGÍA

Los carcinógenos químicos más relevantes sin duda alguna son el **tabaco** y el **alcohol**. La conexión entre estos dos carcinógenos con el carcinoma oral de células escamosas (COCE) ha quedado claramente establecida mediante numerosos estudios. El tabaco y el alcohol actúan de manera carcinógena *per se*, pero tienen un efecto **sinérgico** cuando se combinan. Se estima que el 75% de los cánceres orales están asociados a la exposición prolongada y abusiva del tabaco y el alcohol. Un consumo abusivo de estas dos sustancias produce un riesgo 35 veces mayor de desarrollar un COCE.⁴

En el mundo occidental el tabaco se consume de manera inhalada (fumado), tanto en cigarrillo como en pipa, y ambos modos producen un riesgo similar para el cáncer oral. Ciertas variantes de tabaco inhalado (*bidi*, *chutta*) producen un riesgo mayor para desarrollar un cáncer oral, ya que la ingesta de los carcinógenos es mayor que con los cigarrillos.⁵ En muchas otras partes del mundo, el tabaco no es inhalado sino mascado (por ejemplo, con el *buyo*). Tanto en el tabaco inhalado como en el mascado, el riesgo depende de la dosis y del tiempo de exposición. Por todas estas diferentes

presentaciones, el COCE no se limita exclusivamente a los países occidentales, sino que también afecta a los países en vías de desarrollo.

El segundo carcinógeno más importante es el alcohol. Un consumo >30g/día aumenta linealmente el riesgo de cáncer. Todas las formas de bebidas alcohólicas son peligrosas si son consumidas en exceso.

El relativamente reciente descubrimiento del Virus del Papiloma Humano (VPH) como causante de carcinomas ha supuesto un cambio en la epidemiología y patogenia de los CCECC. El VPH es raramente detectado en el COCE, pero es un importante factor etiológico en el carcinoma de la orofaringe, concretamente en las amígdalas palatinas y en la base de la lengua. La exposición del VPH aumenta el riesgo de cáncer de orofaringe, incluso en individuos que no consumen ni tabaco ni alcohol; lo que sugiere dos vías distintas de carcinogénesis (tabaco y alcohol *versus* VPH).

Además de los factores de riesgo mencionados anteriormente, cabe destacar que la radiación ultravioleta fomenta el cáncer labial, especialmente en el labio inferior y en sujetos de tez clara. Esta propensión se atribuye a la falta de pigmentación que protege contra la radiación UV.

Por último, se han descrito carcinomas desarrollados en lugares de traumatismos repetidos causados por dientes rotos o prótesis dentarias mal diseñadas.

Por todo lo mencionado, es importante abandonar el tabaco y el alcohol (cáncer oral), evitar la exposición solar (cáncer labial) y mantener una adecuada higiene oral y dentición (cáncer oral) para prevenir la aparición de carcinomas orales de células escamosas, ya que no existe ningún sistema de cribado validado.

1.4. CLÍNICA

La mayoría de los COCEs ocurren entre la sexta y octava década de la vida, con una mediana de **66 años** al diagnóstico. Afecta más a **hombres**, aunque la brecha entre sexos es cada vez menor.

Los carcinomas asintomáticos en fases tempranas se presentan típicamente como **leucoplasias**, y en su defecto como eritroplasias (ambas se consideran lesiones

pre malignas). Las leucoplasias son lesiones blanquecinas de la mucosa oral, y al microscopio se pueden observar diferentes alteraciones, desde hiperplasia hasta carcinoma *in situ* (CIS). Las leucoplasias con criterios histológicos de alto riesgo como displasia severa o CIS tienen un alto riesgo de transformación maligna. En cambio, las lesiones sin displasia o con leve displasia -que son la mayoría- son las que plantean el mayor dilema en cuanto al manejo para los clínicos, ya que solo un pequeño porcentaje de lesiones progresará hacia el cáncer.⁶ En cuanto a las eritroplasias, en el 50% de los casos ya hay un carcinoma invasivo en su interior, por lo que la eritroplasia, aunque menos habitual, es más indicativa de carcinoma que la leucoplasia.

Sin embargo, el paciente típico presenta una **úlcera** indurada y no dolorosa de meses de evolución, y la lesión suele tener 2 centímetros de diámetro cuando la enfermedad toma personalidad. Dicha úlcera es solo la punta del iceberg ya que la afectación suele ser extensa.

En la cavidad oral los lugares más habituales para el carcinoma de células escamosas son el **suelo de la boca** y la **lengua oral**. Ambas localizaciones constituyen más del 60% de todos los cánceres orales (excluyendo los labios). En el suelo de la boca, el 72% de los casos ocurren al lado del frenillo lingual. En la lengua oral el 75% de los casos ocurren en el tercio medio del borde lateral.

A medida que el carcinoma avanza, la enfermedad se vuelve sintomática, con sensación de incomodidad, dolor, sialorrea o hemorragia. Cuando afecta a la lengua oral, puede haber disartria. Un tercio de los pacientes presenta pérdida de peso al diagnóstico. Es habitual encontrar afectación ganglionar y normalmente suelen ser los niveles ganglionares I y II de la región cervical (submandibular y cadena yugular alta, respectivamente). Si las lesiones se encuentran cerca de la línea media, puede haber diseminación ganglionar contralateral.

La presencia de metástasis no es lo habitual, pero el COCE se caracteriza por la alta tasa de recurrencias locales.

1.5. TRATAMIENTO

La base del tratamiento es la cirugía, y la ausencia de bordes afectos es un importante factor pronóstico. Cuando se detecta en estadios avanzados, suele ser necesario el tratamiento perioperatorio (radioterapia y/o quimioterapia).

1.6. SUPERVIVENCIA

A día de hoy, la supervivencia del COCE sigue siendo baja (**Tabla 3**), y los factores pronósticos se basan en las características clínicas e histológicas como el tamaño tumoral (T), la infiltración máxima (IM), la afectación ganglionar (N), la extensión extranodal (EEN), el estado de los márgenes quirúrgicos, la presencia de invasión perineural y la histología del tumor.

| Suelo de la boca | | Lengua oral | |
|------------------|----------------------|-------------|----------------------|
| Afectación | Supervivencia 5 años | Afectación | Supervivencia 5 años |
| Local | 76% | Local | 82% |
| Regional | 38% | Regional | 68% |
| Distancia | 20% | Distancia | 40% |
| En conjunto | 51% | En conjunto | 67% |

Tabla 3. Supervivencia a los 5 años de las localizaciones más habituales del carcinoma oral de células escamosas (COCE). Tasas de supervivencia a los 5 años del COCE, concretamente del suelo de la boca y de la lengua oral. Basado en diagnósticos entre 2010 y 2016. Afectación local: sin diseminación ganglionar (N0). Afectación regional: con diseminación ganglionar (N+). Afectación a distancia: presencia de metástasis (M1). Afectación en conjunto: supervivencia a 5 sin importar el grado de diseminación al diagnóstico.⁷

El TNM se adjunta en la siguiente página, en la **Tabla 4**.

| Tumor primario (T) | |
|--|---|
| Tx | No se puede evaluar el tumor primario. |
| Tis | Carcinoma <i>in situ</i> . |
| T1 | Tumor \leq 2cm e IM \leq 5mm. |
| T2 | Tumor \leq 2cm e IM $>$ 5mm pero \leq 10mm o tumor $>$ 2cm pero \leq 4cm e IM \leq 10mm. |
| T3 | Tumor $>$ 4cm o IM $>$ 10mm. |
| T4a (labio) | Invasión de hueso, nervio alveolar inferior, suelo de la boca y/o piel de la cara. |
| T4a (cavidad oral) | Invasión de mandíbula, senos nasales o piel de la cara. |
| T4b | Invasión de músculos y huesos que conforman la boca o base de cráneo y/o arterias internas. |
| Afectación de ganglios linfáticos (N) | |
| Nx | No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales. |
| N0 | No hay evidencia de cáncer en los ganglios linfáticos regionales. |
| N1 | Un solo ganglio linfático ipsilateral \leq 3cm. No hay EEN. |
| N2a | Un solo ganglio linfático ipsilateral \leq 3cm, pero hay EEN o un solo ganglio linfático ipsilateral $>$ 3cm pero \leq 6cm, y no hay EEN. |
| N2b | Más de un ganglio linfático ipsilateral y ninguno mide $>$ 6cm. No hay EEN. |
| N2c | Más de un ganglio linfático contralateral o bilateral y ninguno mide $>$ 6cm. No hay EEN. |
| N3a | Ganglios linfáticos $>$ 6 cm. No hay EEN. |
| N3b | Hay EEN en un ganglio ipsilateral y mide $>$ 3cm o hay EEN en un ganglio contralateral que mide \leq 3cm o afectación de muchos ganglios linfáticos y al menos 1 tiene EEN. |
| Metástasis (M) | |
| M0 | Sin evidencia de metástasis. |
| M1 | Presencia de metástasis. |

| | | | |
|--------------------|-----------------|--------------------|------------------------------|
| Estadio I | T1, N0, M0 | Estadio IVA | T4a, N1, M0 |
| Estadio II | T2, N0, M0 | | T1 a T4a, N2, M0 |
| Estadio III | T3, N0, M0 | Estadio IVB | Cualquier T, N3, M0 |
| | T1 a T3, N1, M0 | | T4b, cualquier N, M0 |
| | | Estadio IVC | Cualquier T, cualquier N, M1 |

Tabla 4. 8ª edición de la clasificación TNM del carcinoma oral de células escamosas (COCE). Los cambios más importantes son la incorporación de características patológicas como la infiltración máxima (IM) en el apartado del tumor primario (T) y la incorporación de la extensión extranodal (EEN) en el apartado de la afectación ganglionar (N). AJCC-UICC, 2017.

1.7. GENÉTICA

Las mutaciones más importantes en el COCE son en los genes supresores de tumores TP53 (72% de los tumores, codifica el p53) y CDKN2A (22% de los tumores, codifica el p16). El único oncogén mutado con relevancia es el PIK3CA (~14% de los tumores, codifica el PI3K). Así, mientras que en otros tumores sólidos las mutaciones en protooncogenes suelen conllevar a la malignización, el COCE se caracteriza por la pérdida de genes supresores de tumores, siendo especialmente relevante la mutación del TP53.^{8,9}

Además, los polimorfismos genéticos involucrados en el metabolismo de las sustancias carcinógenas como el alcohol y el tabaco se asocian a la predisposición individual. Esto explicaría la relación entre la susceptibilidad individual al daño genético y el cáncer.

1.8. MICROAMBIENTE TUMORAL

Las células cancerígenas están infiltradas por células del sistema inmune, creando el denominado microambiente tumoral. Aunque el carcinoma oral de células escamosas se caracteriza por ser un tumor muy inmunógeno, no siempre se observa una respuesta inmune efectiva.¹⁰ Recientes investigaciones revelan que las células cancerígenas son capaces de escapar del control inmunológico mediante diferentes mecanismos; las interacciones que surgen entre las células cancerígenas y las células infiltrantes del sistema inmune protegen al cáncer del control inmunológico, fomentando su propagación.¹¹ El grado de infiltrado inflamatorio peritumoral varía dependiendo de las características del tumor y de la respuesta inmune del individuo.

Los individuos con alteraciones o déficits inmunológicos son propensos a desarrollar neoplasias, por lo que se podría utilizar la **actividad inflamatoria como factor pronóstico**, ya que cuanto menor es la infiltración inflamatoria, mayor es el riesgo de afectación ganglionar o metástasis.¹²

Las células tumorales, los fibroblastos y las células del sistema inmunológico forman parte del complejo y **heterogéneo** microambiente tumoral. Por un lado, tanto las

células tumorales como los fibroblastos secretan factores de crecimiento y citoquinas que reclutan las células endoteliales, estimulan la angiogénesis, aseguran el aporte sanguíneo al tumor y promueven el patrón inmunosupresivo de las células inmunológicas. Además, en las células tumorales se encuentra sobreexpresado el ligando de muerte programada-1 (PD-L1), atenuando la actividad citolítica de los linfocitos T y escapando así del control inmunológico;^{10, 13} es por esto que a día de hoy el eje PD-L1/PD-1 es un objetivo sometido a estudio y se están desarrollando inhibidores de dicho eje para aplicarlos como oncoterapia.

Por otro lado, se encuentran las células del sistema inmunológico, formado por los **linfocitos infiltrantes del tumor** (linfocitos T y B, también llamados **TILs** por las siglas de *tumor infiltrating lymphocytes*) y por las células del linaje mielóide (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas y células mieloides supresoras). La mayor defensa anti-tumoral la realizan los linfocitos T citotóxicos o CD8+.¹⁴

La tolerancia o actividad citolítica hacia las células tumorales depende mucho del perfil de las células inmunológicas. Niveles altos de TILs han sido relacionados con mejores resultados en diferentes carcinomas, pero este resultado depende mucho del patrón de las células inmunes, es decir, si predomina un perfil anti-tumoral o un perfil inmunosupresor.¹¹

1.9. OBJETIVOS

El principal objetivo de este Trabajo de Fin de Grado es **analizar el perfil del infiltrado inflamatorio peritumoral en el carcinoma oral de células escamosas (COCE) y analizar su relación con el pronóstico**, además de la relación con otras características clínico-histológicas.

Objetivos secundarios serían correlacionar las características histopatológicas entre sí, con las características clínicas y con el pronóstico.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio es un análisis retrospectivo de 10 casos (n=10) con diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas. Todos los diagnósticos se realizaron en 2015 y las cirugías de resección se llevaron a cabo entre febrero y noviembre del mismo año. Los tumores fueron tratados en el Hospital Universitario de Donostia (HUD) por los Servicios de Otorrinolaringología y Cirugía Maxilofacial.

Se incluyeron muestras de tumores primarios con diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas, pacientes tratados sin neoadyuvancia y pacientes con historia clínica completa y accesible. Los criterios de exclusión incluyeron aplicación de quimioterapia o radioterapia preoperatoria, historia clínica incompleta, cualquier localización no comprendida como cavidad oral y recurrencias locales.

2.1. ANÁLISIS CLÍNICO

Los datos clínicos anonimizados se obtuvieron mediante el programa informático Osabide Global del Servicio Vasco de Salud/Osakidetza y se analizó la edad, el sexo, el tabaquismo, el consumo diario de alcohol, la localización dentro de la cavidad oral, el estadio, la necesidad de adyuvancia y el pronóstico (**Tabla 5**).

A excepción de la localización, las variables se dicotomizaron. Se agruparon los fumadores activos y los que lo habían sido, los bebedores actuales y los que lo habían sido, y el pronóstico se consideró favorable si los pacientes seguían **vivos** a los 5 años del diagnóstico o si **no hubo recidiva** (aunque fallecieran, se les incluyó en este grupo si la causa de la muerte fue ajena al tumor). Los pacientes fallecidos por el tumor o con recidiva se catalogaron como pacientes con pronóstico desfavorable.

| Variables clínicas analizadas | n=10 |
|-------------------------------|------|
| Edad | |
| ≥60 | 9 |
| <60 | 1 |
| Sexo | |
| Masculino | 9 |
| Femenino | 1 |
| Tabaco | |
| Sí | 8 |
| No | 2 |
| Alcohol | |
| Sí | 9 |
| No | 1 |
| Localización | |
| Lengua oral | 8 |
| Suelo de la boca | 1 |
| Trígono retromolar | 1 |
| Estadio | |
| Temprano (I + II) | 5 |
| Avanzado (III + IV) | 5 |
| Necesidad de adyuvancia | |
| Sí | 5 |
| No | 5 |
| Pronóstico | |
| Favorable | 5 |
| Desfavorable | 5 |

Tabla 5. Variables clínicas analizadas en el estudio. Tamaño de la muestra = 10 (n=10).

2.2. ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Los bloques con el tejido tumoral se obtuvieron de los archivos del Servicio de Anatomía Patológica del HUD, se procesaron en láminas de 3 μm y se tiñeron con hematoxilina-eosina de manera rutinaria. Las muestras histológicas se evaluaron conjuntamente por el autor y su tutor.

Se analizó la diferenciación tumoral, el grado de infiltrado inflamatorio peritumoral y la presencia de invasión vascular o perineural.

La diferenciación tumoral se dividió según la *International Classification of Diseases for Oncology (ICD-0/2000)*, mismo método que utilizaron Vieira et al.¹¹ en su estudio (**Figura 7**):

- Carcinoma oral de células escamosas **bien diferenciado**
- Carcinoma oral de células escamosas **moderadamente diferenciado**
- Carcinoma oral de células escamosas **indiferenciado**

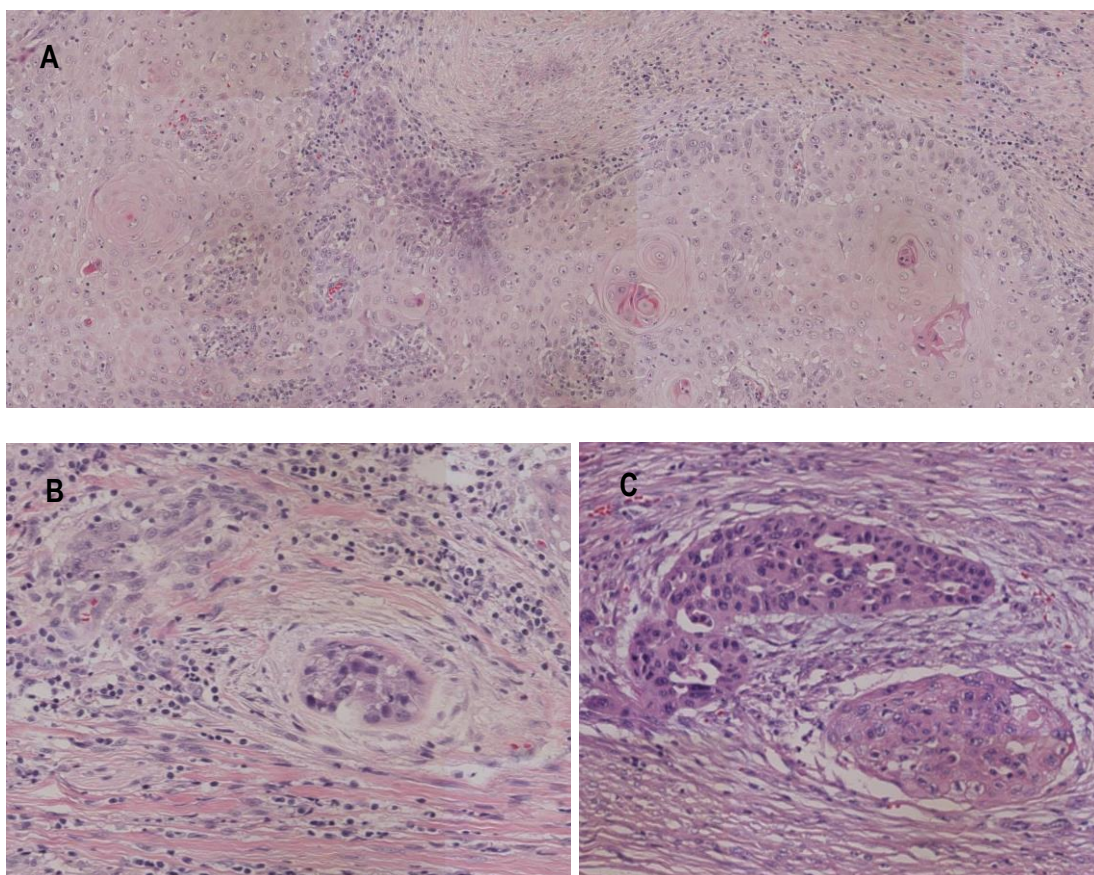


Figura 7. Diferenciación tumoral. Imagen A: COCE bien diferenciado. Imagen B: COCE moderadamente diferenciado. Imagen C: COCE indiferenciado. Fotos de autor.

El infiltrado inflamatorio peritumoral se clasificó semicuantitativamente, siguiendo el mismo patrón que Affonso et al.¹³ (**Figura 8**):

- **Grado 0:** cuando no o escasamente se identificaron células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas, macrófagos) en la interfase entre el tumor invasivo y el estroma
- **Grado 1:** cuando menos del 50% de la interfase entre el tumor invasivo y el estroma estaba infiltrada por células inflamatorias
- **Grado 2:** cuando el infiltrado inflamatorio estaba presente en más del 50% pero menos del 75% de la interfase entre el tumor invasivo y el estroma
- **Grado 3:** cuando la respuesta inflamatoria estaba presente en más del 75% de la interfase entre el tumor invasivo y el estroma

2.3. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO

| | |
|------------------|--|
| anti-CD8 | Detección de linfocitos T citotóxicos (Tc) |
| anti-CD4 | Detección de linfocitos T helpers (Th) |
| anti-Ki67 | Detección de proliferación celular. El Ki67 es una proteína expresada en las fases activas del ciclo celular (fase tardía de G1, S, G2 y mitosis) y su detección sirve como marcador de proliferación celular. |

Tabla 6. Marcadores inmunohistoquímicos y su detección.

El análisis inmunohistoquímico de los linfocitos T CD8+ y CD4+ y del marcador de proliferación celular Ki67 (**Tabla 6**) se realizó mediante anticuerpos monoclonales primarios de conejo anti-CD8 (SP57), anti-CD4 (SO35) y anti-Ki67 (30-9) respectivamente. Se utilizó un inmunotintor automático Ventana Benchmark ULTRA y la detección de dicha tinción se realizó con el ultraView Universal DAB Detection Kit. Todos los productos mencionados pertenecen a la marca Ventana Medical Systems, Inc.

Las células positivas en la inmunohistoquímica fueron contadas manualmente en 10 campos de gran aumento en zonas representativas del tumor. Se realizó el **contaje de linfocitos T CD8+ y CD4+ tanto en nidos tumorales como en el estroma** de la interfase entre el tumor y el tejido sano.

En cuanto al **Ki67**, se realizó una **estimación semicuantitativa** del área más representativa (**Figura 9**).

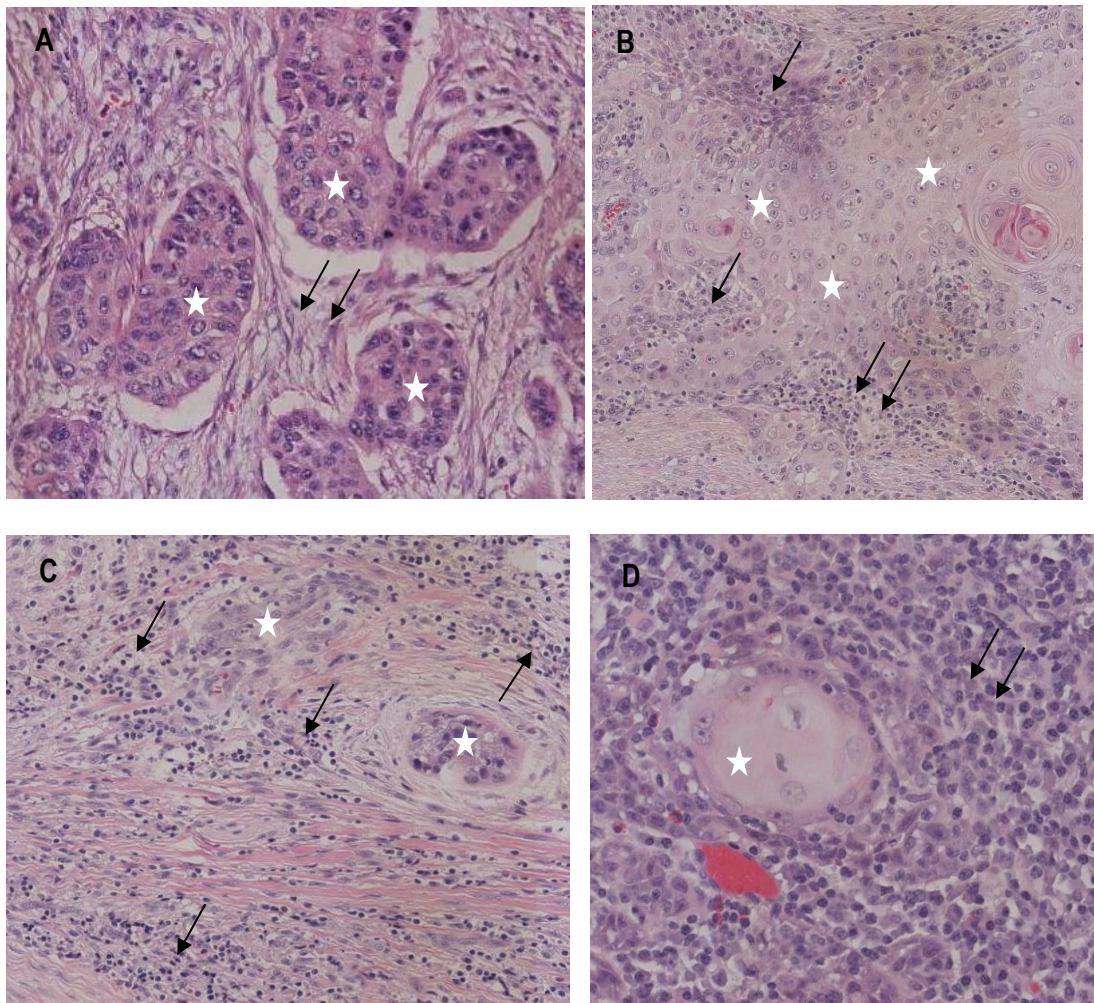


Figura 8. Infiltrado inflamatorio peritumoral. Las zonas de tumor están marcadas con estrellas blancas y las flechas negras señalan la inflamación peritumoral. Imagen A: la inflamación está prácticamente ausente (grado 0). Imagen B: se puede apreciar que la inflamación es escasa (grado 1). Imagen C: se muestra la abundante inflamación peritumoral (grado 2). Imagen D: el tumor está rodeado de células inflamatorias. Fotos de autor.

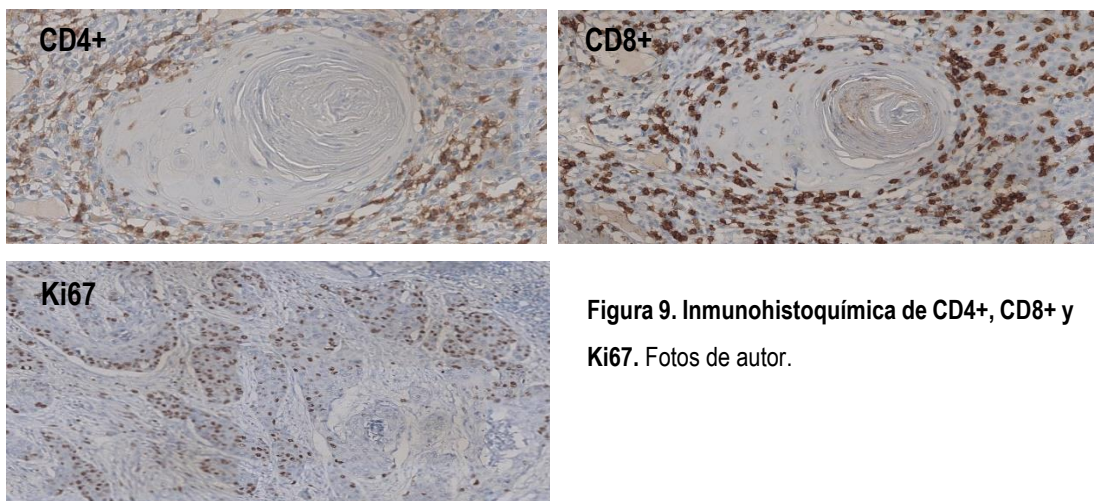


Figura 9. Inmunohistoquímica de CD4+, CD8+ y Ki67. Fotos de autor.

2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico SPSS versión 22 de la marca IBM Corporation. Todos los test realizados fueron no paramétricos debido al tamaño del estudio. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos si $p < 0.05$.

Para analizar la asociación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman; para analizar la asociación entre variables ordinales se utilizó el Tau-c de Kendall; con la U de Mann Whitney se analizaron las variables dicotómicas con las cuantitativas u ordinales y con la prueba de Kruskal-Wallis se analizaron las variables policotómicas con las cuantitativas u ordinales.

2.5. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se llevó a cabo respetando las normas recogidas en la Declaración de Helsinki y con la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) del Área Sanitaria de Guipúzcoa. Se adjunta copia del permiso en el **Anexo**.

| RECUERDO DE SIGLAS UTILIZADAS Y DE CARACTERÍSTICAS ANALIZADAS | |
|---|---|
| COCE | Carcinoma oral de células escamosas |
| TILs | Linfocitos infiltrantes del tumor. Pueden ser tanto linfocitos T como linfocitos B. En nuestro estudio, los TILs analizados son: <ul style="list-style-type: none"> - Linfocitos T CD8+ en nidos tumorales - Linfocitos T CD8+ en el estroma de la interfase - Linfocitos T CD4+ en nidos tumorales - Linfocitos T CD4+ en el estroma de la interfase - Ratio CD8+ en nidos / CD8+ en estroma (ratio CD8+) - Ratio CD4+ en nidos / CD4+ en estroma (ratio CD4+) |
| Diferenciación | Diferenciación tumoral. <ul style="list-style-type: none"> - COCE bien diferenciado - COCE moderadamente diferenciado - COCE indiferenciado |
| Grado de inflamación | Grado del infiltrado inflamatorio peritumoral. <ul style="list-style-type: none"> - Grado 0 - Grado 1 - Grado 2 - Grado 3 |
| Proliferación celular | Índice de proliferación celular, expresado por el porcentaje de Ki67 . |

3. RESULTADOS

3.1. ANÁLISIS DE LOS TILs

Los TILs infiltraron tanto los nidos tumorales como el estroma. Se encontraron más TILs en el estroma que en los nidos tumorales (con una media de 56 ± 26 CD8⁺ y 57 ± 17 CD4⁺ en estroma *versus* 20 ± 19 CD8⁺ y 20 ± 13 CD4⁺ en nidos) (Tabla 7).

| | Media | D. S. |
|--------------|-------|-------|
| CD8+ nidos | 20 | ± 19 |
| CD8+ estroma | 56 | ± 26 |
| CD4+ nidos | 20 | ± 13 |
| CD4+ estroma | 57 | ± 17 |

Tabla 7. Media de los TILs estudiados. Se adjunta la media y la desviación estándar.

Aunque se apreció que la **media** de la infiltración de CD8+ en nidos, CD8+ en estroma y CD4+ en estroma era **mayor** cuando el **pronóstico fue favorable** (Tabla 8), ninguno de los datos fue estadísticamente significativo (adjuntado *a posteriori*).

| | Pronóstico | Media | D. S. |
|--------------|--------------|-------|-------|
| CD8+ nidos | Favorable | 26 | ± 22 |
| | Desfavorable | 13 | ± 15 |
| CD8+ estroma | Favorable | 67 | ± 30 |
| | Desfavorable | 42 | ± 12 |
| CD4+ nidos | Favorable | 20 | ± 12 |
| | Desfavorable | 20 | ± 16 |
| CD4+ estroma | Favorable | 61 | ± 22 |
| | Desfavorable | 51 | ± 7 |

Tabla 8. Media de los TILs estudiados, según el pronóstico. Se adjunta la media y la desviación estándar. Se puede apreciar que cuando el pronóstico fue favorable, la media de los linfocitos T CD8+ en nidos y en estroma y CD4+ en estroma fue mayor que cuando el pronóstico fue desfavorable; en cambio, no se aprecia ninguna diferencia en la media de los CD4+ en nidos. Se adjunta la media y la desviación estándar.

Después, se analizó la correlación de los TILs entre sí. No se encontró correlación alguna entre los linfocitos T CD8+ en estroma y en nidos (p 0.079), ni entre los linfocitos T CD4+ en estroma y en nidos (p 0.831), ni entre los linfocitos T CD8+ y CD4+ en nidos (p 0.354). El ratio CD8+/CD4+ tampoco fue significativo (p 0.154). **La única relación estadísticamente significativa encontrada fue entre los linfocitos T CD8+ y CD4+ en el estroma, lo que significa que cuanto mayor es la**

infiltración por linfocitos T CD8+ en el estroma, también es mayor la infiltración por linfocitos T CD4+ en el estroma ($p < 0.007$) (Figura 10, Tabla 9).

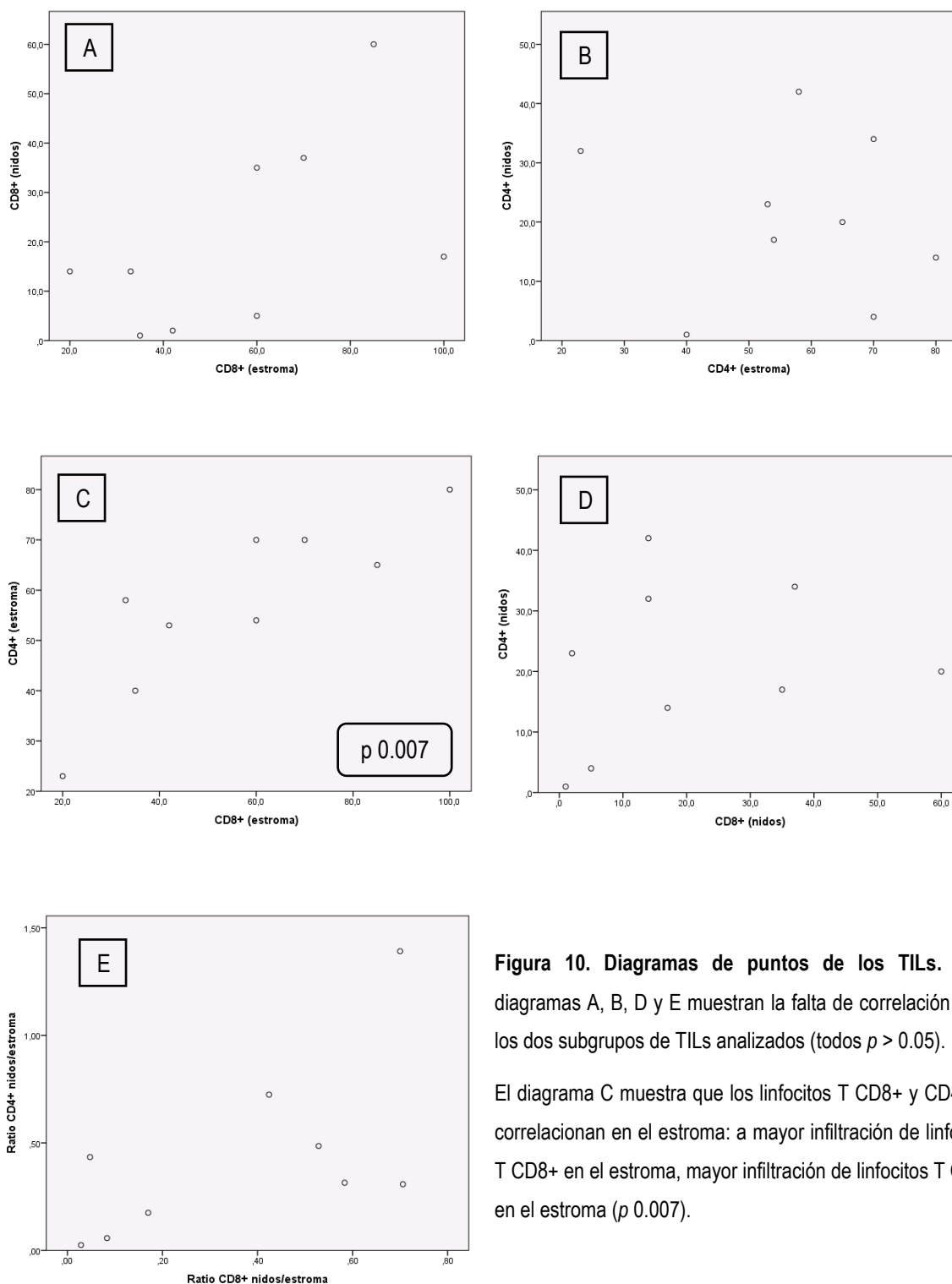


Figura 10. Diagramas de puntos de los TILs. Los diagramas A, B, D y E muestran la falta de correlación entre los dos subgrupos de TILs analizados (todos $p > 0.05$).

El diagrama C muestra que los linfocitos T CD8+ y CD4+ se correlacionan en el estroma: a mayor infiltración de linfocitos T CD8+ en el estroma, mayor infiltración de linfocitos T CD4+ en el estroma ($p < 0.007$).

| | | <i>p</i> |
|--------------|--------------|--------------|
| CD8+ estroma | CD8+ nidos | 0.079 |
| CD4+ estroma | CD4+ nidos | 0.831 |
| CD8+ estroma | CD4+ estroma | 0.007 |
| CD8+ nidos | CD4+ nidos | 0.354 |
| Ratio CD8+ | Ratio CD4+ | 0.154 |

Tabla 9. Correlación de los TILs entre sí. Cuando aumenta la infiltración de los linfocitos T CD8+ en el estroma, también aumenta la infiltración de linfocitos T CD4+ en el estroma.

Finalmente, se observó que ningún subgrupo de TILs tuvo impacto alguno en el pronóstico, el estadio, la invasión perineural, la diferenciación, el grado de inflamación o la proliferación celular ($p > 0.05$ en todos) (**Tabla 10**).

| | | <i>p</i> | | | <i>p</i> | | | <i>p</i> |
|--------------|------------|----------|---------|-------------------------|----------|--|-------|----------|
| CD8+ nidos | Pronóstico | 0.176 | Estadio | Infiltración perineural | 0.268 | | 0.557 | |
| CD8+ estroma | | 0.176 | | | 0.219 | | 0.659 | |
| CD4+ nidos | | 1.00 | | | 0.142 | | 0.143 | |
| CD4+ estroma | | 0.140 | | | 0.176 | | 0.240 | |
| Ratio CD8+ | | 0.221 | | | 0.806 | | 0.558 | |
| Ratio CD4+ | | 1.00 | | | 0.462 | | 0.242 | |

| | | <i>p</i> | | | <i>p</i> | | | <i>p</i> |
|--------------|----------------|----------|---------------------------|------|----------|--|-------|----------|
| CD8+ nidos | Diferenciación | 0.441 | Infiltración inflamatoria | Ki67 | 0.3 | | 0.491 | |
| CD8+ estroma | | 0.558 | | | 0.184 | | 0.361 | |
| CD4+ nidos | | 0.444 | | | 0.615 | | 0.129 | |
| CD4+ estroma | | 0.619 | | | 0.102 | | 0.589 | |
| Ratio CD8+ | | 0.866 | | | 0.675 | | 0.264 | |
| Ratio CD4+ | | 0.733 | | | 0.931 | | 0.069 | |

Tabla 10. Comparación de subgrupos de TILs con el pronóstico, el estadio tumoral, la infiltración perineural, la diferenciación tumoral, el grado de infiltrado inflamatorio peritumoral y el índice de proliferación celular. Ningún subgrupo de TIL se correlacionó con las variables estudiadas.

3.2. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS Y CLÍNICAS

Después de analizar los TILs, se analizaron las características histológicas entre sí.

No se reconoció asociación entre la diferenciación tumoral y el grado de inflamación (p 0.738) ni entre el grado de inflamación y la proliferación celular (p 0.625). En

cambio, se observó que **cuanto más indiferenciado era el COCE, mayor era el índice de proliferación celular** (p 0.015) (**Figura 11**).

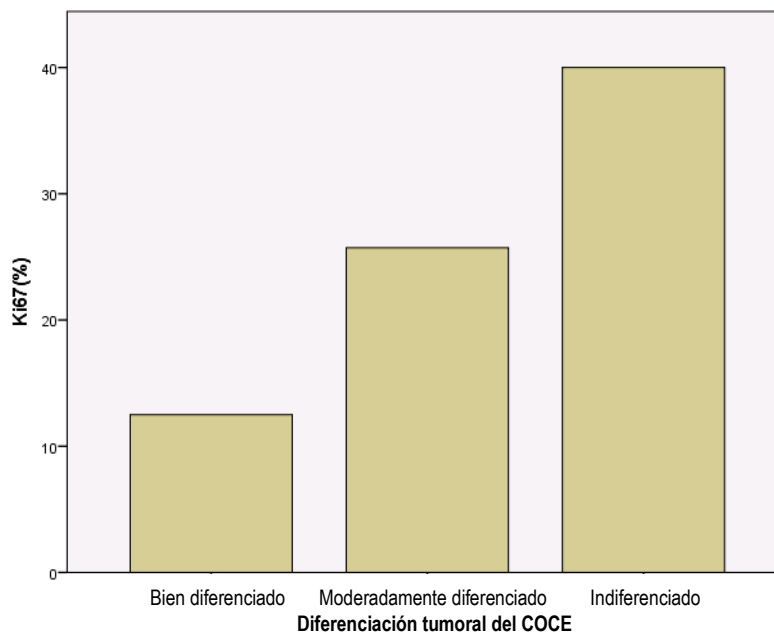


Figura 11. Correlación entre la diferenciación tumoral y el índice de proliferación celular. Cuando la diferenciación tumoral es menor (COCE indiferenciado), el índice de proliferación celular (medido por la expresión del Ki67) es mayor; cuando la diferenciación tumoral es mayor (COCE bien diferenciado), el índice de proliferación celular es menor.

Por otra parte, ni la diferenciación tumoral, ni el grado de infiltrado inflamatorio peritumoral, ni el índice de proliferación celular mostraron relación con el pronóstico (p 0.606, p 0.196 y p 0.595, respectivamente). Dicho de otra manera, los carcinomas bien diferenciados no tuvieron un pronóstico más favorable (o en su defecto, los indiferenciados un peor pronóstico); cuando el grado de infiltrado inflamatorio peritumoral fue mayor, el pronóstico no fue mejor; y por último, los tumores con bajo un índice de proliferación celular no tuvieron un pronóstico más favorable.

Finalmente, se analizaron las características clínicas (tabaco, alcohol, edad y sexo) y la invasión perineural con las características histológicas (diferenciación, grado de inflamación, Ki67), y no se estableció ninguna relación (**Tabla 11**).

| | | p | | | p |
|---------------------|----------------|-------|---------|----------------|--------------|
| Tabaco | Diferenciación | 0.085 | Alcohol | Diferenciación | 0.872 |
| | Inflamación | 0.472 | | Inflamación | 0.106 |
| | Ki67 | 0.478 | | Ki67 | 0.690 |
| Edad | Diferenciación | 0.830 | Sexo | Diferenciación | 0.053 |
| | Inflamación | 0.857 | | Inflamación | 0.151 |
| | Ki67 | 0.156 | | Ki67 | 0.214 |
| Invasión perineural | Diferenciación | 0.747 | Estadío | Diferenciación | 0.519 |
| | Inflamación | 0.281 | | Inflamación | 0.013 |
| | Ki67 | 0.790 | | Ki67 | 0.915 |

Tabla 11. Análisis de relaciones.

La única relación demostrada fue entre **el estadío tumoral** (temprano, I-II vs. avanzado III-IV) y **el grado de infiltración inflamatoria peritumoral**, de tal modo que cuando el diagnóstico se hizo en estadíos avanzados, el grado de inflamación fue menor que cuando se hizo en estadíos tempranos (p 0.013) (**Figura 12**).

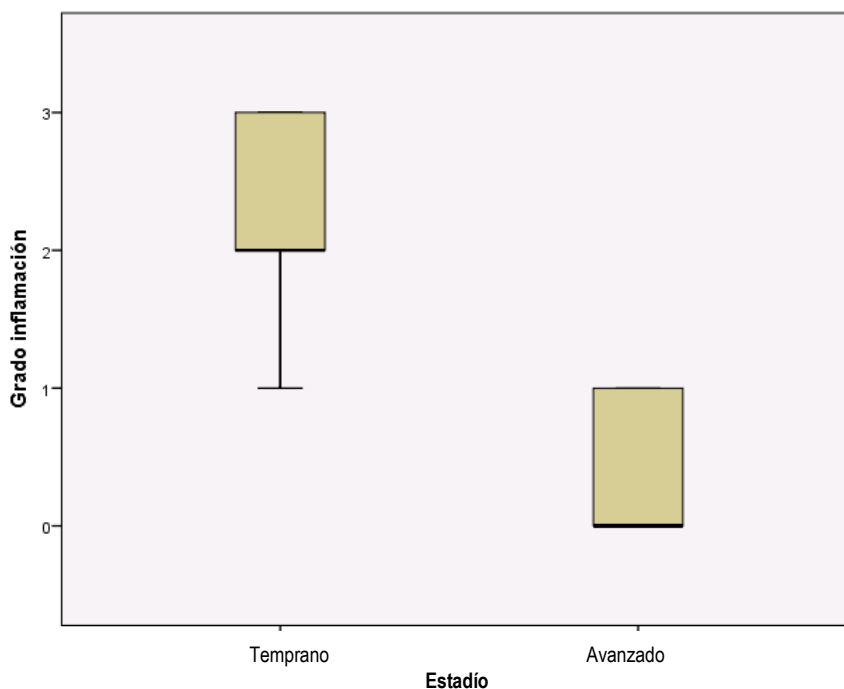


Figura 12. Correlación entre el estadío y el grado de inflamación. En estadíos tempranos (estadíos I y II) el grado de inflamación es alto, mientras que en estadíos avanzados (III y IV) el grado de inflamación es bajo.

3.3. TENDENCIAS OBSERVADAS

Dejando a un lado el análisis estadístico, se describen a continuación las tendencias observadas.

La media de edad al diagnóstico fue de **70 años**, y solo un paciente fue diagnosticado antes de la sexta década de vida (con 59 años).

De los diez pacientes analizados, nueve fueron **varones** y solamente hubo una mujer. El hecho de ser mujer no juega un papel protector en el desarrollo del COCE, pero refleja la diferencia de las costumbres entre sexos, con sus consiguientes consecuencias.

Se sabe que el tabaco y el alcohol actúan de manera sinérgica, y en el estudio se pudo observar que tanto el paciente que no era fumador (sí bebedor) como el paciente que no era ni fumador ni bebedor tuvieron diagnósticos en estadíos tempranos; además, a día de hoy siguen vivos.

Los carcinomas localizados en el trígono retromolar (n=1) y en el suelo de la boca (n=1) de este estudio tuvieron un diagnóstico en estadíos avanzados.

El estadío condiciona la necesidad de adyuvancia, ya que cuanto más diseminado está el tumor, mayor es el estadío asignado, por lo que todos los carcinomas en estadíos III y IV (estadíos avanzados, n=5) necesitaron radioterapia y/o quimioterapia postoperatoria.

En cuanto a factores de mal pronóstico, dos casos presentaron invasión perineural y no se encontraron casos de invasión vascular. Los dos pacientes con COCE con **invasión perineural fallecieron** a los 13 y 14 meses del diagnóstico.

De los pacientes con pronóstico desfavorable (n=5), **tres de ellos tuvieron recidiva y dos fallecieron por el COCE** (los mencionados anteriormente con invasión perineural).

4. DISCUSIÓN

El carcinoma de células escamosas es el tipo más habitual de cáncer de la cavidad oral, suponiendo más del 90% de todas las neoplasias malignas orales. Su pronóstico sigue siendo pobre, con una tasa de supervivencia a los cinco años del 51-67%.⁷

Para intentar mejorar la previsión del pronóstico, la 8ª edición de la estadificación TNM de la *American Joint Committee on Cancer Staging-Union Internationale Contre le Cancer* (AJCC-UICC, 2017) ha incorporado las características patológicas como la infiltración máxima (IM) en el apartado del tumor primario (T) y la extensión extranodal (EEN) en el apartado de la afectación ganglionar (N).

Actualmente, la previsión del pronóstico se basa en la clasificación TNM (con su consiguiente estadio), en la presencia de invasión perineural y en los márgenes quirúrgicos.

Por poner un ejemplo, un COCE en estadio temprano, sin afectación ganglionar, con márgenes quirúrgicos libres y sin invasión perineural tendrá un mejor pronóstico que un COCE localmente avanzado, con afectación ganglionar, márgenes quirúrgicos afectados o cercanos al tumor e invasión perineural.

En la búsqueda de nuevos parámetros para intentar perfilar el pronóstico, algunas investigaciones se han basado en la hipótesis de que el sistema inmunológico es capaz de reconocer y atacar a las células malignas. Es por eso que se intenta establecer la asociación entre niveles altos de TILs con un mejor pronóstico en el COCE.

Vieira et al.¹² concluyen que cuanto menor es la diferenciación del COCE, mayor es la infiltración inflamatoria peritumoral y el índice de proliferación celular. En nuestro estudio **también se ha observado que los carcinomas con menor diferenciación presentan un índice de proliferación celular mayor**. Los COCE bien diferenciados muestran menor expresión de Ki67, seguidos de los COCE moderadamente diferenciados y, por último, los COCE indiferenciados. En cambio, no hemos observado relación entre la diferenciación y la inflamación peritumoral. En el estudio de Vieira et al.¹² **no pudieron correlacionar la inflamación peritumoral con el pronóstico, al igual que nosotros**.

Affonso et al.¹⁴ concluyen que el grado de inflamación peritumoral, clasificado como “inflamación menor” los grados 0 y 1 e “inflamación mayor” los grados 2 y 3, no resulta ser significativo en cuanto a la supervivencia y la recurrencia. En nuestro estudio, **tampoco se asocia el grado inflamación con el pronóstico.**

Shimizu et al.¹⁶ concluyen que la alta infiltración de linfocitos T CD8+ en el estroma es un indicador favorable de supervivencia global, supervivencia específica de enfermedad y tiempo libre de enfermedad, pero nuestro estudio no ha demostrado esta asociación. Es más, **no podemos establecer relación entre ningún subgrupo de linfocitos T con el pronóstico.**

Watanabe et al.¹⁵ estudian en profundidad el perfil del infiltrado inflamatorio peritumoral, analizando las características de los TILs y la relación entre ellos mismos, además de asociarlas al pronóstico. Aunque nosotros no hemos podido analizar todos los aspectos de su estudio, mencionamos a continuación los que sí hemos podido analizar. Tanto Watanabe et al.¹⁵ como nosotros hemos observado que los **TILs se infiltran tanto en nidos tumorales como en el estroma de la interfase**, pero ellos apenas observan linfocitos T CD4+ en nidos mientras que nosotros hemos observado la **presencia de linfocitos T CD4+ en nidos y en el estroma**. Además, observan que los niveles inferiores de CD8+ en nidos y de CD8+ en estroma se asocian con una menor supervivencia, pero nuestro estudio lo desmiente, ya que **ningún subgrupo de TIL se ha relacionado con el pronóstico**. Según Affonso et al.,¹⁴ la mayor defensa anti-tumoral la realizan los linfocitos T citotóxicos o CD8+, pero su aumento **no asegura un pronóstico más favorable** como recién mencionado.

Aunque en nuestro estudio se hayan relacionado la diferenciación tumoral con el índice de proliferación celular y el grado de infiltrado inflamatorio peritumoral con el estadio (además de asociar el aumento de linfocitos T CD8+ con los CD4+ en el estroma), **no** se han encontrado características histológicas ni inmunohistoquímicas que permitan predecir el pronóstico.

Este estudio no puede confirmar ni desmentir con fuerza lo descrito en la literatura, debido al pequeño tamaño de la muestra estudiada. Los resultados obtenidos dependen de que entre o salga un solo individuo de la serie, por lo que ampliar el tamaño de la muestra para futuras investigaciones resulta razonable.

Además, es conveniente destacar que el carcinoma oral de células escamosas no es exclusivamente un conjunto de células tumorales, sino un microambiente donde interaccionan muchos tipos de células como fibroblastos, macrófagos, células endoteliales, linfocitos infiltrantes del tumor, células del linaje mieloide, etc. Por ello, incrementar el número de marcadores inmunohistoquímicos en futuras investigaciones permitiría analizar mejor dicho microambiente.

El perfil anti-tumoral y el perfil inmunosupresor del microambiente tumoral se encuentran en constante interacción mediante moléculas de señalización, y la identificación de dichas moléculas podría servir de objetivo para mejorar la oncoterapia.

Para finalizar, subrayamos que conviene cuantificar el perfil del infiltrado inflamatorio peritumoral según se ha analizado en anteriores estudios, para así poder comparar los resultados. En nuestro caso, hemos tomado como referencia el de estudio de Affonso et al.,¹⁴ aunque existen otros estudios alternativos.

5. CONCLUSIÓN

En estadíos avanzados la infiltración inflamatoria peritumoral es menor que en los estadíos tempranos, pero el grado de inflamación no se puede considerar un factor pronóstico. Es más, ningún subgrupo de TILs es considerado un factor pronóstico.

Además, la diferenciación tumoral está relacionada con el índice de proliferación celular, ya que cuanto menor es la diferenciación, mayor es el índice de proliferación.

6. CONFLICTOS DE INTERESES

El autor y su tutor niegan tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barnes L. Surgical Pathology of the Head and Neck. Vol 1. 3rd ed. New York: Informa; 2009. p. 285-305.
2. Johnson DE, Burtness B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. Nat Rev Dis Primers. 2020 Nov 26;6(1):92.
3. El cáncer en cifras – SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica ©2021. Disponible en: <https://seom.org/prensa/el-cancer-en-cifras>
4. Morse DE, Psoter WJ, Cleveland D, Cohen D, Mohit-Tabatabai M, Kosis DL, et al. Smoking and drinking in relation to oral cancer and oral epithelial dysplasia. Cancer Causes Control. 2007;18(9):919–29.
5. Jiménez Gómez R, Álvarez Martínez E. Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas de Camagüey CM, Archivo médico de Camagüey. [Internet]. Vol. 17, Revista Archivo Médico de Camagüey. 1996, Editorial Ciencias Médicas Camagüey; 2013. p. 405-415. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552013000300015&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Zhang L, Rosin MP. Loss of heterozygosity: A potential tool in management of oral premalignant lesions? J Oral Pathol Med. 2001;30(9):513–20.
7. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2017, National Cancer Institute. Bethesda, MD, based on November 2019 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2020. Disponible en: <https://www.cancer.org/cancer/oral-cavity-and-oropharyngeal-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>
8. Poeta ML, Manola J, Goldwasser MA, Forastiere A, Benoit N, Califano JA, et al. TP53 Mutations and Survival in Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. N Engl J Med. 2007;357(25):2552–61.
9. Iamaroon A, Khemaleelakul U, Pongsiriwet S, Pintong J. Co-expression of p53 and Ki67 and lack of EBV expression in oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2004;33(1):30–6.
10. Stasikowska-Kanicka O, Wągrowaska-Danilewicz M, Danilewicz M. CD8+ and CD163+ infiltrating cells and PD-L1 immunoexpression in oral leukoplakia and oral carcinoma. Apmis. 2018;126(9):732–8.

11. Watanabe Y, Katou F, Ohtani H, Nakayama T, Yoshie O, Hashimoto K. Tumor-infiltrating lymphocytes, particularly the balance between CD8+ T cells and CCR4+ regulatory T cells, affect the survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2010;109(5):744–52.
12. Vieira FLD, Vieira BJ, Guimaraes MAM, Aarestrup FM. Cellular profile of the peritumoral inflammatory infiltrate in squamous cells carcinoma of oral mucosa: Correlation with the expression of Ki67 and histologic grading. *BMC Oral Health*. 2008;8(1).
13. Zhou Z, Mu D, Zhang D, Zhang X, Ding X, Yang J, et al. Pd-11 in combination with cd8+til and hif-1 α are promising prognosis predictors of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Manag Res*. 2020;12:13233–9.
14. Affonso VR, Montoro JR de MC, de Freitas LCC, Saggiore FP, de Souza L, Mamede RCM. Peritumoral infiltrate in the prognosis of epidermoid carcinoma of the oral cavity. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81(4):416–21.
15. Shimizu S, Hiratsuka H, Koike K, Tsuchihashi K, Sonoda T, Ogi K, et al. Tumor-infiltrating CD8+ T-cell density is an independent prognostic marker for oral squamous cell carcinoma. *Cancer Med*. 2019;8(1):80–93.

ANEXO (HISTOLOGÍA)

El subtipo histológico del COCE es **queratinizante**. Su distintivo es la formación de “**perlas de queratina**” (imágenes), que son nidos de células neoplásicas con queratinización central. Al microscopio, se observan sábanas, trabéculas y nidos de células escamosas, las cuales son abundantes en citoplasma eosinofílico, bordes celulares bien definidos y núcleos hipercromáticos. El grado de diferenciación depende del parecido que mantengan las células tumorales con respecto al epitelio sano.

El grado de diferenciación no permite predecir el comportamiento biológico, por lo que hoy en día se analiza el **frente invasivo**, donde residen las células más agresivas. Se analizan las siguientes cinco características del frente invasivo y se les asigna una puntuación del 1 al 4, sumando el resultado para obtener una puntuación sobre la malignidad de tumor: **grado de queratinización, pleomorfismo nuclear, número de mitosis por campo de gran aumento, patrón de invasión y respuesta del huésped**. La puntuación más baja, y por lo tanto mejor pronóstico, la obtienen los tumores con mucha queratinización (>50% de las células), poco pleomorfismo (>75% de células maduras), 0-1 mitosis por campo de gran aumento, frente invasivo bien definido y “de empuje” (“*pushing borders*”) y marcada respuesta por parte del huésped. Por otra parte, los tumores con puntuación más alta, y por lo tanto con peor pronóstico, son los que muestran poca o ninguna queratinización, pleomorfismo extremo, >5 mitosis por campo de gran aumento, marcada disociación celular y sin respuesta por parte del huésped.

Este sistema de gradación tiene un gran valor pronóstico en el COCE. Además, se correlaciona muy bien con el Ki67. La invasión perineural y los microémbolos tumorales intralinfáticos también han demostrado tener peso pronóstico.

