

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Validación de la citoqueratina 19 como marcador diagnóstico  
en estadios iniciales de carcinoma epidermoide de cavidad  
oral**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Irene Ruiz Martín**

DIRIGIDA POR

**Gregorio Sánchez Aniceto**  
**Claudio Ballestín Carcavilla**

Madrid

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

Validación de la citoqueratina 19 como marcador diagnóstico en estadios iniciales de carcinoma epidermoide de cavidad oral

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Irene Ruiz Martín

DIRECTORES

Gregorio Sánchez Aniceto  
Claudio Ballestín Carcavilla



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Validación de la citoqueratina 19 como marcador  
diagnóstico en estadios iniciales de carcinoma  
epidermoide de cavidad oral**

**ESTUDIO REALIZADO POR**

**Irene Ruiz Martín**

**DIRECTORES**

Gregorio Sánchez Aniceto  
Claudio Ballestín Carcavilla

**Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias Médico-  
Quirúrgicas**

©Irene Ruiz Martín, 2024





A Marina, Chiara y Giacomo



# **AGRADECIMIENTOS**

El proyecto de una tesis doctoral es un largo camino de trabajo, superación y constancia. Después de vivirlo admiro aún más a todos aquellos que han llegado a conseguirlo.

Quiero expresar por ello mi gratitud a todas las personas que durante estos años me han ayudado, apoyado y alentado a conseguir finalizar este proyecto, que a día de hoy supone uno de mis mayores logros a nivel no solo profesional sino también personal. Porque sin duda alguna, para todos los que me conozcan, entenderán que este trabajo ha llegado a ser muy personal y querido por mi.

A mi director de tesis el Dr. Gregorio Sánchez Aniceto, jefe y mentor, porque gracias a él nació la idea de este proyecto. Sus ganas de innovar y crecer a nivel quirúrgico y científico han sido siempre un ejemplo. Gracias por su confianza y apoyo durante todos estos años.

A mi codirector de tesis el Dr. Claudio Ballestín Carcavilla, por su amabilidad, cercanía y conocimiento durante sus años en activo. Por mantener su ayuda a pesar de su jubilación. Siempre aprendí muchísimo de mis visitas al departamento de Anatomía Patológica.

A mi tutor de tesis el Dr. José Luis Rodríguez Peralto, por su cercanía y apoyo para el desarrollo de mi tesis doctoral.

A la Dra. Lorena Pingarrón Martín, jefa, compañera y sobretodo amiga, que ha sido mi gran directora no oficial en la sombra. Gracias a su conocimiento científico y a su apoyo diario he conseguido finalizar este desafío.

A la Dra. Amaya Azcoaga, que creó luz en un momento de oscuridad de este proceso y me ayudo a ver solución a muchos de los problemas que me estaba encontrando en este camino. Gracias Amaya por tu ayuda desinteresada.

A el Dr. Justino Jiménez, que tras la jubilación del Dr. Claudio Ballestín, asumió la carga de trabajo que suponía este proyecto a nivel del estudio anatomopatológico y me ha ayudado no solo a llevarlo a cabo sino a mejorarlo.

A la Dra. María José Tabuenca, jefa del servicio de Medicina Nuclear, que ha sido parte fundamental de este estudio. Le agradezco especialmente su disponibilidad, amabilidad y cariño.

A la Dra. Ana Belén Guerra, quien me enseñó a operar la cirugía más bonita que podemos hacer los cirujanos maxilofaciales, un vaciamiento cervical. Le agradeceré siempre haber creído en mi, ser mi mentora y haber formado un gran equipo juntas.

A el Dr. Borja Fernández, estadístico de este estudio, mi agradecimiento por su aportación fundamental a esta tesis y por su paciencia demostrada durante estos meses.

A todos mis compañeros del Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital 12 de Octubre, por ser parte activa de este estudio y por ayudarme durante todos estos años. No puedo prometer que deje de ser la Dra. Centinela a pesar de haber finalizado la tesis doctoral.

Al Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario Rey Juan Carlos, por ser los mejores compañeros que he podido tener para ser mejor cirujana y persona.

A mi madre, por haberme transmitido desde pequeña la capacidad de trabajo, el entusiasmo por crecer y ser luchadora. Mi ejemplo de mujer, madre y gran profesional, siempre lo he tenido en ti mamá.

A mi padre, por ser la persona que me hizo amar las humanidades y siempre querer aprender más. Gracias papá por la escucha, amor y apoyo incondicional.

A mi hermana Lara, porque sin su ayuda de estilo esta tesis no estaría tan ordenada ni bonita. Gracias por sentir mis metas y mis éxitos como tuyos.

A mis hijas Marina y Chiara, sin duda que su alegría ha sido el motor de esta tesis doctoral y de mi vida estos últimos 3 años. El valor del tiempo con ellas ha hecho que sea más eficiente en el trabajo de esta tesis doctoral. Sin duda vivir el éxito de finalizar la tesis doctoral con ellas vale infinito.

A mi marido Giacomo, que me acompaña desde 4º de carrera y ha sido mi compañero en todos estos años de trabajo intenso para llegar a ser quien soy hoy como cirujana y

como por supuesto persona. Gracias por hacerme crecer cada día. Gracias por tu abrazo a la vuelta de cada guardia o cada quirófano. Este éxito es compartido.



# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>20</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>26</b>
<b>GLOSARIO DE ABREVIATURAS</b>	<b>31</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>35</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>40</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>43</b>
<b>1.1. Cáncer</b>	<b>44</b>
1.1.1 Introducción	44
1.1.2 Epidemiología del cáncer en España	47
<b>1.2. Cáncer de cabeza y cuello</b>	<b>50</b>
1.2.1. Introducción	50
1.2.2. Epidemiología del cáncer de cabeza y cuello en España	52
<b>1.3. Cáncer de cavidad oral</b>	<b>55</b>
1.3.1. Anatomía de la cavidad oral	55
1.3.2. Epidemiología	58
1.3.2.1. Introducción	58
1.3.2.2. Incidencia, prevalencia y mortalidad de cáncer de cavidad oral en España	60
1.3.2.3. Cáncer de cavidad oral en la Comunidad de Madrid (CAM)	63
1.3.3. Etiología y factores de riesgo	65
1.3.4. Patogénesis, histología y patrones de propagación	69
1.3.4.1. Histopatología del tumor	69
1.3.4.2. Bases moleculares del cáncer oral	72
1.3.5. Clínica	75
1.3.6. Evaluación diagnóstica y estadificación clínica (clasificación TNM)	76
1.3.6.1. Diagnóstico	76
1.3.6.2. Estadificación	78
1.3.7. Factores pronósticos y predictivos	84
1.3.8. Tratamiento	85
<b>1.4. Manejo cervical</b>	<b>89</b>
1.4.1. Anatomía cervical y tipos de vaciamiento cervical	89
1.4.2. Estadiaje cervical	94

1.4.2.1. Patrones de diseminación linfática y a distancia	94
1.4.3. Definición de ganglio centinela	96
1.4.4. Historia del ganglio centinela	97
1.4.5. Biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC)	99
1.4.6. Estudio histológico de los ganglios cervicales	103
1.4.7 Las citoqueratinas	107
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>112</b>
2.1. Hipótesis	113
2.2. Objetivos	113
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>115</b>
3.1. Aspectos éticos	116
3.1.2. Normas generales y particulares para los investigadores	116
3.1.2. Consentimiento informado	116
3.1.3. Dispositivos de seguridad y confidencialidad	116
3.1.4. Seguro	116
3.1.5. Memoria económica	117
3.2. Diseño del estudio	117
3.3. Periodo de estudio	118
3.4. Población de estudio	118
3.4.1. Criterios de inclusión	118
3.4.2. Criterios de exclusión	119
3.4.3. Tamaño muestral	119
3.5. Recogida de datos y fuentes de información	119
3.6. Variables de valoración del estudio	125
3.7. Análisis estadístico	126
3.7.1. Para describir las características demográficas, clínicas e histopatológicas de los pacientes incluidos en el estudio	126
3.7.2. Para describir la frecuencia de expresión de CK19, estimar la precisión diagnóstica en la biopsia y en el centinela	126
3.7.3. Evaluar la asociación estadística entre los factores de interés determinados a priori con los resultados de	

expresión de la CK19 en tumor	129
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>132</b>
4.1. Describir las características demográficas, clínicas e histopatológicas de los pacientes incluidos en el estudio	133
4.2. Describir la frecuencia de expresión de CK19 y estimar la precisión diagnóstica de la CK19 de la biopsia en los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II)	140
4.3. Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 para la detección de metástasis en el ganglio centinela de los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales (I-II)	145
4.3.1. La precisión de la CK19 frente a la H&E	146
4.3.2. La precisión de la CK19 frente a la IHQ AE1-AE3	147
4.4. Evaluar la asociación estadística entre los factores de intereses determinados a priori con los resultados de expresión de la CK19 en tumor.	149
4.4.1. Estadio tumoral pT pN	149
4.4.2. Localización del tumor	152
4.4.3. Espesor máximo tumoral	154
4.4.4. Grado de diferenciación	155
4.4.5. Recidiva	156
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>158</b>
5.1. Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 de la biopsia en los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II)	162
5.2. Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 para la detección de metástasis en el ganglio centinela de los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales (I-II)	172
5.3. Evaluar la asociación estadística entre los factores de intereses determinados a priori con los resultados de expresión de la CK19 en tumor	178
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>181</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>184</b>

<b>8. ANEXO</b>	<b>209</b>
8.1. Consentimiento informado	210



# RESUMEN



## **Introducción:**

El Carcinoma de Cavidad Oral (CECO) en 2022 se posiciona en el puesto decimosexto a nivel global en cuanto a incidencia y en el decimoquinto en cuanto a mortalidad, por lo que representa un porcentaje importante del cáncer mundial siendo el tumor maligno más frecuente del tracto aerodigestivo superior. <sup>1</sup>

El CECO se caracteriza por una progresión natural de la enfermedad hacia los ganglios linfáticos cervicales (enfermedad regional). La estadificación correcta de la afectación ganglionar cervical supone el factor de mayor valor pronóstico en cuanto a supervivencia. A pesar de un diagnóstico clínico-radiológico de N0, la prevalencia de afectación linfática oculta se estima entre el 20-30% en el CECO implicando un descenso en la esperanza de vida en torno al 53%-82%.

En la actualidad el vaciamiento cervical es considerado la opción terapéutica de elección. Sin embargo, el 70-80 % de los cuellos NO clínico-radiológicos no presentan metástasis cervicales en el estudio histopatológico posterior, pudiendo considerarse la disección cervical en estos casos como un sobretratamiento.

La Biopsia Selectiva del Ganglio Centinela (BSGC) es una técnica con baja morbilidad que trata de confirmar de forma más certera y menos invasiva la existencia de metástasis cervical, basándose en el examen de la primera estación de drenaje linfático del tumor primario.

Tras múltiples estudios de validación este procedimiento fue incluido en las NCCN<sup>98</sup> y en otras guías de práctica clínica extendiéndose su uso clínico bajo las indicaciones establecidas de estadios iniciales. A pesar de ello, siempre ha existido un hándicap debido a la necesidad de aplicación de un método rápido y fiable de diagnóstico intraoperatorio. Actualmente la inmunohistoquímica (IHQ) se presenta como el *gold estándar*, pero precisa de 1-2 días para su procesamiento e imposibilita su uso intraoperatorio. Este método intraoperatorio evitaría una segunda cirugía, con sus costes asociados, retraso de tratamiento, posibilidad de complicaciones y aumento de morbimortalidad del paciente.

Este estudio se diseña con el objetivo de estudiar el único marcador viable hasta la fecha, para ser usado de manera rápida intraoperatoria a través del estudio de amplificación en un solo paso de ácidos nucleicos, la citoqueratina 19 (CK19).

### **Objetivos:**

El objetivo principal de este estudio, es validar la aplicación clínica de la citoqueratina 19 como marcador, para la detección de metástasis cervicales en estadios iniciales del carcinoma epidermoide de cavidad oral.

A través del estudio de validez diagnóstica de la CK19 establecimos los diferentes objetivos:

- Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 de la biopsia en los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II).
- Estimar la precisión diagnóstica de la CK19, para la detección de metástasis en el ganglio centinela de los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II).
- Evaluar la asociación estadística entre los factores de interés determinados a priori (grado de diferenciación tumoral, estadio tumoral, recidiva, localización del tumor, EMT) con los resultados de expresión de la CK19 en tumor.

### **Métodos:**

Se ha realizado un estudio inmunohistoquímico sobre tres muestras de tejido: biopsia inicial del tumor, tumor completo y ganglios centinelas, en los 52 pacientes que presentaba nuestra muestra.

### **Resultados:**

La prevalencia de expresión positiva de la CK19 sobre las biopsias y sobre el tumor es coincidente, del 15.4%, pero no es concordante porque presenta una sensibilidad del 50% y una especificidad del 90,9%. Los resultados presentan un grado de acuerdo del 84.6%, lo que representaría un grado de acuerdo moderado.

Únicamente 8 (15.38%) pacientes de la n total de 52 presentaron una expresión mayor del 30% sobre la biopsia para poder realizar el estudio del centinela y con ello el estudio de la precisión de la CK19.

La sensibilidad y la especificidad del estudio CK19 en el ganglio centinela es del 100% comparado con las pruebas de referencia de la H&E y la IHQ AE1-AE3.

No se ha evidenciado asociación estadísticamente significativa con diferentes variables de interés del tumor.

### **Conclusiones:**

Si analizamos nuestros resultados y los contextualizamos a través de una completa revisión bibliográfica del estado del arte sobre el marcador CK19 y sus aplicaciones al carcinoma epidermoide de cavidad oral, podemos concluir que; la citoqueratina presenta una expresión baja y heterogénea en el carcinoma epidermoide de cavidad oral en estadios iniciales, siendo insuficiente para su aplicación clínica.

Presenta una concordancia moderada entre biopsia y tumor sin la capacidad suficiente para la detección adecuada de los verdaderos positivos o verdaderos negativos.

El estudio de la CK19 sobre el ganglio ofrece un potencial de diagnóstico similar al del diagnóstico histopatológico, pero en aquellos pacientes con una lesión primaria CK19 positiva.

Concluimos que la CK19 no puede establecerse como un marcador de uso rutinario y generalizado en el manejo de los pacientes con CECO de estadios iniciales.

Por lo tanto, los estudios futuros deberían centrarse en otros biomarcadores para su potencial aplicación en el diagnóstico intraoperatorio del ganglio centinela.



# SUMMARY

## **Introduction:**

Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) in 2022 is ranked sixteenth globally in terms of incidence and fifteenth in terms of mortality, which is why it represents a significant percentage of global cancer, being the most common malignant tumor of the upper aerodigestive tract. <sup>1</sup>

OSCC is characterized by a natural progression of the disease towards the cervical lymph nodes (regional disease). Correct staging of cervical lymph node extension is the factor with the greatest prognostic value in terms of survival and occurs in 20-30% of tumors in early stages, implying a significant decrease in life expectancy.

Currently, cervical emptying is considered the therapeutic option of choice. However, 70-80% of clinical-radiological N0 necks do not present cervical metastases in the subsequent histopathological study, and cervical dissection can be considered in these cases as overtreatment.

Selective sentinel lymph Node Biopsy (SLNB) is a technique with low morbidity that attempts to confirm in a more accurate and less invasive way the existence of cervical metastasis, based on the examination of the first station of lymphatic drainage of the primary tumor.

After multiple validation studies, this procedure was included in the NCCN98 and other clinical practice guidelines, extending its clinical use under the established indications of initial stages. Despite this, there has always been a handicap due to the need to apply a rapid and reliable method of intraoperative diagnosis. Currently, immunohistochemistry (IHC) is presented as the *gold standard* but requires 1-2 days to process and makes its intraoperative use impossible. This intraoperative method would avoid a second surgery, with its associated costs, delay in treatment, possibility of complications and increased patient morbidity and mortality.

This study is designed with the objective of studying the only viable marker that is nowadays used, quickly and intraoperatively, through the study of one-step amplification of nucleic acids, cytokeratin 19 (CK19).

**Aims:**

The main aim of this study is to analyze the possibility of clinical application of cytokeratin 19 as a marker for the detection of cervical metastases in the initial stages of squamous cell carcinoma of the oral cavity.

Through the diagnostic validity study of the CK19 we established the different aims:

- Estimate the diagnostic accuracy of CK19 from biopsy in squamous cell carcinomas of the oral cavity in early stages (I-II).
- Estimate the diagnostic accuracy of CK19 for the detection of metastases in the sentinel lymph node of squamous cell carcinomas of the oral cavity in early stages (I-II).
- Evaluate the statistical association between the factors of interest determined a priori (degree of tumor differentiation, tumor stage, recurrence, tumor location, EMT) with the results of CK19 expression in the tumor.

**Methods:**

An immunohistochemical study has been carried out on three tissue samples: initial tumor biopsy, complete tumor and sentinel lymph nodes, from the 52 patients that our sample finally presented.

**Results:**

The prevalence of positive CK19 expression on the biopsies and on the tumor is coincident, 15.4%, but it is not concordant because it has a sensitivity of 50% and a specificity of 90.9%. The results present a degree of agreement of 84.6%, which would represent a moderate degree of agreement.

Only 8 (15.38%) patients of the total n of 52 presented an expression greater than 30% on the biopsy to be able to carry out the sentinel study and thus the study of the precision of CK19.

The sensitivity and specificity of the CK19 study in the sentinel lymph node is 100% compared to the reference tests of H&E and AE1-AE3 immunohistochemistry.

No statistically significant association has been shown with different tumor variables of interest.

**Conclusions:**

If we analyze our results and contextualize them through a complete bibliographic review of the state of the art on the CK19 marker and its applications to squamous cell carcinoma of the oral cavity, we can conclude that; Cytokeratin presents a low and heterogeneous expression in squamous cell carcinoma of the oral cavity in initial stages, being insufficient for its clinical application.

It presents a moderate agreement between biopsy and tumor without sufficient capacity for the adequate detection of true positives or true negatives.

The study of CK19 on the lymph node offers a diagnostic potential similar to that of histopathological diagnosis but in those patients with a CK19-positive primary lesion.

We conclude that CK19 cannot be established as a marker for routine and widespread use in the management of patients with early-stage CECO.

Therefore, future studies should focus on other biomarkers for their potential application in intraoperative sentinel lymph node diagnosis.



# **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

**CECO** Carcinoma Epidermoide de Cavidad Oral  
**GC** Ganglio Centinela  
**BSGC** Biopsia Selectiva de Ganglio Centinela  
**TNM** Tamaño Tumoral/ Estado ganglionar/ Metástasis  
**CK19** Citoqueratina 19  
**H&E** Hematoxilina-Eosina  
**IHQ** Inmunohistoquímica  
**EMT** Espesor Máximo Tumoral  
**ECS** Extensión Extracapsular  
**ISH** Hibridación In Situ  
**OSNA** One Step-Nucleic Acid Amplification en español Ensayo de Amplificación en un Solo paso  
**PCR** Polymerase Chain Reaction  
**RT-PCR** Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)  
**ITC** Isolated Tumour Cells, Células tumorales aisladas  
**ARNm** ARN mensajero  
**VPH** Virus del Papiloma Humano  
**N** Número de participantes/sujetos  
**NHC** Número de Historia Clínica  
**FN** Falsos negativos  
**FP** Falso Positivo  
**VPP** Del Valor Predictivo Positivo  
**VPN** Del Valor Predictivo Negativo  
**CP+** Cociente de probabilidad positivo  
**CP-** Cociente de probabilidad negativo  
**PET-TAC** Tomografía por Emisión de Positrones  
**RNM** Resonancia Nuclear Magnética  
**TAC** Tomografía Computarizada  
**SPECT** Tomografía Computarizada por Emisión de Fotón Único  
**QT** Quimioterapia  
**RT** Radioterapia  
**IMRT** Radioterapia de Intensidad Modulada  
**AJCC** American Joint Committee on Cancer  
**UICC** International Union for Cancer Control  
**OMS** Organización Mundial de la Salud  
**NCCN** National Comprehensive Cancer Network  
**NICE** National Institute for Health and Care Excellence  
**REDECAN** Red Española de Registros del Cáncer  
**UMTCC** Unidad Multidisciplinar de Tumores de Cabeza y Cuello

**AHNS**American Head And Neck Society  
**TGCA** informes del Atlas del cáncer del genoma



# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Incidencia de cáncer en el mundo dividida por continentes	<b>44</b>
<b>Figura 2</b> Incidencia estimada de tumores en la población mundial para los años 2020 y 2040	<b>44</b>
<b>Figura 3</b> Prevalencia a 5 años de cáncer en el mundo dividida por continentes	<b>45</b>
<b>Figura 4</b> Mortalidad de cáncer en el mundo dividida por continentes	<b>45</b>
<b>Figura 5</b> Muestra las 6 capacidades biológicas adquiridas del cáncer que se Desarrollan en varios pasos	<b>46</b>
<b>Figura 6</b> Prevalencia total de cáncer (número de casos). España 31 de diciembre de 2020, ambos sexos	<b>47</b>
<b>Figura 7</b> Número estimado de casos incidentes de cáncer en España por tipo tumoral 2024. Ambos sexos	<b>49</b>
<b>Figura 8</b> Anatomía de la región de la cabeza y cuello	<b>51</b>
<b>Figura 9</b> Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020, hombres	<b>52</b>
<b>Figura 10</b> Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020	<b>53</b>
<b>Figura 11</b> Proyecciones del número de casos incidentes de cáncer, tasa específica TEE y tasa truncada TT para tres grupos de edad por tipo de cáncer. Ambos sexos. España 2024	<b>54</b>
<b>Figura 12</b> Supervivencia observada y neta a cinco años de los tumores más frecuentes en España. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN)	<b>54</b>
<b>Figura 13</b> Supervivencia observada a 5 años (observed survival OS) y supervivencia neta (net survival NS) por sexo en adultos diagnosticados de cáncer en España entre 2008-2013	<b>55</b>
<b>Figura 14</b> Anatomía cavidad oral	<b>56</b>
<b>Figura 15</b> Incidencia de cáncer en el mundo dividida por localizaciones anatómicas y continentes	<b>59</b>
<b>Figura 16</b> Mortalidad de cáncer en el mundo dividida por localizaciones anatómicas	<b>59</b>
<b>Figura 17</b> Incidencia, Mortalidad y prevalencia por localización del tumor	<b>60</b>
<b>Figura 18</b> Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020	<b>61</b>
<b>Figura 19</b> Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020	<b>61</b>

<b>Figura 20</b> Proyecciones del número de casos incidentes de cáncer, tasa bruta y tasas ajustadas a las poblaciones mundiales, europea y nueva europea por tipo de cáncer. Amos sexos. España 2024	<b>62</b>
<b>Figura 21</b> Número de casos según localización tumoral agrupada por secciones de IE-0. Total de casos	<b>63</b>
<b>Figura 22</b> Nº de casos según localización tumoral agrupada y por códigos de la CIE 10 por sexo. Total de casos	<b>64</b>
<b>Figura 23</b> Nº de casos según estadio de la enfermedad al diagnóstico por secciones y categorías de la CIE-0. Ambos sexos	<b>64</b>
<b>Figura 24</b> Nº de casos según tipo de primer tratamiento por secciones y categorías de la CIE. Total de casos	<b>65</b>
<b>Figura 25</b> Progresión genética del CECO asociados a la progresión histopatológica	<b>72</b>
<b>Figura 26</b> Cambios histológicos de la mucosa normal	<b>75</b>
<b>Figura 27</b> Clasificación quirúrgica del sistema ganglionar cervical	<b>92</b>
<b>Figura 28</b> Niveles de diseminación predominantes en los ganglios linfáticos de metástasis de tumores de CECO. La probabilidad estimada se demuestra en los círculos; a. Bucal b. Gingival (reborde alveolar) c. Retromolar d. Maxilar	<b>96</b>
<b>Figura 29</b> Cronograma del circuito diagnóstico y terapéutico de los pacientes antes de ser incluidos en el estudio	<b>120</b>
<b>Figura 30</b> Diagrama de flujo	<b>133</b>
<b>Figura 31</b> Corte de la biopsia con tinción de H&E con aumento de 2X10 b Corte de la biopsia con tinción de IHQ AE1-AE3 con aumento de 2X10	<b>135</b>
<b>Figura 32</b> Corte del tumor en parafina con tinción de H&E con aumento de 2X10 b Imagen corte del tumor en parafina teñido con CK19 con aumento de 2X10	<b>136</b>
<b>Figura 33</b> Imagen del ganglio centinela teñida con H&E del a un aumento de 2x10. b Imagen del ganglio centinela teñida con AE1-AE3 con un aumento de 4x10	<b>137</b>
<b>Figura 34</b> Imagen del ganglio centinela teñida con AE1-AE3 con un aumento de 2x b Imagen del ganglio centinela teñida con AE1-AE3 con un aumento de 2x10. Imagen del ganglio centinela teñida con CK19 con un aumento de 4x10	<b>137</b>
<b>Figura 35</b> Diagrama de flujo estudio de precisión diagnóstica de expresión de CK19 en biopsia	<b>141</b>
<b>Figura 36</b> Área bajo la curva ROC de 0.70.	<b>143</b>
<b>Figura 37</b> Diagrama de flujo estudio de precisión diagnóstica de expresión de CK19 en GC	<b>145</b>

<b>Figura 38</b> Diagrama de cajas pT-CK19 TUMOR	<b>150</b>
<b>Figura 39</b> Diagrama de cajas pN0-CK19 TUMOR	<b>152</b>
<b>Figura 40</b> Diagrama de cajas LOCALIZACIÓN TUMORAL-CK19 TUMOR	<b>153</b>
<b>Figura 41</b> Diagrama de cajas EMT-CK19 TUMOR	<b>154</b>
<b>Figura 42</b> Diagrama de cajas GRADO DE DIFERENCIACIÓN-CK19 TUMOR	<b>156</b>



# ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Séptima edición TNM	<b>80</b>
<b>Tabla 2</b> Octava edición TNM	<b>82</b>
<b>Tabla 3</b> Escala de Liljequist	<b>128</b>
<b>Tabla 4</b> Tabla de valoración del índice kappa	<b>129</b>
<b>Tabla 5</b> Análisis descriptivo de la muestra	<b>138</b>
<b>Tabla 6</b> Evaluación de la exactitud diagnóstica de la CK19 en biopsia	<b>142</b>
<b>Tabla 7</b> Tabla de concordancia entre los resultados de CK19 en Biopsia y en tumor	<b>144</b>
<b>Tabla 8</b> Evaluación de la exactitud diagnóstica de H&E	<b>146</b>
<b>Tabla 9</b> Evaluación de la exactitud diagnóstica de la IHQ AE1-AE3	<b>147</b>
<b>Tabla 10</b> Tabla de concordancia entre los resultados de H&E y la CK19 Centinela	<b>148</b>
<b>Tabla 11</b> Tabla de concordancia entre los resultados de IHQ y la CK19 Centinela	<b>149</b>
<b>Tabla 12</b> Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según el estadio tumoral (pT)	<b>150</b>
<b>Tabla 13</b> Porcentaje de expresión CK19 en tumor según el estadio tumoral (pT)	<b>150</b>
<b>Tabla 14</b> Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según el estadio tumoral (pN)	<b>151</b>
<b>Tabla 15</b> Porcentaje de expresión CK19 en tumor según el estadio tumoral (pN)	<b>151</b>
<b>Tabla 16</b> Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según la localización	<b>152</b>
<b>Tabla 17</b> Porcentaje de expresión CK19 en tumor según la localización	<b>153</b>
<b>Tabla 18</b> Valores que toma la variable EMT en función de CK19 TUMOR	<b>154</b>
<b>Tabla 19</b> Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según el Grado de diferenciación	<b>155</b>
<b>Tabla 20</b> Porcentaje de expresión CK19 en tumor según el Grado de diferenciación	<b>155</b>
<b>Tabla 21</b> Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según presencia de recidiva	<b>156</b>
<b>Tabla 22</b> Porcentaje de expresión CK19 en tumor según presencia de recidiva	<b>156</b>



# 1.INTRODUCCIÓN

## 1.1. Cáncer

### 1.1.1. Introducción

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad del mundo.

Es fundamental entender los siguientes términos para comprender la epidemiología del cáncer:

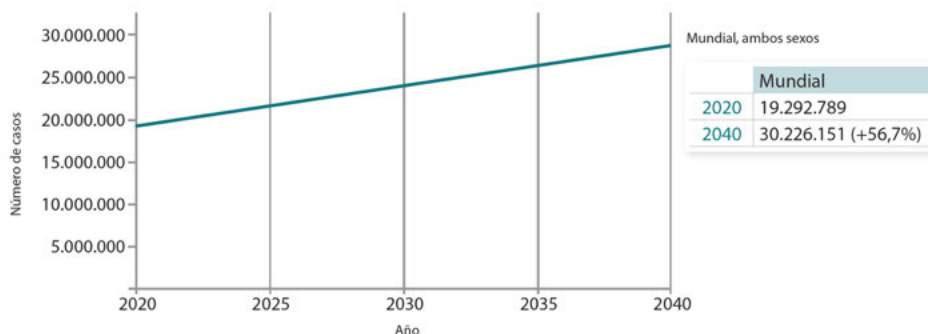
La **incidencia** es el número de casos nuevos de una enfermedad en una población y en un periodo determinados. Puede expresarse como el número absoluto de casos nuevos en un año o como tasa (número de casos nuevos por 100.000 personas por año).

La incidencia del cáncer mundial según los últimos datos publicados de la OMS (Organización Mundial de la Salud) es de 19,9 millones de casos nuevos. <sup>1</sup> (Figura 1)

	Males	Females	Both sexes
Population	3 972 735 747	3 912 335 034	7 885 070 781
<b>Incidencia*</b>			
Number of new cancer cases	10 311 610	9 664 889	19 976 499
Age-standardized incidence rate	212.6	186.3	196.9
Risk of developing cancer before the age of 75 years (cum. risk %)	21.8	18.5	20.0
Top 3 leading cancers (ranked by cases)**	Lung Prostate Colorectum	Breast Lung Colorectum	Lung Breast Colorectum

**Figura 1** Incidencia de cáncer en el mundo dividida por continentes. Fuente <sup>1</sup>

La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer indica que este dato aumentará en las dos próximas décadas a 30,2 millones de casos nuevos en 2040. <sup>2</sup> (Figura 2)



**Figura 2.** Incidencia estimada de tumores en la población mundial para los años 2020 y 2040. <sup>2</sup>

La **prevalencia** es la proporción de la población que está sujeta a esta enfermedad en un periodo o en un momento determinado, e incluye a todas las personas que habiendo sido diagnosticadas de esta enfermedad en el pasado (reciente o lejano) están vivas (estén curadas o no). La prevalencia mundial es de prevalencia de 53,5 millones en el mundo en el año 2022.<sup>1</sup>Figura 3

Prevalence*			
5-year prevalent cases	25 747 272	27 756 915	53 504 187

**Figura 3** Prevalencia a 5 años de cáncer en el mundo dividida por continentes. <sup>1</sup>

La **mortalidad** es el número de fallecimientos ocurridos en un periodo concreto en una población determinada. Suele expresarse como el número de fallecimientos por año o como el número de fallecimientos por 100000 personas por año. La supervivencia observada representa la probabilidad de sobrevivir tras un tiempo dado desde el diagnóstico, independientemente de la causa de defunción.<sup>3</sup> El número de muertes por cáncer a nivel mundial en 2022 fue de 9.743.832. (Figura 4)

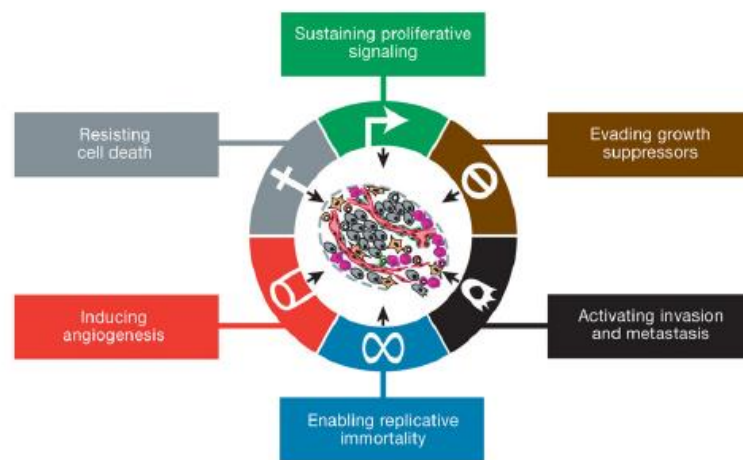
Mortality*			
Number of cancer deaths	5 430 284	4 313 548	9 743 832
Age-standardized mortality rate	109.8	76.9	91.7
Risk of dying from cancer before the age of 75 years (cum. risk %)	11.4	8.0	9.6
Top 3 leading cancers (ranked by deaths)**	Lung Liver Colorectum	Breast Lung Colorectum	Lung Colorectum Liver

**Figura 4** Mortalidad de cáncer en el mundo dividida por continentes. <sup>13</sup>

El cáncer es una enfermedad multifactorial y después de décadas de rápidos avances en la investigación, se ha demostrado que el cáncer es una enfermedad dinámica sobre el genoma. Se ha evidenciado que la tumorigénesis es un proceso de pasos que reflejan alteraciones genéticas, que conducen a la transformación oncológica de la célula. <sup>4</sup>

La investigación del cáncer se ha convertido en una ciencia lógica donde el laboratorio y la clínica han sido complementarios, para poder iniciar a descifrar su complejidad y llegar a entender los principios del cáncer.

Esto llevó a que en 2000<sup>5</sup> publicasen un proceso de 6 alteraciones esenciales en la fisiología celular que determinaban el cambio a un crecimiento maligno colectivo. (Figura 5): autosuficiencia en las señales de crecimiento, insensibilidad a las señales inhibitoras del crecimiento (*antigrowth*), evasión de muerte celular programada (apoptosis), potencial replicativo ilimitado, angiogénesis sostenida e invasión tisular y metástasis. Cada uno de estos cambios fisiológicos representa la violación exitosa de un mecanismo de defensa contra el cáncer.



**Figura 5** Muestra las 6 capacidades biológicas adquiridas del cáncer que se desarrollan en varios pasos <sup>2</sup>

En 2011 <sup>6</sup> estos dos autores volvieron a publicar un nuevo artículo en el que añadían dos nuevas características en la biología del cáncer: el microambiente tumoral y sus interacciones de señalización.

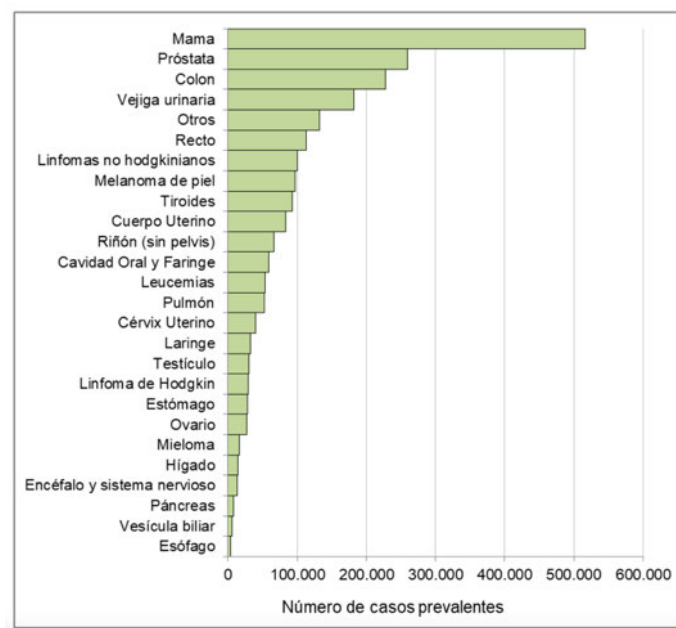
Estas evidencias han cambiado el enfoque de estudio y abordaje terapéutico del cáncer. Todos los esfuerzos de innovación en diagnóstico y tratamientos están centrados en conocer más marcadores moleculares bioquímicos o celulares, que nos permitan un estudio individualizado de esas alteraciones en cada tipo de cáncer para un mayor conocimiento y abordaje terapéutico.

### 1.1.2. Epidemiología del cáncer en España

En España el cáncer sigue siendo una de las principales causas de morbi-mortalidad, siendo la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares, aunque en hombres desde 2020, es la primera causa de muerte. En 2020, tres de cada 10 defunciones en hombres y dos de cada 10 en mujeres fueron a causa del cáncer.

El número de casos prevalentes totales en España a 31 de diciembre de 2020 es de 2.265.152 (1.066.959 en hombres y 1.198.193 en mujeres).

Los cánceres más prevalentes son los de mama femenina (516.827), próstata (259.788), colon (227.174), vejiga urinaria (182.487), recto (112.915) y linfomas no hodgkinianos (100.058).<sup>7</sup>



**Figura 6** Prevalencia total de cáncer (número de casos). España 31 de diciembre de 2020, ambos sexos.<sup>7</sup>

Las tendencias de la incidencia y de la mortalidad de algunos tipos de cáncer en algunos casos muestran una estabilidad y en otros una disminución, como por ejemplo, el cáncer de pulmón en hombres. Esto sugiere un grado de efectividad en las políticas de prevención tanto primaria como secundaria y en las mejoras terapéuticas.

En los últimos años parece identificarse en la población española, una estabilización en la incidencia del cáncer en varones (debido a la reducción del número de tumores

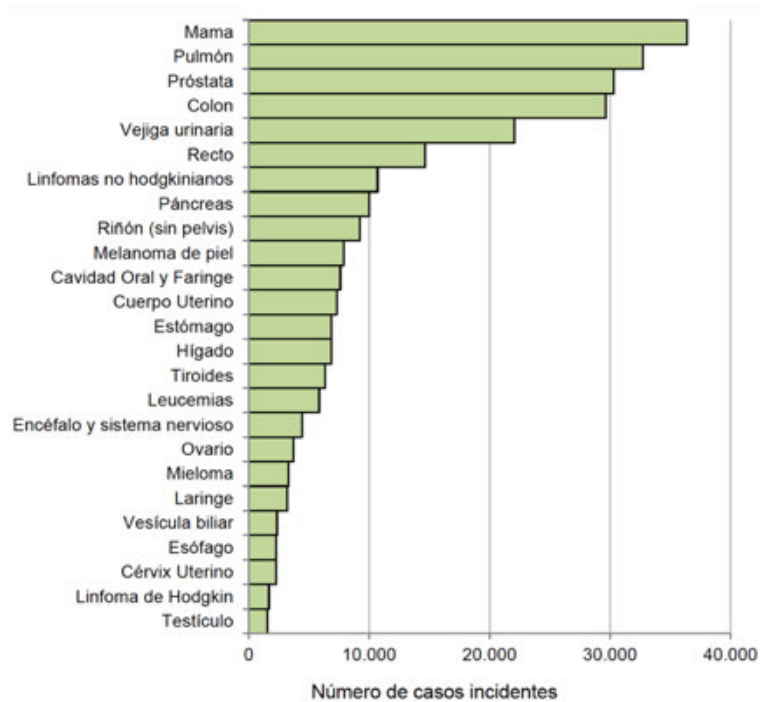
relacionados con el tabaco por la disminución del tabaquismo en hombres). Mientras que en mujeres se observa un incremento global (debido al aumento del hábito en mujeres, que condiciona un aumento de tumores relacionados con el tabaco). Otros factores como el relativo estancamiento poblacional a partir de 2008, o el incremento de casos debido a la implantación de programas de detección precoz, parecen tener un impacto menor en las cifras absolutas.

Utilizando los datos de incidencia disponibles en la base de datos de la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN) y los datos de mortalidad proporcionados por el Instituto Nacional de Estadística (INE) hasta el año 2021, la REDECAN ha publicado un informe con las estimaciones de incidencia de cáncer en nuestro país para el año 2024.<sup>7</sup>

El número total de casos incidentes estimados para 2024 es de 286.664 de los que 161.678 son en hombres y 124.986 en mujeres.

El tumor más frecuente en el conjunto de la población sería el de colon y recto con un total de 44.294 nuevos casos. Le sigue el cáncer de mama femenina con 36.395 nuevos casos, el cáncer de pulmón con 32.768 y el de próstata con 30.316.

El número total de casos se reparte de una manera muy diferente según el grupo de edad. Entre los más jóvenes (0-44 años) el número es de 15,938(5,5%); entre los de mediana edad (45-64 años) es de 99.391(34,7%) y entre los de edad más avanzadas es de 171.335(59,8%).



**Figura 7** Número estimado de casos incidentes de cáncer en España por tipo tumoral 2024. Ambos sexos. <sup>7</sup>

Si nos centramos en la Comunidad de Madrid según la Memoria del Registro de Tumores de la Comunidad de Madrid elaborado en Julio de 2021, en 2020 se registraron 29.699 casos, lo que supone una caída del 9,9% respecto al año previo. La tasa bruta obtenida fue de 408,47 pacientes por 100.000 habitantes y la ajustada por edad y sexo (incluido piel no melanoma), fue de 422,73 (354,25 para mujeres y de 522,44 para hombres), también por 100.000. Las tasas acumulativas calculadas hasta los 74 años fueron de un 25,45 lo que significa que, si las tendencias temporales no se modifican, se estima que uno de cada cuatro madrileños desarrollará un cáncer antes de los 75 años de edad. Desagregado por sexo, la tasa acumulada fue del 29,66 para hombres y 22,26 para mujeres, respectivamente, lo que significa que se estima que casi uno de cada tres hombres de nuestra comunidad desarrollara un cáncer antes de los 75 años y una de cada cinco mujeres. Según los grupos de la CIE-O, los tumores del aparato digestivo fueron los más frecuentes (22,9%), seguidos de los tumores de la mama (13,7%), los tumores del aparato respiratorio y órganos intratorácicos (12,5%) y los tumores del aparato genital masculino (10,9%). <sup>8</sup>

## **1.2. Cáncer de cabeza y cuello**

### **1.2.1. Introducción**

El término de “cabeza y cuello”, se refiere a un grupo diverso de neoplasias malignas originadas en regiones anatómicas que forman el tracto aerodigestivo superior, glándulas salivares, tiroides, paratiroides, piel, tejidos blandos, origen neurovascular y hueso del esqueleto craneofacial.<sup>9</sup>

Desde un punto de vista académico el término de “cáncer de cabeza y cuello”, se subdivide para favorecer el desarrollo de estudios más homogéneos, en cuanto a la clasificación y pronóstico. La forma más habitual de agrupar a las neoplasias de cabeza y cuello es según su localización anatómica en: base de cráneo, nasofaringe, cavidad oral, orofaringe, hipofaringe y laringe. También se clasifican según su origen anatómico: piel, mucosas, glándulas salivares, tiroides, melanoma.

El carcinoma epidermoide o de células escamosas es el tipo de tumor más frecuente y supone más del 90% de estos cánceres de cabeza y cuello.<sup>10 11 12</sup>

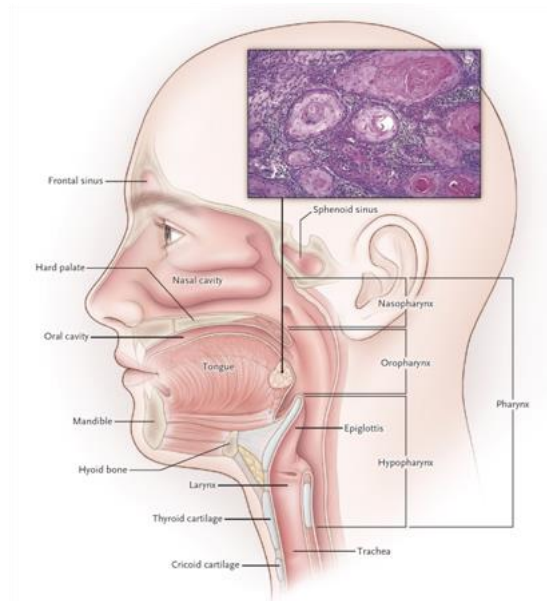
La edad promedio al diagnóstico es de aproximadamente 60 años. Sin embargo, la incidencia de estos cánceres en adultos menores de 45 años ha aumentado en los últimos años, debido al mayor número de cánceres orofaríngeos asociados a virus de papiloma humano oncogénicos.<sup>13</sup>

En la figura 8 se muestra la anatomía de la región de la cabeza y el cuello. La cavidad oral incluye los labios, mucosa bucal, lengua anterior, suelo de la boca, paladar duro, encía y trígono retromolar.

La faringe incluye la nasofaringe (detrás de cavidad nasal), orofaringe (que engloba la base de la lengua, el paladar blando, amígdala y pared faríngea posterior) y la hipofaringe (comprende senos piriformes, región posterior laringe, área postiroidea y las paredes faríngeas inferior, posterior e inferolateral).

La laringe incluye la laringe supraglótica, laringe glótica (cuerdas vocales verdaderas y comisuras anterior y posterior) y laringe subglótica.

La cavidad nasal y los senos paranasales incluyen el maxilar, etmoides, esfenoides y senos frontales.



**Figura 8** Anatomía de la región de la cabeza y cuello <sup>14</sup>

El cáncer de cabeza y cuello fue el 7º cáncer más frecuente del mundo en 2018, 890.000 casos nuevos y 450.000 muertes. <sup>15</sup>

La incidencia global en 2020, incluyendo tiroides, labio, cavidad oral, glándulas salivares, naso, oro e hipofaringe y laringe es de 1.518.131, respecto a 2018 que era de 887659. La prevalencia a 5 años en 2020 fue de 4.396.614, 2.287.731 en 2018. La mortalidad global producida por el cáncer de cabeza y cuello es de 520.771 en 2020 y 453.307 en 2018. La mortalidad global producida por el cáncer del cabeza y cuello es de 520.771 en 2020 y 453.307 en 2018. <sup>1</sup>

Los cánceres de cabeza y cuello generalmente comienzan en las células escamosas, cada año se diagnostican más de 500.000 nuevos casos en todo el mundo. <sup>16</sup>

Aproximadamente el 60% de los casos se encuentran en etapa avanzada Cáncer III y IV, que tienen mal pronóstico incluso con un abordaje terapéutico multimodal. <sup>17</sup>

### 1.2.2. Epidemiología del cáncer de cabeza y cuello en España

Si sumamos los datos del cáncer de cabeza y cuello, según el informe de la Red Española de Registro de Cáncer a 31 de diciembre de 2020 incluyendo cavidad oral, faringe, laringe y tiroides supone una prevalencia total de 86.486 y una prevalencia a 5 años de 33.556 en hombres y 97.668 y 28.527 respectivamente en mujeres.<sup>7</sup>

Tipo tumoral	Prevalencia total		Prevalencia a 1, 3 y 5 años del diagnóstico		
	Totales	Tasa	< 1 año	< 3 años	< 5 años
Cavidad oral y faringe	40.087	173,3	5.176	12.992	18.266
Esófago	3.298	14,3	1.203	2.276	2.699
Estómago	15.599	67,4	3.111	6.759	8.887
Colon	126.241	545,6	14.782	39.153	55.988
Recto	65.643	283,7	7.549	19.625	28.776
Hígado	11.347	49,0	3.220	6.513	8.151
Vesícula biliar	3.099	13,4	925	1.782	2.191
Páncreas	4.064	17,6	2.071	3.262	3.644
Laringe	28.542	123,4	2.563	7.061	10.548
Pulmón	35.815	154,8	12.902	24.082	28.617
Melanoma de piel	38.873	168,0	2.370	6.637	9.735
Próstata	259.788	1.122,8	32.532	83.689	122.025
Testículo	30.569	132,1	1.286	3.790	6.236
Riñón (sin pelvis)	44.137	190,8	4.432	11.685	17.256
Vejiga urinaria	149.795	647,4	15.901	43.852	62.462
Encéfalo y SNC	6.290	27,2	1.365	2.670	3.431
Tiroides	17.857	77,2	1.066	2.998	4.742
Linfoma de Hodgkin	16.182	69,9	791	2.202	3.481
Linfomas no hodgkinianos	51.915	224,4	4.199	11.023	16.139
Mieloma	8.925	38,6	1.540	3.699	5.071
Leucemias	27.742	119,9	2.857	7.219	10.276
Otros	111.720	482,8	8.800	21.995	33.982
Todos (*)	1.066.959	4.611,4	129.355	321.174	456.366

**Figura 9** Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020, hombres.<sup>7</sup>

Tipo tumoral	Prevalencia total		Prevalencia a 1, 3 y 5 años del diagnóstico		
	Totales	Tasa	< 1 año	< 3 años	< 5 años
Cavidad oral y faringe	18.778	77,8	2.269	5.788	8.271
Esófago	925	3,8	294	536	665
Estómago	12.900	53,4	1.908	4.292	5.741
Colon	100.933	417,9	10.684	28.012	40.923
Recto	47.272	195,7	4.861	12.793	18.946
Hígado	2.982	12,4	942	1.783	2.195
Vesícula biliar	2.629	10,9	796	1.483	1.833
Páncreas	3.775	15,6	1.873	2.962	3.325
Laringe	3.419	14,2	356	941	1.407
Pulmón	16.870	69,9	5.116	10.160	12.526
Melanoma de piel	58.673	242,9	3.573	10.243	15.562
Mama	516.827	2.139,9	32.128	91.122	144.233
Cérvix uterino	39.758	164,6	1.805	5.011	7.605
Cuerpo uterino	83.099	344,1	6.351	17.321	26.748
Ovario	27.585	114,2	2.930	7.163	10.236
Riñón (sin pelvis)	22.187	91,9	1.881	5.128	7.871
Vejiga urinaria	32.692	135,4	3.691	9.719	14.134
Encéfalo y sistema nervioso	6.662	27,6	1.313	2.638	3.466
Tiroides	75.471	312,5	4.080	11.737	18.849
Linfoma de Hodgkin	12.757	52,8	609	1.710	2.722
Linfomas no hodgkinianos	48.143	199,3	3.668	9.847	14.913
Mieloma	7.382	30,6	1.130	2.786	3.883
Leucemias	25.461	105,4	2.085	5.349	7.627
Otros (*)	50.717	210,0	5.378	13.000	19.336
<b>Todos (*)</b>	<b>1.198.193</b>	<b>4.961,0</b>	<b>97.158</b>	<b>255.200</b>	<b>384.080</b>

**Figura 10** Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020.<sup>7</sup>

La estimación de incidencias para este 2024 según el último informe de REDECAN en ambos sexos para cáncer de cabeza y cuello sería de 10.784 nuevos casos.

AMBOS SEXOS	0-44			45-64			65+		
	N	TEE	T TR	N	TEE	T TR	N	TEE	T TR
Cavidad Oral y Faringe	318	1,3	1,3	3248	22,0	22,3	4.037	40,1	42,1
Esófago	37	0,2	0,1	877	5,9	6,1	1.355	13,5	14,6
Estómago	216	0,9	0,9	1.895	12,8	13,0	4.758	47,3	48,2
Colon	511	2,2	2,0	7.928	53,7	54,4	21.209	210,7	217,0
Recto	344	1,5	1,4	5.289	35,8	36,3	9.013	89,5	93,8
Hígado	96	0,4	0,4	2.530	17,1	17,5	4.230	42,0	44,8
Vesícula biliar	20	0,1	0,1	429	2,9	2,9	1.909	19,0	18,7
Páncreas	113	0,5	0,4	2.674	18,1	18,3	7.198	71,5	70,9
Laringe	33	0,1	0,1	1.522	10,3	10,5	1.626	16,2	18,1
Pulmón	342	1,5	1,3	10.871	73,6	74,6	21.555	214,1	231,7
Melanoma de piel	1.250	5,3	5,1	3.068	20,8	20,8	3.562	35,4	36,0
Mama	3.993	34,5	31,6	17.693	237,1	237,2	14.710	259,9	259,0
Cérvix Uterino	495	4,3	4,0	1.177	15,8	15,7	587	10,4	10,6
Cuerpo Uterino	215	1,9	1,7	3.131	41,9	42,0	3.959	69,9	71,7
Ovario	233	2,0	1,8	1.769	23,7	23,7	1.714	30,3	30,2
Próstata	31	0,3	0,2	8.851	121,3	123,9	21.434	486,4	488,0
Testículo	1.234	10,3	10,3	263	3,6	3,6	52	1,2	1,2
Riñón (sin pelvis)	328	1,4	1,3	3.953	26,8	27,1	4.927	48,9	51,5
Vejiga urinaria	216	0,9	0,9	6.460	43,8	44,7	15.422	153,2	168,7
Encéfalo y sistema nervioso	596	2,5	2,5	1.498	10,1	10,2	2.325	23,1	23,4
Tiroides	1.767	7,5	7,2	2.954	20,0	19,9	1.623	16,1	16,1
Linfoma de Hodgkin	850	3,6	3,5	450	3,0	3,1	373	3,7	3,8
Linfomas no hodgkinianos	1.094	4,6	4,5	3.746	25,4	25,6	5.866	58,3	59,9
Mieloma	40	0,2	0,2	903	6,1	6,2	2.370	23,5	23,8
Leucemias	657	2,8	2,8	1.396	9,5	9,6	3.808	37,8	38,6
Otros	908	3,9	3,7	4.817	32,6	33,0	11.715	116,4	117,6
Todos excepto piel no mel.	15.938	67,7	64,7	99.391	673,3	679,0	171.335	1.701,9	1.769,7

N: Número absoluto de casos. TEE: Tasa específica por edad. TTR: Tasa Truncada (ajustada a la población estándar europea)  
Tasas por 100.000 habitantes y año.

**Figura 11** Proyecciones del número de casos incidentes de cáncer, tasa específica TEE y tasa truncada TT para tres grupos de edad por tipo de cáncer. Ambos sexos. España 2024<sup>7</sup>

TIPO DE CÁNCER	HOMBRES		MUJERES	
	S. OBSERVADA	S. NETA	S. OBSERVADA	S. NETA
Cavidad oral y faringe	34,0	38,2	52,8	57,2
Esófago	11,8	13,1	15,0	15,7
Estómago	23,3	26,0	28,4	30,3
Colon	55,5	63,1	58,8	63,9
Recto	53,3	60,4	58,1	62,7
Hígado	16,4	17,9	15,5	16,2
Vesícula y vías biliares	15,4	21,8	14,0	18,8
Páncreas	6,7	7,2	9,6	10,0
Laringe	52,5	60,0	60,5	66,1

**Figura 12** Supervivencia observada y neta a cinco años de los tumores más frecuentes en España. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN)<sup>7</sup>

La supervivencia observada a 5 años en cavidad oral y faringe sería de 41.0 y la supervivencia neta de 44.5. Para laringe de 55.9 y 62 y para tiroides de 91.2 y 93.9 respectivamente según la última publicación de REDECAN de mayo de 2022. <sup>18</sup>

**Table 2.** Five-year observed survival (OS) and net survival (NS) by sex in adult patients diagnosed with cancer in Spain in 2008–2013.

Cancer Group	Men			Women			Both		
	Number of Cases	OS (95% CI), %	NS (95% CI), %	Number of Cases	OS (95% CI), %	NS (95% CI), %	Number of Cases	OS (95% CI), %	NS (95% CI), %
<b>Oral cavity and pharynx</b>	<b>5573</b>	<b>37.2 (35.9–38.6)</b>	<b>40.5 (39.0–42.0)</b>	<b>1733</b>	<b>53.1 (50.5–55.5)</b>	<b>57.6 (54.7–60.6)</b>	<b>7306</b>	<b>41.0 (39.8–42.2)</b>	<b>44.5 (43.2–45.9)</b>
Esophagus	2619	11.5 (10.2–12.9)	12.7 (11.3–14.2)	472	13.8 (10.7–17.3)	14.6 (11.0–18.1)	3091	11.9 (10.7–13.1)	13.0 (11.7–14.4)
Stomach	6533	20.8 (19.8–21.8)	24.0 (22.7–25.2)	3880	23.3 (21.9–24.7)	26.1 (24.5–27.7)	10,413	21.7 (20.9–22.6)	24.8 (23.8–25.8)
Colon	18,121	51.2 (50.4–52.0)	60.5 (59.5–61.5)	12,488	53.3 (52.3–54.2)	60.2 (59.1–61.3)	30,609	52.1 (51.5–52.7)	60.4 (59.7–61.1)
Rectum	9580	51.2 (50.1–52.3)	59.0 (57.7–60.4)	5136	53.9 (52.4–55.3)	59.7 (57.9–61.4)	14,716	52.1 (51.3–53.0)	59.3 (58.2–60.3)
Liver	5440	16.1 (15.1–17.2)	17.6 (16.4–18.8)	2028	10.3 (8.8–11.8)	11.2 (9.5–12.8)	7,468	14.6 (13.7–15.5)	15.9 (14.9–16.9)
Gallbladder and bile ducts	1584	14.8 (12.9–16.7)	17.2 (14.9–19.5)	1766	12.0 (10.4–13.7)	14.2 (12.1–16.3)	3350	13.3 (12.1–14.6)	15.6 (14.1–17.2)
Pancreas	4427	5.7 (5.0–6.5)	6.2 (5.4–7.1)	3881	6.3 (5.5–7.2)	6.9 (5.9–7.8)	8308	6.0 (5.5–6.6)	6.5 (5.9–7.2)
Larynx	<b>4460</b>	<b>55.2 (53.6–56.7)</b>	<b>61.5 (59.7–63.3)</b>	<b>355</b>	<b>64.7 (59.1–69.8)</b>	<b>68.0 (62.2–73.8)</b>	<b>4815</b>	<b>55.9 (54.3–57.3)</b>	<b>62.0 (60.3–63.7)</b>
Lung	26,981	10.9 (10.5–11.3)	12.1 (11.6–12.6)	6352	17.3 (16.3–18.4)	18.0 (16.9–19.2)	33,333	12.1 (11.7–12.5)	13.2 (12.8–13.6)
Skin melanoma	3140	70.9 (69.2–72.6)	80.3 (78.1–82.5)	3480	81.4 (79.9–82.7)	87.5 (85.7–89.3)	6620	76.4 (75.3–77.5)	84.1 (82.7–85.5)
Breast (women)				34,294	82.0 (81.8–82.5)	87.3 (86.8–87.9)	34,294		
Cervix uteri				2726	65.8 (63.9–67.6)	67.6 (65.7–69.6)	2726		
Corpus uteri				7432	70.2 (69.1–71.3)	75.1 (73.8–76.4)	7432		
Ovary and annexes				4199	43.0 (41.3–44.6)	44.7 (43.0–46.4)	4199		
Prostate	38,929	78.0 (77.5–78.4)	90.0 (89.4–90.6)				38,929		
Testicle	1671	95.1 (93.9–96.1)	95.9 (94.8–97.0)				1671		
Kidney	5069	58.5 (57.0–59.9)	65.4 (63.6–67.2)	2374	59.6 (57.4–61.6)	64.1 (61.7–66.5)	7443	58.8 (57.6–60.0)	65.0 (63.5–66.4)
Urinary bladder	20,022	60.3 (59.5–61.0)	70.8 (69.9–71.8)	3973	61.6 (60.0–63.2)	70.7 (68.6–72.8)	23,995	60.5 (59.8–61.1)	70.8 (69.9–71.7)
Brain	2613	13.5 (12.2–14.9)	13.9 (12.5–15.4)	2104	14.0 (12.4–15.6)	14.3 (12.7–15.9)	4717	13.7 (12.7–14.8)	14.1 (13.0–15.2)
Thyroid	<b>1186</b>	<b>84.8 (82.5–86.9)</b>	<b>88.9 (86.5–91.4)</b>	<b>4151</b>	<b>93.0 (92.1–93.7)</b>	<b>95.3 (94.5–96.2)</b>	<b>5337</b>	<b>91.2 (90.4–92.0)</b>	<b>93.9 (93.1–94.8)</b>
Hodgkin lymphoma	1026	78.5 (75.8–81.0)	81.1 (78.3–83.8)	725	82.4 (79.4–85.1)	83.5 (80.6–86.5)	1751	80.2 (78.1–82.0)	82.1 (80.0–84.1)
Non-Hodgkin lymphoma	5188	57.6 (56.1–59.0)	63.8 (62.1–65.4)	4395	62.2 (60.7–63.7)	66.7 (64.9–68.4)	9583	59.7 (58.6–60.7)	65.1 (63.9–66.3)
Myeloma	1989	35.1 (32.8–37.4)	40.2 (37.4–43.0)	1747	41.2 (38.7–43.7)	45.0 (42.2–47.9)	3736	38.0 (36.3–39.7)	42.5 (40.5–44.5)
Acute lymphoid leukemia	189	36.5 (29.5–43.6)	38.0 (30.6–45.4)	147	32.1 (24.5–39.9)	32.7 (24.6–40.7)	336	34.6 (29.4–39.8)	35.7 (30.2–41.1)
Chronic lymphoid leukemia	1446	61.4 (58.6–64.0)	73.1 (69.4–76.9)	995	64.1 (60.8–67.1)	74.2 (70.1–78.2)	2441	62.5 (60.4–64.5)	73.6 (70.8–76.3)
Acute myeloid leukemia	1192	19.3 (17.0–21.7)	20.1 (17.6–22.6)	1022	25.9 (23.1–28.7)	26.3 (23.3–29.3)	2214	22.3 (20.5–24.2)	22.9 (21.0–24.9)
Chronic myeloid leukemia	366	69.9 (64.7–74.4)	75.1 (69.5–80.8)	240	70.3 (63.7–75.9)	74.2 (67.0–81.3)	606	70.0 (66.0–73.7)	74.8 (70.4–79.2)
Leukemia NOS and others	658	32.8 (28.9–36.8)	37.8 (32.5–43.1)	405	30.0 (25.1–35.0)	33.2 (27.3–39.1)	1063	31.7 (28.6–34.8)	36.0 (32.0–40.0)
All cancers <sup>a</sup>	184,991	47.4 (47.1–47.6)	54.3 (54.0–54.6)	123,769	57.4 (57.1–57.7)	62.0 (61.6–62.3)	308,760	51.4 (51.2–51.6)	57.4 (57.2–57.6)

**Figura 13** Supervivencia observada a 5 años (observed survival OS) y supervivencia neta ( net survival NS) por sexo en adultos diagnosticados de cáncer en España entre 2008-2013. <sup>18</sup>

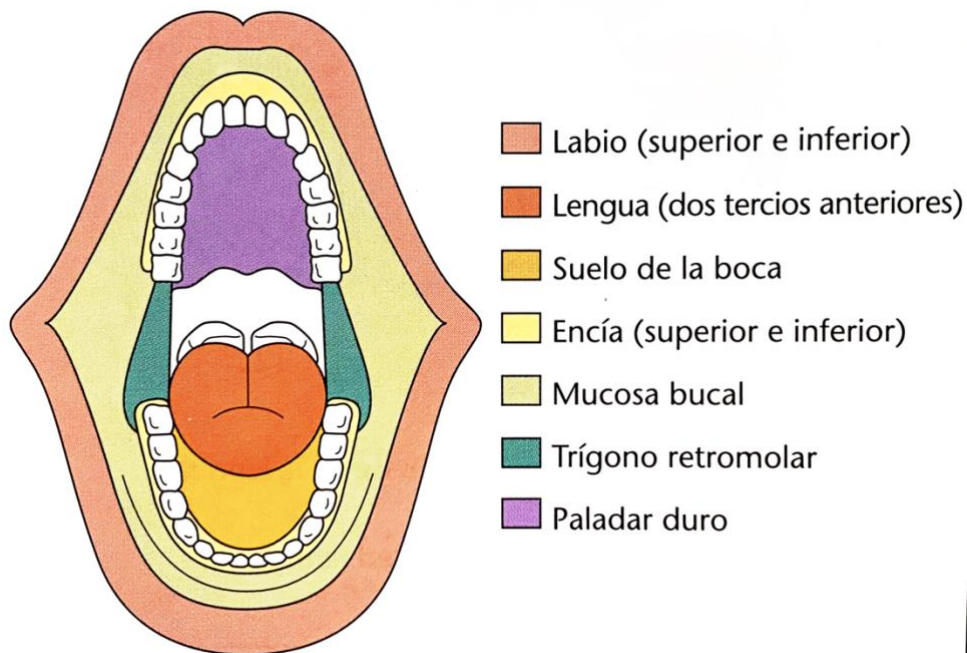
### 1.3. Cáncer de cavidad oral y labio

#### 1.3.1. Anatomía de la cavidad oral

La cavidad oral es la parte de las vías respiratorias y digestivas altas, que se extiende desde la unión de la piel de la mucosa del borde del bermellón de los labios, hasta el inicio de la orofaringe posteriormente. El límite de la orofaringe está limitado superiormente por la unión del paladar duro-blando, lateralmente por el pilar amigdalino anterior e inferiormente por las papilas calciformes que marcan el inicio de la base de la lengua.

El revestimiento de la cavidad oral está conformado por una mucosa epitelial escamosa estratificada no queratinizada. La capa submucosa es rica en glándulas salivares menores.

La cavidad oral es dividida en sublocalizaciones con variabilidad anatómica y por ello también diferencias en la clínica y tratamiento del cáncer <sup>19</sup>



**Figura 14** Anatomía cavidad oral.<sup>19</sup>

**-Labios:** Labios (superior e inferior): formados por piel: en donde se encuentran folículos pilosos y glándulas sebáceas; músculo: el músculo orbicular de los labios responsable de la función del esfínter oral; submucosa: formado por tejido conjuntivo laxo y glándulas salivales; mucosa: tapiza posteriormente los labios, continuándose con la mucosa oral, y hacia el borde libre del labio donde recibe el nombre de bermellón.

**-Mucosa oral o bucal:** corresponde a la mucosa que tapiza la cara interna de las mejillas, hasta los surcos vestibulares (mucogingivales), y continuándose con la mucosa de los labios. Histológicamente se caracteriza por estar conformado por un epitelio plano poliestratificado no queratinizado, una lámina propia con tejido conectivo, vasos sanguíneos y glándulas salivares, una capa submucosa, con tejido adiposo, y una capa muscular.

**-Encía (superior e inferior):** es la mucosa oral que tapiza las apófisis alveolares y rodea la porción cervical de los dientes, también se denomina mucosa masticatoria. Se diferencian tres áreas anatómicas: encía libre, encía adherida y encía interdental. Es un

epitelio escamoso estratificado queratinizado, excepto en la encía libre, y con una lámina propia con tejido conectivo y estructuras vasculares.

**-Trígono retromolar:** es un área de morfología triangular localizada en la mandíbula, en la zona posterior al último molar. Es un epitelio plano poliestratificado queratinizado, como el de la encía adherida, pero con un mayor grosor.

**-Paladar duro u óseo:** corresponde a los 2/3 anteriores del paladar. También se agrupa en la mucosa masticatoria, junto con las encías. Está formado por epitelio plano poliestratificado queratinizado y lámina propia, y carece de submucosa, pero tiene glándulas salivales palatinas.

**-Lengua (2/3 anteriores):** es un órgano formado por músculo estriado, cubierto por mucosa y submucosa. Se diferencian dos áreas anatómicas con distintas características: cara ventral, es la parte inferior, que se continúa con el suelo de la boca, formado por un epitelio plano poliestratificado no queratinizado fino con glándulas salivales; y la cara dorsal, tapizada por la mucosa especializada, se trata de un grueso epitelio plano poliestratificado con papilas linguales. Hay tres tipos de papilas: filiformes, las más abundantes repartiéndose por todo el dorso lingual; fungiformes; y circunvaladas, se alinean en forma de V en la porción posterior de la lengua, limitando los 2/3 anteriores del 1/3 posterior de la lengua o base lingual que ya se considera orofaringe no cavidad oral.

**-Suelo de la boca:** es un área en forma de U situada debajo de la lengua. Está constituido por un epitelio plano poliestratificado no queratinizado, que se continúa con la cara ventral de la lengua, y un tejido conjuntivo con gran presencia de glándulas salivales menores.

**-Procesos alveolodentales:** tejido óseo que alberga las raíces dentarias tanto en maxilar como en mandíbula.

**-Huesos maxilar y mandíbula.**

## **1.3.2. Epidemiología**

### **1.3.2.1. Introducción**

El cáncer de cavidad oral es en realidad un conjunto de diferentes trastornos con diferentes etiologías, manifestaciones clínicas y tratamientos. Representa más del 90% de los cánceres de cabeza y cuello, incluyendo la cavidad oral y orofaringe.

El Carcinoma Oral de Células Escamosas (CECO) es el tipo histológico más frecuente en esta localización, y el que nos vamos a centrar, representando el 90% de los tumores malignos orales.<sup>20</sup>

El cáncer de labio representa el 12% de todos los cánceres de cabeza y cuello no cutáneos. Más del 90% de los carcinomas de labio afectan al labio inferior y se atribuyen a la exposición al sol.<sup>21</sup>

En su conjunto, los cánceres de la cavidad oral y la orofaringe ocupan a nivel mundial la séptima posición en incidencia con un total de 529.500 nuevos casos (375.000 en hombres y 154.500 en mujeres). Tanto en Europa como en España ocuparon la décima posición.<sup>22</sup>

Si buscamos bibliografía que subdivida por labio y cavidad oral, en 2022 se registraron 389.846 nuevos casos de neoplasias malignas de cavidad oral, localizándose en el puesto 16 en cuanto a incidencia por localización global y presentando una ASR (age-standardized rate =tasa ajustada por edad) de 4.0.<sup>1</sup>

Incidence		
Rank	Cases	ASR (World)
<b>16</b>	<b>389 846</b>	<b>4.0</b>

### Cancer site ranking

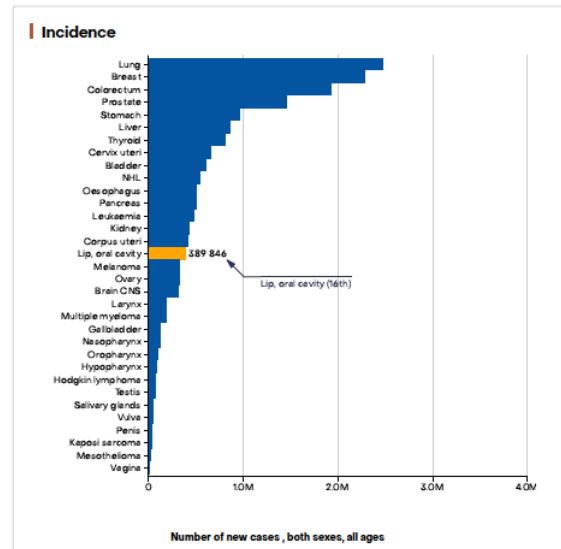


Figura 15 Incidencia de cáncer en el mundo dividida por localizaciones anatómicas y continentes. <sup>1</sup>

En cuanto a la mortalidad la cavidad oral y labio a nivel global ha producido en 2022 un total de 188.438 muertes siendo a nivel mundial el 15<sup>a</sup> cáncer con mayor mortalidad y una ASR de 1.9.

Mortality		
Rank	Deaths	ASR (World)
<b>15</b>	<b>188 438</b>	<b>1.9</b>

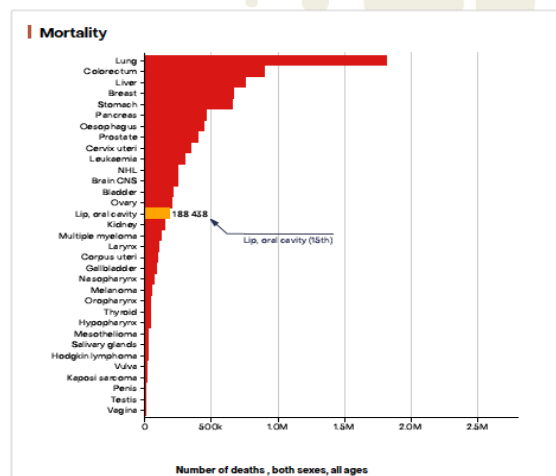


Figura 16 Mortalidad de cáncer en el mundo dividida por localizaciones anatómicas. <sup>1</sup>

### 1.3.2.2. Incidencia, prevalencia y mortalidad de cavidad oral en España

Según registro de Globocan de la Internacional Agency of Research of Cancer de la OMS, que divide localizaciones en cavidad oral y labio, en 2022 en España hubo 4003 casos nuevos, con una prevalencia a 5 años de 12.846 y una mortalidad de 1211 casos (1%).<sup>1</sup>

Incidence, Mortality and Prevalence by cancer site

Cancer	New cases				Deaths				5-year prevalence	
	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Prop. (per 100 000)
Colorectum	39 421	1	14.1	4.1	16 608	2	14.4	1.2	125 584	14.4
Breast	34 735	2	12.5	8.6	6 747	4	5.8	1.1	149 437	17.1
Prostate	32 967	3	11.8	9.0	6 217	5	5.4	0.82	130 196	15.9
Lung	30 041	4	10.8	3.5	23 297	1	20.2	2.6	37 425	4.3
Bladder	21 418	5	7.7	2.4	5 832	6	5.0	0.36	75 358	8.6
NHL	9 070	6	3.3	1.1	3 131	11	2.7	0.24	30 911	3.5
Pancreas	8 823	7	3.2	0.92	8 194	3	7.1	0.75	7 625	0.87
Kidney	8 686	8	3.1	1.1	3 074	12	2.7	0.27	28 621	3.3
Stomach	7 173	9	2.6	0.70	5 048	8	4.4	0.42	9 497	1.1
Corpus uteri	6 698	10	2.4	1.6	1 625	16	1.4	0.24	26 981	3.1
Liver	6 428	11	2.3	0.74	5 584	7	4.8	0.53	7 630	0.87
Leukaemia	5 976	12	2.1	0.63	3 617	9	3.1	0.27	17 814	2.0
Melanoma	5 870	13	2.1	0.72	1 084	19	0.94	0.10	23 156	2.7
Thyroid	5 233	14	1.9	0.78	314	25	0.27	0.03	21 223	2.4
Brain CNS	4 317	15	1.5	0.54	3 364	10	2.9	0.40	17 725	2.0
Lip, oral cavity	4 003	16	1.4	0.44	1 211	18	1.0	0.12	12 846	1.5
Ovary	3 455	17	1.2	0.87	2 136	13	1.8	0.42	11 122	1.3
Multiple myeloma	3 434	18	1.2	0.34	2 098	14	1.8	0.15	9 768	1.1
Larynx	3 042	19	1.1	0.40	1 227	17	1.1	0.13	10 897	1.2
Oesophagus	2 210	20	0.79	0.26	1 912	15	1.7	0.21	2 973	0.34
Cervix uteri	2 020	21	0.73	0.55	802	20	0.69	0.17	7 481	0.86
Testis	1 510	22	0.54	0.52	55	32	0.05	0.02	6 899	0.79
Hodgkin lymphoma	1 176	23	0.42	0.18	212	28	0.18	0.02	4 746	0.54
Oropharynx	1 103	24	0.40	0.16	589	21	0.51	0.08	3 629	0.42
Vulva	925	25	0.33	0.15	377	24	0.33	0.04	2 824	0.32
Gallbladder	707	26	0.25	0.06	428	23	0.37	0.03	765	0.09
Hypopharynx	670	27	0.24	0.09	296	26	0.26	0.04	1 483	0.17
Mesothelioma	595	28	0.21	0.07	499	22	0.43	0.05	722	0.08
Salivary glands	508	29	0.18	0.05	232	27	0.20	0.02	1 685	0.19
Penis	482	30	0.17	0.10	131	30	0.11	0.02	1 572	0.18
Nasopharynx	417	31	0.15	0.06	202	29	0.18	0.02	1 480	0.17
Kaposi sarcoma	293	32	0.11	0.04	40	33	0.04	0.00	937	0.11
All cancers	278 729	-	-	27.9	115 990	-	-	9.6	873 168	-
All cancers excl. NMSC	264 528	-	-	27.2	114 808	-	-	9.5	824 222	-

**Figura 17** Incidencia, Mortalidad y prevalencia por localización del tumor.<sup>1</sup>

Según el informe de la Red Española de Registro de Cáncer a 31 de Diciembre de 2020, que registra la cavidad oral junto a la faringe, la prevalencia total fue de 40.087 casos.<sup>7</sup>

Tipo tumoral	Prevalencia total		Prevalencia a 1, 3 y 5 años del diagnóstico		
	Totales	Tasa	< 1 año	< 3 años	< 5 años
Cavidad oral y faringe	40.087	173,3	5.176	12.992	18.266
Esófago	3.298	14,3	1.203	2.276	2.699
Estómago	15.599	67,4	3.111	6.759	8.887
Colon	126.241	545,6	14.782	39.153	55.988
Recto	65.643	283,7	7.549	19.625	28.776
Hígado	11.347	49,0	3.220	6.513	8.151
Vesícula biliar	3.099	13,4	925	1.782	2.191
Páncreas	4.064	17,6	2.071	3.262	3.644
Laringe	28.542	123,4	2.563	7.061	10.548
Pulmón	35.815	154,8	12.902	24.082	28.617
Melanoma de piel	38.873	168,0	2.370	6.637	9.735
Próstata	259.788	1.122,8	32.532	83.689	122.025
Testículo	30.569	132,1	1.286	3.790	6.236
Riñón (sin pelvis)	44.137	190,8	4.432	11.685	17.256
Vejiga urinaria	149.795	647,4	15.901	43.852	62.462
Encéfalo y SNC	6.290	27,2	1.365	2.670	3.431
Tiroides	17.857	77,2	1.066	2.998	4.742
Linfoma de Hodgkin	16.182	69,9	791	2.202	3.481
Linfomas no hodgkinianos	51.915	224,4	4.199	11.023	16.139
Mieloma	8.925	38,6	1.540	3.699	5.071
Leucemias	27.742	119,9	2.857	7.219	10.276
Otros	111.720	482,8	8.800	21.995	33.982
Todos (*)	1.066.959	4.611,4	129.355	321.174	456.366

**Figura 18** Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020, hombres. <sup>7</sup>

Tipo tumoral	Prevalencia total		Prevalencia a 1, 3 y 5 años del diagnóstico		
	Totales	Tasa	< 1 año	< 3 años	< 5 años
Cavidad oral y faringe	18.778	77,8	2.269	5.788	8.271
Esófago	925	3,8	294	536	665
Estómago	12.900	53,4	1.908	4.292	5.741
Colon	100.933	417,9	10.684	28.012	40.923
Recto	47.272	195,7	4.861	12.793	18.946
Hígado	2.982	12,4	942	1.783	2.195
Vesícula biliar	2.629	10,9	796	1.483	1.833
Páncreas	3.775	15,6	1.873	2.962	3.325
Laringe	3.419	14,2	356	941	1.407
Pulmón	16.870	69,9	5.116	10.160	12.526
Melanoma de piel	58.673	242,9	3.573	10.243	15.562
Mama	516.827	2.139,9	32.128	91.122	144.233
Cérvix uterino	39.758	164,6	1.805	5.011	7.605
Cuerpo uterino	83.099	344,1	6.351	17.321	26.748
Ovario	27.585	114,2	2.930	7.163	10.236
Riñón (sin pelvis)	22.187	91,9	1.881	5.128	7.871
Vejiga urinaria	32.692	135,4	3.691	9.719	14.134
Encéfalo y sistema nervioso	6.662	27,6	1.313	2.638	3.466
Tiroides	75.471	312,5	4.080	11.737	18.849
Linfoma de Hodgkin	12.757	52,8	609	1.710	2.722
Linfomas no hodgkinianos	48.143	199,3	3.668	9.847	14.913
Mieloma	7.382	30,6	1.130	2.786	3.883
Leucemias	25.461	105,4	2.085	5.349	7.627
Otros	50.717	210,0	5.378	13.000	19.336
Todos (*)	1.198.193	4.961,0	97.158	255.200	384.080

**Figura 19** Prevalencia total de cáncer (número de casos y tasas) y número de casos prevalentes a 1,3 y 5 años del diagnóstico. España 31 diciembre 2020, mujeres. <sup>7</sup>

La estimación de incidencias para este 2024 según el último informe de REDECAN en ambos sexos para cáncer cavidad oral y faringe sería de 7.603 nuevos casos.

TIPO TUMORAL	N	IC 95% (N)	TB	IC 95% (TB)	TAm	IC 95% (TAm)	Tae	IC 95% (TAe)	TAne	IC 95% (TAne)
<b>Cavidad Oral y Faringe</b>	<b>7.603</b>	<b>( 6646 - 8673 )</b>	<b>15,7</b>	<b>( 13,7 - 17,9 )</b>	<b>7,6</b>	<b>( 6,6 - 8,7 )</b>	<b>10,7</b>	<b>( 9,3 - 12,3 )</b>	<b>14,8</b>	<b>( 12,9 - 17 )</b>
Esófago	2.269	( 2026 - 2538 )	4,7	( 4,2 - 5,2 )	2,1	( 1,9 - 2,4 )	3,1	( 2,8 - 3,5 )	4,5	( 4 - 5,1 )
Estómago	6.868	( 6442 - 7324 )	14,2	( 13,3 - 15,1 )	5,8	( 5,4 - 6,2 )	8,6	( 8 - 9,2 )	13,3	( 12,5 - 14,2 )
Colon	29.648	( 27451 - 32004 )	61,3	( 56,7 - 66,2 )	24,5	( 22,7 - 26,4 )	36,7	( 34 - 39,6 )	57,8	( 53,4 - 62,5 )
Recto	14.646	( 13529 - 15833 )	30,3	( 28 - 32,7 )	13,4	( 12,4 - 14,5 )	19,5	( 18 - 21,1 )	28,6	( 26,4 - 31 )
Colorrectal	44.294	( 41829 - 46932 )	91,6	( 86,5 - 97 )	37,9	( 35,8 - 40,1 )	56,2	( 53,1 - 59,6 )	86,5	( 81,6 - 91,7 )
Higado	6.856	( 6114 - 7665 )	14,2	( 12,6 - 15,8 )	6,4	( 5,6 - 7,2 )	9,3	( 8,2 - 10,4 )	13,6	( 12,1 - 15,2 )
Vesícula biliar	2.358	( 2030 - 2746 )	4,9	( 4,2 - 5,7 )	1,7	( 1,4 - 2 )	2,6	( 2,3 - 3,1 )	4,5	( 3,8 - 5,2 )
Páncreas	9.986	( 9386 - 10624 )	20,6	( 19,4 - 22 )	7,9	( 7,4 - 8,4 )	11,9	( 11,2 - 12,7 )	18,9	( 17,8 - 20,1 )
Laringe	3.181	( 2787 - 3613 )	6,6	( 5,8 - 7,5 )	3,3	( 2,8 - 3,7 )	4,6	( 4,1 - 5,3 )	6,4	( 5,6 - 7,3 )
Pulmón	32.768	( 31137 - 34480 )	67,7	( 64,4 - 71,3 )	29,8	( 28,2 - 31,4 )	43,8	( 41,6 - 46,1 )	65,7	( 62,3 - 69,2 )
Melanoma de piel	7.881	( 6802 - 9118 )	16,3	( 14,1 - 18,8 )	8,9	( 7,6 - 10,3 )	11,9	( 10,2 - 13,7 )	15,3	( 13,2 - 17,7 )
Riñón (sin pelvis)	9.208	( 8005 - 10581 )	19,0	( 16,5 - 21,9 )	9,2	( 7,9 - 10,5 )	12,9	( 11,2 - 14,9 )	18,0	( 15,6 - 20,7 )
Vejiga urinaria	22.097	( 19526 - 24905 )	45,7	( 40,4 - 51,5 )	19,0	( 16,8 - 21,5 )	28,6	( 25,3 - 32,3 )	45,2	( 39,8 - 51,1 )
Encéfalo y sistema nervioso	4.419	( 3991 - 4882 )	9,1	( 8,2 - 10,1 )	5,3	( 4,7 - 5,9 )	6,6	( 6 - 7,3 )	8,6	( 7,8 - 9,6 )
Tiroides	6.344	( 6074 - 6631 )	13,1	( 12,6 - 13,7 )	9,0	( 8,6 - 9,4 )	11,0	( 10,6 - 11,5 )	12,3	( 11,8 - 12,9 )
Linfoma de Hodgkin	1.673	( 1532 - 1828 )	3,5	( 3,2 - 3,8 )	3,1	( 2,9 - 3,5 )	3,3	( 3 - 3,6 )	3,4	( 3,2 - 3,8 )
Linfomas no hodgkinianos	10.706	( 9656 - 11859 )	22,1	( 20 - 24,5 )	11,4	( 10,2 - 12,6 )	15,3	( 13,8 - 17 )	20,9	( 18,8 - 23,2 )
Mieloma	3.313	( 2978 - 3687 )	6,8	( 6,2 - 7,6 )	2,6	( 2,4 - 2,9 )	4,0	( 3,6 - 4,4 )	6,4	( 5,7 - 7,1 )
Leucemias	5.861	( 5042 - 6805 )	12,1	( 10,4 - 14,1 )	6,4	( 5,5 - 7,3 )	8,1	( 7,1 - 9,4 )	11,6	( 10 - 13,5 )
Otros	17.440	( 16283 - 18683 )	36,0	( 33,7 - 38,6 )	15,4	( 14,4 - 16,5 )	22,1	( 20,6 - 23,6 )	33,7	( 31,4 - 36,2 )
<b>Todos excepto piel no mel.</b>	<b>286.664</b>	<b>( 277861 - 296299 )</b>	<b>592,5</b>	<b>( 574,3 - 612,4 )</b>	<b>277,1</b>	<b>( 268,1 - 286,9 )</b>	<b>391,4</b>	<b>( 378,9 - 405,1 )</b>	<b>560,0</b>	<b>( 542,2 - 579,5 )</b>

TB: Tasa bruta. TAm: Tasa ajustada a la población estándar mundial. TAe: Tasa ajustada a la población estándar europea. TAne: Tasa ajustada a la nueva población estándar europea. IC95%:

Intervalo de credibilidad o de confianza al 95%

Esta tabla sólo incluye los principales tumores que se presentan en ambos sexos. Por lo tanto no incluye: próstata, testículo, mama, cuello uterino, cuerpo uterino y ovario. Aunque en la mama mas también se desarrollan y diagnostican cánceres, este tipo de cáncer es muy infrecuente por lo que los cánceres de la mama masculina se incluyen en la categoría "Otros".

Todas las tasas están expresadas por 100.000 habitantes y año.

**Figura 20** Proyecciones del número de casos incidentes de cáncer, tasa bruta y tasas ajustadas a la población mundial, europea y nueva europea por tipo de cáncer. Ambos sexos. España 2024.<sup>7</sup>

Según Globocan, en 2012 murieron en España un total de 2.070 personas por este grupo de cánceres de los que un 76% eran hombres. La tasa de mortalidad en hombres en España fue de 4,1 por 100.000 hombres mientras que en Europa fue de 5,6. En las mujeres las tasas de mortalidad fueron de 0,9 por 100.000 y de 1,2 por 100.000 respectivamente <sup>22</sup>

La supervivencia relativa a 5 años ajustada por edad del cáncer de cavidad oral y faringe de los pacientes diagnosticados en el periodo 2000-2007 en España, se situó en una posición intermedia en el contexto europeo. En hombres fue del 34,6% mientras que la media europea de 36,4%. En mujeres fue del 53,1% mientras que la media europea de 50,3%. <sup>23</sup>

### 1.3.2.3. Cáncer de cavidad oral en la Comunidad de Madrid (CAM)

Dado que nuestro estudio se realiza en un hospital de la comunidad de Madrid con población de esta comunidad es importante conocer los datos.

Los casos de cáncer de cabeza y cuello incluyendo labio, cavidad oral y faringe suponen el 2,34% de los cánceres de la Comunidad.<sup>8</sup>

	N	%
C00-C14 Labio, cavidad oral y faringe	841	2,34
C15-C26 Aparato digestivo	8151	22,66
C30-C39 Aparato respiratorio y órganos intratorácicos	4164	11,58
C40-C41 Huesos, articulaciones y cartilagos articulares	133	0,37
C42 Sistema hematopoyético y retículoendotelial	1996	5,55
C44 Piel	1652	4,59
C48-49 Retroperitoneo, peritoneo, tejido conjuntivo subcutáneo y otros tejidos blandos	392	1,09
C50 Mama	4954	13,77
C51-C58 Aparato genital femenino	2613	7,27
C60-C63 Aparato genital masculino	4577	12,73
C64-C68 Aparato urinario	3485	9,69
C69-C72 Ojo, encéfalo y otros SNC	1017	2,83
C73-C75 Tiroides y otras glándulas endocrinas	975	2,71
C77 Ganglios linfáticos	662	1,84
C80 Localización primaria desconocida	333	0,93
Otros: C47 y C76	20	0,06
<b>Total</b>	<b>35965</b>	<b>100</b>

**Figura 21** Número de casos según localización tumoral agrupada por secciones de IE-0. Total de casos.<sup>8</sup>

Si subclasificamos por localización según códigos de CIE 10, centrándonos en aquellas localizaciones de cavidad oral y labio, encontramos que en el año 2022 fueron registrados 61 tumores malignos de labio, 31 tumores malignos de encía, 40 tumores malignos de suelo de boca, 30 de paladar, 145 tumores de lengua y 87 de otras partes no específicas de la boca. No incluimos los codificados como base de lengua porque se englobaron dentro de orofaringe. El sumatorio de estos daría 394 nuevos casos registrados en el año 2020 en la Comunidad de Madrid de cavidad oral y labio.

	Total		Hombre		Mujer	
	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)
<b>C00-C14 Neoplasias de labio, cavidad oral y faringe</b>	<b>735</b>	<b>2,04</b>	<b>481</b>	<b>2,54</b>	<b>254</b>	<b>1,49</b>
C00. Tumor maligno del labio	61	0,17	42	0,22	19	0,11
C01X. Tumor maligno de la base de la lengua	45	0,13	38	0,20	7	0,04
C02. Tumor maligno de otras partes y de las no especificadas de la lengua	145	0,40	90	0,48	55	0,32
C03. Tumor maligno de la encía	31	0,09	15	0,08	16	0,09
C04. Tumor maligno del piso de la boca	40	0,11	24	0,13	16	0,09
C05. Tumor maligno del paladar	30	0,08	14	0,07	16	0,09
C06. Tumor maligno de otras partes y de las no especificadas de la boca	87	0,24	49	0,26	38	0,22
C07X. Tumor maligno de la glándula parótida	61	0,17	34	0,18	27	0,16
C08. Tumor maligno de otras glándulas salivales mayores y de las no especificadas	20	0,06	12	0,06	8	0,05
C09. Tumor maligno de la amígdala	56	0,16	40	0,21	16	0,09
C10. Tumor maligno de la orofaringe	46	0,13	38	0,20	8	0,05
C11. Tumor maligno de la nasofaringe	47	0,13	37	0,20	10	0,06
C12X. Tumor maligno del seno piriforme	32	0,09	25	0,13	7	0,04
C13. Tumor maligno de la hipofaringe	24	0,07	18	0,10	6	0,04
C14. Tumor maligno de otros sitios y de los mal definidos del labio, de la cavidad bucal y de la faringe	10	0,03	5	0,03	5	0,03

**Figura 22** Nº de casos según localización tumoral agrupada y por códigos de la CIE 10 por sexo. Total de casos. .<sup>8</sup>

De esos 841 casos, 3,8% debutaron con una localización in situ, 52,6% localizados, 35,7% con diseminación regional y 7 % con diseminación a distancia. En la tabla podemos además ver los diagnósticos divididos por localizaciones CIE.

	In Situ		Localizado		Regional		Diseminado, sistémico o metástasis a distancia		Desconocido		Total	
	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)
<b>C00-C14 Labio, cavidad oral y faringe</b>	<b>6</b>	<b>0,8%</b>	<b>384</b>	<b>49,9%</b>	<b>289</b>	<b>37,6%</b>	<b>86</b>	<b>11,2%</b>	<b>4</b>	<b>0,5%</b>	<b>769</b>	<b>100,0%</b>
C00 Labio	3	3,8%	68	86,1%	6	7,6%	1	1,3%	1	1,3%	79	100,0%
C01 Base de la lengua	0	0,0%	9	30,0%	19	63,3%	2	6,7%	0	0,0%	30	100,0%
C02 Otras partes y las no especificadas de la lengua	1	0,7%	96	65,8%	45	30,8%	4	2,7%	0	0,0%	146	100,0%
C03 Encías	0	0,0%	27	71,1%	8	21,1%	3	7,9%	0	0,0%	38	100,0%
C04 Suelo de la boca	0	0,0%	18	56,3%	11	34,4%	3	9,4%	0	0,0%	32	100,0%
C05 Paladar	0	0,0%	12	50,0%	8	33,3%	4	16,7%	0	0,0%	24	100,0%
C06 Otras partes y las no especificadas de la boca	1	1,3%	41	53,9%	26	34,2%	8	10,5%	0	0,0%	76	100,0%
C07 Glándula parótida	0	0,0%	37	67,3%	10	18,2%	7	12,7%	1	1,8%	55	100,0%
C08 Otras glándulas salivales	0	0,0%	13	52,0%	5	20,0%	7	28,0%	0	0,0%	25	100,0%
C09 Amígdalas	0	0,0%	14	23,0%	30	49,2%	17	27,9%	0	0,0%	61	100,0%
C10 Orofaringe	0	0,0%	16	26,7%	34	56,7%	9	15,0%	1	1,7%	60	100,0%
C11 Nasofaringe	0	0,0%	12	21,8%	32	58,2%	10	18,2%	1	1,8%	55	100,0%
C12 Seno piriforme	0	0,0%	3	11,5%	22	84,6%	1	3,8%	0	0,0%	26	100,0%
C13 Hipofaringe	1	2,6%	9	23,7%	21	55,3%	7	18,4%	0	0,0%	38	100,0%
C14 Otras localizaciones y las mal definidas de labio, cavidad bucal y faringe	0	0,0%	9	37,5%	12	50,0%	3	12,5%	0	0,0%	24	100,0%

**Figura 23** Nº de casos según estado de la enfermedad al diagnóstico por secciones y categorías de la CIE-0. Ambos sexos.<sup>8</sup>

Si analizamos globalmente el primer tratamiento del grupo de cavidad oral y labio en un 58,7% de los casos fue la resección quirúrgica, en un 15,3% radioquimioterapia, en un 11,2% fue el tratamiento sistémico y/o quimioterapia, un 5,5% la radioterapia, un 3% un tratamiento paliativo y un 0,6% inmunoterapia.

	Cirugía/ Resección quirúrgica		Tratamiento Sistémico y/o Quimioterapia		Radioterapia		Paliativo o únicamente sintomático		Hormonoterapia		Inmunoterapia		Radioquimioterapia		Trasplante		Otras terapias oncológicas		Vigilancia activa		Tratamiento sin fecha de inicio		Sin tratamiento		Tratamiento desconocido		Total	
	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)	N	% (*)
C00-C14 Labio, cavidad oral y faringe	426	55,4	104	13,5	57	7,4	29	3,8	1	0,1	6	0,8	108	14,0	0	0,0	2	0,3	7	0,9	19	2,5	9	1,2	1	0,1	769	100,0
C00 Labio	71	89,9	0	0,0	4	5,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	3,8	1	1,3	0	0,0	79	100,0
C01 Base de la lengua	13	43,3	4	13,3	3	10,0	3	10,0	0	0,0	0	0,0	7	23,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	30	100,0
C02 Otras partes y las no especificadas de la lengua	117	80,1	3	2,1	9	6,2	1	0,7	0	0,0	0	0,0	10	6,8	0	0,0	0	0,0	2	1,4	3	2,1	1	0,7	0	0,0	146	100,0
C03 Encías	27	71,1	3	7,9	1	2,6	5	13,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,6	1	2,6	0	0,0	38	100,0
C04 Suelo de la boca	22	68,8	4	12,5	2	6,3	2	6,3	0	0,0	0	0,0	2	6,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	32	100,0
C05 Paladar	15	62,5	4	16,7	2	8,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	8,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	4,2	0	0,0	24	100,0
C06 Otras partes y las no especificadas de la boca	53	69,7	6	7,9	5	6,6	5	6,6	0	0,0	2	2,6	3	3,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	2,6	0	0,0	0	0,0	76	100,0
C07 Glándula parótida	38	69,1	6	10,9	3	5,5	0	0,0	1	1,8	1	1,8	2	3,6	0	0,0	0	0,0	2	3,6	0	0,0	2	3,6	0	0,0	55	100,0
C08 Otras glándulas salivares	18	72,0	1	4,0	2	8,0	2	8,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	8,0	0	0,0	25	100,0
C09 Amígdala	13	21,3	17	27,9	3	4,9	3	4,9	0	0,0	2	3,3	19	31,1	0	0,0	0	0,0	2	3,3	1	1,6	1	1,6	0	0,0	61	100,0
C10 Orofaringe	18	30,0	10	16,7	9	15,0	2	3,3	0	0,0	0	0,0	17	28,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	6,7	0	0,0	0	0,0	60	100,0
C11 Nasofaringe	3	5,5	24	43,6	6	10,9	1	1,8	0	0,0	0	0,0	17	30,9	0	0,0	1	1,8	1	1,8	1	1,8	0	0,0	1	1,8	55	100,0
C12 Seno piriforme	6	23,1	4	15,4	1	3,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12	46,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	11,5	0	0,0	0	0,0	26	100,0
C13 Hipofaringe	8	21,1	10	26,3	4	10,5	4	10,5	0	0,0	1	2,6	10	26,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,6	0	0,0	0	0,0	38	100,0
C14 Otras localizaciones y las mal definidas de labio, cavidad bucal y faringe	4	16,7	8	33,3	3	12,5	1	4,2	0	0,0	0	0,0	7	29,2	0	0,0	1	4,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	24	100,0
C15-C26 Aparato digestivo	3671	54,0	1381	20,3	200	2,9	662	9,7	7	0,1	34	0,5	304	4,5	6	0,1	157	2,3	122	1,8	103	1,5	117	1,7	15	0,2	6801	100,0
C15 Esófago	32	14,3	85	37,9	14	6,3	27	12,1	0	0,0	0	0,0	54	24,1	0	0,0	2	0,9	0	0,0	8	3,6	2	0,9	0	0,0	224	100,0
C16 Estómago	285	37,0	281	36,5	17	2,2	95	12,3	0	0,0	4	0,5	6	0,8	0	0,0	14	1,8	22	2,9	19	2,5	26	3,4	1	0,1	770	100,0

Figura 24 Nº de casos según tipo de primer tratamiento por secciones y categorías de la CIE. Total de casos. <sup>8</sup>

### 1.3.3. Etiología y factores de riesgo

El carcinoma escamoso que afecta a la cavidad oral, tiene mucho que ver con los carcinomas de células escamosas emplazados en cualquier localización del tracto respiratorio y digestivo superior.

La etiología del cáncer escamoso de cavidad oral es multifactorial. Revisamos detalladamente la influencia de los factores principales.

#### - Tabaco:

En un amplio estudio internacional agrupado de casos y controles, únicamente el tabaquismo, entre los abstemios de alcohol, se asoció con un riesgo relativo de más del

triple, pudiendo llegar hasta multiplicarlo por seis veces para el desarrollo de carcinoma escamoso de cavidad oral en Europa y América del sur, con un riesgo algo menor en Asia del Sur y América del Norte. Estas diferencias pueden reflejar el nivel de carcinogénesis en los productos del tabaco vendidos dependiendo de regiones.

El riesgo de cáncer depende de la dosis, frecuencia, duración e intensidad de consumo (con  $p < 0,001$  para cada parámetro).<sup>24 25</sup>

La exposición se mide en paquetes de cigarrillos por año y multiplica por 1,5 con un consumo de <10 paquetes al año alcanzando un máximo de 4 veces para aquellas personas que consuman más de 30 paquetes al año.<sup>26</sup>

#### **- Alcohol:**

El alcohol, solo en las personas que no consumen tabaco, imparte un riesgo para desarrollo de cáncer escamoso de cavidad oral solo cuando se alcanza un umbral de >15 unidades por semana, multiplicándose por 3.<sup>27</sup>

El consumo combinado de alcohol y tabaco en el mismo individuo transmite un grado multiplicado o sinérgico de riesgo de hasta 13 veces.<sup>28 29</sup> Entre las personas que fuman dos o más paquetes de cigarrillos y también bebe más de cuatro bebidas alcohólicas por día, el riesgo de HNC es aumentado más de 35 veces.<sup>30</sup>

#### **- Edad, sexo:**

El sexo masculino sigue presentando un riesgo de 2,6 mayor de desarrollo de carcinoma escamosos de cavidad según datos del *Global Cancer Observatory* a diciembre de 2022.<sup>1</sup>

Esta diferencia está relacionada en parte al mayor consumo de tóxicos como alcohol o tabaco.<sup>31</sup>

Pero como en los otros cánceres relacionados con el tabaco, la razón entre la incidencia de cáncer en hombres y mujeres descendió (6,8 en el periodo 1993-1997 y 4,0 en el periodo 2003-2007).<sup>7</sup>

La incidencia también aumenta con la edad con la mayor concentración en la 6ª y 7ª década de la vida, multiplicándose el riesgo por 6 si separamos a la población en menores o mayores de 65. <sup>32</sup>

**- Nivel socioeconómico:**

Indicadores de bajo nivel socioeconómico como bajo nivel educativo o ingresos, están fuertemente asociados con una mayor incidencia de cáncer escamosos de cavidad oral independientemente del tabaco y alcohol. <sup>33 34</sup>

**- Inmunosupresión:**

El estado de inmunosupresión secundario a un trasplante o infección como VIH, está asociada a una mayor incidencia de cáncer de cabeza y cuello en 2 a 5 veces, aumentando hasta 10 en el caso del labio. <sup>35 36 37</sup>

**- Virus del Papiloma Humano:**

El virus del papiloma humano (VPH) es una enfermedad de transmisión sexual, que se ha demostrado que tiene capacidad de tumorigénesis en los tejidos epiteliales humanos. En la localización de cabeza y cuello fundamentalmente ocurre dentro de la orofaringe en los tejidos linfoepiteliales de la mucosa escamosa reticulada de las criptas de las amígdalas linguales, palatinas y adenoides. Dos oncoproteínas virales (E6 y E7), son capaces de transformar queratinocitos de las vías respiratorias superiores o genitales y alterar sus vías de regulación del ciclo celular (vía del p53 pRb, TP16 o ciclina D).

El tipo viral asociado con el desarrollo de carcinoma escamoso de cabeza y cuello (especialmente orofaríngeo) es el VPH 16 y en menor frecuencia 18,31 y 33.

La incidencia de carcinoma epidermoide cabeza y cuello asociado a VPH, ha aumentado dramáticamente en las últimas décadas, con aproximadamente 38.000 casos diagnosticados globalmente cada año. <sup>38 39 40</sup>

Chakravarthy et al., en su análisis encontró que 4% de los carcinomas escamosos de cabeza y cuello que ocurren en sitios no orofaríngeos, pueden mostrar transcripciones de VPH. Fundamentalmente en la cavidad oral, laringe e hipofaringe.<sup>41</sup>

En un estudio de casos y controles la presencia de VPH en la cavidad oral, se asoció con un mayor riesgo de cáncer de cavidad oral u orofaringe ([OR] 4 3,7; 95% de confianza intervalo [IC] 4 1,5–9,3), independiente de la exposición al tabaco y alcohol).<sup>42</sup>

Además, los carcinomas VPH positivos presentan un mejor pronóstico con mejor respuesta al tratamiento y tanto la supervivencia global, como la libre de enfermedad, mejora en más del 50% incluso después del ajuste por edad.<sup>43 44</sup> La octava edición de la *American Joint Commission on Cancer (AJCC 8th)* ha incluido un sistema de estadiaje para el cáncer de orofaringe que refleja ese buen pronóstico.

#### **- La nuez de Betel o de Areca:**

Los pacientes con hábito de mascar nuez de betel o de Areca, de uso extendido en el sudeste asiático, se ha asociado con el desarrollo de lesiones premalignas orales como la fibrosis submucosa oral y leucoplasia, con potencial de transformación maligna por sustancias cancerígenas entre las que se encuentra la arecolina. Además, se ha visto un peor pronóstico entre los masticadores y no masticadores.<sup>5 45</sup>

#### **-CECO en ausencia de exposición carcinógena conocida**

Los pacientes con CECO que no han consumido tabaco o alcohol son en su gran mayoría mujeres (>70%). Es frecuente presentar la enfermedad en edad temprana y las localizaciones más típicas son la lengua, el reborde maxilar y la mucosa oral.<sup>46 47</sup>

Se ha reportado un incremento en la incidencia de cáncer de borde lingual en mujeres blancas menores de 40 años de 111% entre 1975 y 2007, mientras que la incidencia en todas las demás localizaciones y subpoblaciones están disminuyendo.<sup>48</sup>

Los tumores que surgen en el borde lateral lingual, se asocian en ocasiones con hiperqueratosis persistentes, con displasia leve o moderada o enfermedades

inflamatorias crónicas como el liquen plano que afecta a 1-2% de la población adulta. La tasa de transformación maligna del LP es <2%.

Siguiendo la patogenia del liquen plano, la etiología autoinmune puede postularse como fenómeno más amplio de CECO en pacientes sin otros factores de riesgo. La inflamación crónica, provoca una alta tasa de renovación celular y proliferación en un entorno de citoquinas alteradas y especies de oxígeno reactivo, las cuales contribuyen al inicio de lesiones malignas.<sup>49</sup>

Existe evidencia de predisposición genética para el cáncer de lengua en la anemia de Fanconi, una enfermedad genética hereditaria que produce una insuficiencia en la médula ósea y predisposición al desarrollo de tumores sólidos hematológicos.<sup>50</sup>

#### **1.3.4. Patogénesis, histología y patrones de propagación**

##### **1.3.4.1. Histopatología del tumor**

La superficie de la cavidad oral está tapizada por una mucosacuya estructura varía por localizaciones dependiendo de su función. La mucosa oral se compone de un epitelio plano escamoso estratificado no queratinizado y una capa de tejido fibrocolagenoso llamada lámina propia.

El 90% de los cánceres de la cavidad oral son carcinomas epidermoides.<sup>51</sup>

Por ello y dado que nuestro estudio tiene como criterio de inclusión un diagnóstico histológico de carcinoma epidermoide, nos vamos a centrar únicamente en esta entidad.

El CECO se origina a partir de queratinocitos no aberrantes del epitelio, que están expuestos crónicamente a un estímulo que rompe su homeostasis.<sup>52</sup>

Los primeros cambios clínicos detectables que se pueden advertir de un epitelio en su camino hacia el establecimiento de un CECO, son potencialmente la aparición de trastornos premalignos, como leucoplasia y eritroplasia.<sup>53</sup>

La leucoplasia es un término clínico y la lesión no tiene una histología específica.<sup>54</sup>

La OMS definió la leucoplasia oral por primera vez en 1978 y posteriormente se revisó en 2005, quedando la definición como “término utilizado para reconocer placas blancas de dudoso riesgo, habiendo excluido (otras) enfermedades conocidas o trastornos que no conllevan un mayor riesgo de cáncer”.

En este cambio histológicamente se producen varios cambios epiteliales reactivos como hiperplasia, hiperqueratosis y acantosis. Puede o no demostrar displasia epitelial. Es decir, presenta una variable patrón de comportamiento, pero con una tendencia evaluable a transformación maligna. Se ha evaluado un riesgo de 1% de transformación maligna de estas lesiones, aunque en muchas ocasiones pueden ocurrir en el contexto de un traumatismo o irritación local, en ausencia de progresión maligna.<sup>53 55 56</sup>

La eritroplasia se define como una placa roja que no puede caracterizarse clínica o patológicamente como otra enfermedad.<sup>53</sup> Tienen un alto potencial maligno. Si se produce una mezcla de cambio de rojo y blanco, las lesiones se denominan eritroleucoplasia.

Es esencial hacer una distinción entre lesiones displásicas y no displásicas.

El término displasia se refiere a lesiones precursoras de displasia epitelial que muestran combinaciones citológicas y grados de atipia (por ejemplo, hiperchromatismo, aumento del tamaño del núcleo, pleomorfismo, disqueratosis, figuras mitóticas anormales o aumento de la mitosis). La displasia se subdivide en:

- Leve: si se producen alteraciones en los queratinocitos basales o parabasales.
- Moderada: cuando la atipia que se encuentra en el nivel medio.
- Severa o carcinoma in situ: cuando los cambios se extienden a la capa superficial.<sup>57</sup>

Por lo que en general, si una lesión en la mucosa oral no cicatriza en tres semanas, se debe descartar un tumor maligno o alguna otra condición grave. Se debe realizar una biopsia y su análisis histopatológico consecuente.<sup>58</sup>

Las características anatómicas de diferentes regiones dentro de la cavidad oral afectan al patrón de crecimiento tumoral y su propagación posterior.

Los distintos patrones de crecimiento tumoral caracterizan las subclases de CECO que podemos dividir en:

- Carcinoma de Células Escamosas Convencional.
- Carcinoma verrucoso.
- Carcinoma de Células Escamosas Basaloide.
- Otros como: carcinoma de células fusiformes, el papilar, el carcinoma adenoescamoso, el acantolítico y el carcinoma cuniculatum.<sup>55</sup>

La clasificación de la OMS es esencialmente histológica y extremadamente limitada.

Está basada en la clasificación histopatológica introducida por primera vez por Broders et al para carcinoma de células escamosas de labio.<sup>60</sup>

Esta clasificación divide a los tumores bien diferenciados (G1), moderadamente diferenciados(G2) y pobremente o indiferenciados(G3). El grado de "diferenciación" se evalúa subjetivamente términos de queratinización, pleomorfismo celular, actividad mitótica y aberraciones nucleares. Los tumores bien y moderadamente diferenciados se pueden agrupar como tumores de bajo grado y mal diferenciados y no diferenciados como de alto grado.<sup>61 62</sup>

Más tarde, otras clasificaciones más complejas fueron sugeridas por Jakobsson et al.

Anneroth et al. y Bryne et al.<sup>63 64 65</sup> Estos sistemas multifactoriales consideran características del tumor per se (por ejemplo, diferenciación), pero también de la interfaz del tumor con el huésped (patrones de invasión) y reacciones del huésped (respuesta inflamatoria). Formularon el concepto de favorable o cohesivo y desfavorable o no cohesivo de invasión.<sup>66</sup>

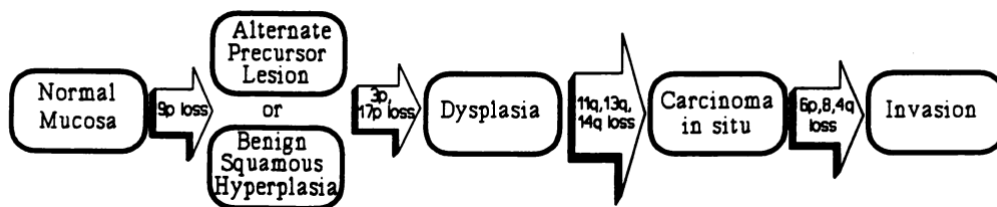
Curiosamente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) no apoyó estos sistemas multifactoriales. De hecho, la edición actual de la clasificación de tumores de cabeza y cuello sigue apoyando un sistema de clasificación simple, basado en los criterios de Broders y simplemente reconoce las variantes bien, moderadamente y poco diferenciadas de los COCE convencionales, aunque reconocen que "la clasificación por sí sola no se correlaciona bien con pronóstico".<sup>67</sup> En los últimos tiempos se tiende a

recomendar, que se complemente la clasificación añadiendo la evaluación del patrón de invasión, ya que la capacidad de hacer metástasis está directamente asociada con el grado de diferenciación tumoral de las células cancerosas.<sup>68</sup> Por tanto, es fundamental que una biopsia incisional sea de tamaño y profundidad suficientes para incluir parte del frente de avance del tumor.

A día de hoy, se conoce que el cáncer es una enfermedad compleja caracterizada por una importante heterogeneidad genética, los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello también pueden clasificarse según su perfil de expresión génica como "basal", "mesenquimatoso", "atípico" y "clásico". El subtipo atípico incluyó la mayoría de los cánceres positivos para el VPH. Estos subtipos, agregados al estado de infección por VPH, se han validado utilizando conjuntos de datos independientes en los informes del Atlas del Cáncer del Genoma (TGCA).<sup>69</sup> El estudio TGCA representa el análisis genómico integrativo más completo de los cánceres epidermoides de cabeza y cuello.

### 1.3.4.2 Bases moleculares del cáncer oral

Las lesiones malignas de la mucosa oral, surgen de una región poblada por células alteradas de forma clonal, fenómeno conocido como campo de cancerización, ya descrito en 1953 por Slaughter et al. pero desarrollado posteriormente a nivel molecular por Califano en 1996.<sup>70 71</sup> Quien propuso el primer modelo que asociaba las alteraciones genéticas con los cambios morfológicos observados en el epitelio escamoso.



**Figura 25** Progresión genética del CECO asociados a la progresión histopatológica.<sup>71</sup>

El CECO se considera un tumor complejo y muy heterogéneo, incluso para aquellos que muestran similitudes clínicas y patológicas. Esta heterogeneidad es causada por distintas alteraciones genéticas y moleculares, resultando en tumores con un conjunto único de genes mutados, alteraciones epigenéticas, alteración de procesos biológicos, cambios metabólicos y, finalmente, el comportamiento clínico.

Hasta la fecha la mayoría de las alteraciones genómicas no muestran utilidad clínica, pero la comprensión del panorama genético y molecular puede ayudar en el desarrollo de terapias dirigidas y puede aportar conocimientos en la identificación de tumores más agresivos, que pueden beneficiarse de enfoques terapéuticos más específicos.

Una de las mayores iniciativas hasta la fecha es el Atlas del genoma del cáncer (TCGA), que está demostrando ser una fuente esencial de conocimiento, con cientos de artículos que exploran los genes mutados más comunes en CECO incluyendo TP53, TTN (titina), CDKN2A/p16, FAT1 (FAT cadherina 1 atípica), NOTCH1, CASP8, mMUC16 (mucina 16) y PIK3CA.<sup>72</sup>

A día de hoy, se conoce que el desarrollo y comportamiento de los tumores malignos incluyendo el cáncer de cavidad oral, es un proceso secuencial con base genética o ambiental, que produce una serie de cambios moleculares cada vez más documentados.

El cáncer es el resultado de una acumulación gradual progresiva de alteraciones genéticas que produce una población clonal de células transformadas.

Los cambios oncogénicos en los perfiles de expresión génica contribuyen a alteraciones microambientales alrededor de estos clones tumorales, de ahí la denominación de Microambiente tumoral (TME; Tumor Microenvironment). Esto conlleva unas interacciones complejas entre una comunidad de células heterópicas, caracterizadas por el tejido canceroso original, el tejido recién formado y las células que lo rodean.<sup>68</sup>

El microambiente tumoral del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello está compuesto por fibroblastos asociados al cáncer, células inmunitarias y otras células de apoyo.

Los queratinocitos normales de la mucosa oral están expuestos crónicamente a factores de riesgo, los cuales pueden romper la homeostasis y generar inestabilidad genética.

Las alteraciones genéticas afectan a las vías fisiológicas clave, que controlan funciones como la proliferación celular, la reparación del ADN, la neoangiogénesis, la motilidad y la metástasis. Esto conlleva una inactivación de genes supresores de tumores y activación de protooncogenes que confieren a las células la ventaja proliferativa y de supervivencia. Las alteraciones genéticas clave ocurren sobre el TP53 según recientes publicaciones en más de un 50% de los casos. <sup>73</sup>

Los clones tumorales secretan una serie de factores como VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular), CXCL1 (quimiocina ligando 1), CXCL8 (ligando 8 de quimiocina), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), IL-8 (interleucina 8), FGF-2 (factor de crecimiento de fibroblastos 2), TGF- $\beta$  (factor de crecimiento transformante  $\beta$ ), TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral- $\alpha$ ), IL-1 (interleucina 1), GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos). <sup>68</sup>

Este microambiente tumoral promueve la pérdida de adhesión celular, facilita la transición mesenquimatoso del epitelio, se suprime la respuesta inmune adaptativa, se promueve la proliferación y supervivencia de las células endoteliales (las cuales producen factores como ECGF, que aumentan la migración). <sup>74</sup>

Los clones tumorales utilizan el metabolismo glucolítico y oxidativo, para alimentar la génesis del tumor a través de mecanismos que se acoplan entre las regiones de las células cancerosas. <sup>75</sup>

La vía PD-1/PD-L1 es un mecanismo clave de escape inmunitario utilizado por las células tumorales. Los agentes anti-PD1/PD-L1 bloquean la señalización inmunosupresora de los tumores y potencian la unión antitumoral de la respuesta inmune. <sup>76</sup>

Este mecanismo de proliferación neoplásica se manifiesta en una serie de cambios histológicos de la mucosa normal, que tras el paso por unas fases intermedias de hiperplasia, displasia y carcinoma in situ, acaban desarrollando un carcinoma invasivo

que destruye localmente la membrana basal subepitelial como se observa en la figura 27.<sup>68</sup>

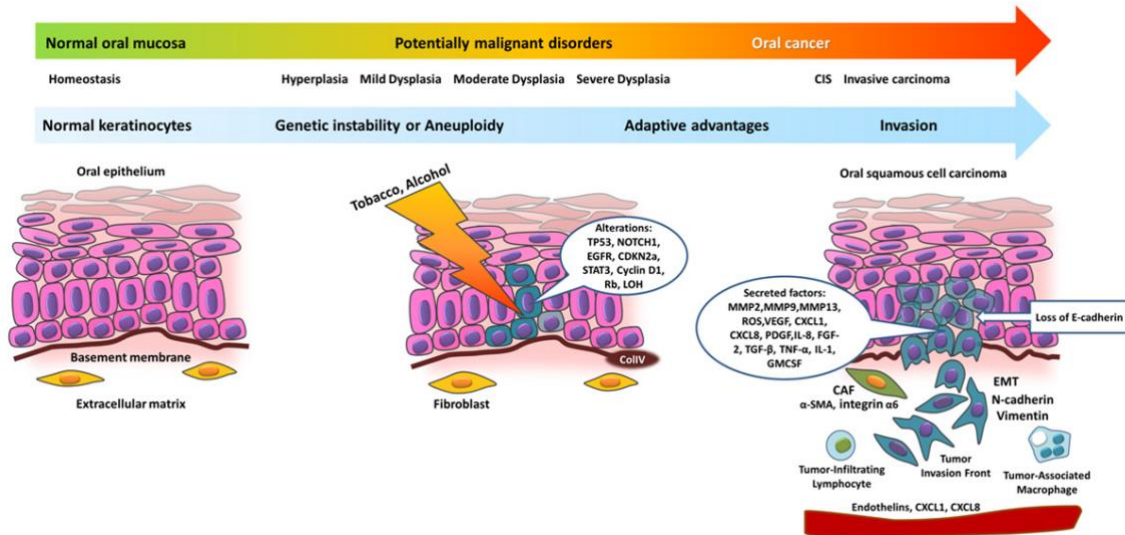


Figura 26 Cambios histológicos de la mucosa normal<sup>68</sup>

Toda esta línea de investigación está llevando a la búsqueda de biomarcadores para el cáncer. A día de hoy la herramienta clínica más usada para ello es a través de la IHQ. Cientos de estudios están explorando el potencial de las proteínas aisladas, o grupos relacionados con un fenotipo específico o una vía. Los que alcanzan resultados más prometedores, pero aún no suficientes para su aplicación clínica, son p53, Ki-67, ciclina D1 o p16.

### 1.3.5. Clínica

Las manifestaciones clínicas del cáncer oral van a depender de la localización de la lesión y del estadio evolutivo en el momento del diagnóstico.

Cuando la lesión afecta a la porción anterior de la cavidad oral, en concreto los dos tercios anteriores de la lengua y porción anterior del suelo de la boca, el síntoma principal, suele ser la presencia de una úlcera, a menudo puede ser indolora inicialmente.

El crecimiento progresivo del tumor, lleva a la afectación de otras estructuras anatómicas y a la aparición de nueva sintomatología como otalgias (por la relación del

nervio lingual con el nervio cuerda del tímpano), hipersalivación, fetor, limitación movilidad lingual, alteraciones fonatorias y deglutorias e hipoestesia de los nervios linguales y mentonianos.

Su aspecto macroscópico es casi siempre ulcerativo y con menor frecuencia exofítico o con formas mixtas, pero en todo caso son siempre lesiones infiltrativas. En general, las características clínicas de la lesión, son suficientes para indicar la necesidad de una biopsia con el fin de establecer un diagnóstico histológico.

Tumores con características clínicamente agresivas es probable que el crecimiento endofítico se correlacione histológicamente con una mala diferenciación, patrón de diseminación no cohesivo, perineural e invasión linfovascular y es más probable que hagan metástasis temprano.<sup>77</sup> El reborde alveolar, suelo de boca y trigono retromolar penetran en el hueso directamente a través del punto de unión de las fibras de Sharpey a la corteza.<sup>78</sup>

En cuanto a la localización, los dos tercios anteriores de la lengua (borde ventral-lateral, 40% de los casos), el suelo de la boca (30% de los casos) y labio inferior, son las localizaciones más habituales de los carcinomas epidermoides primarios de la cavidad oral en el mundo occidental.<sup>79 80</sup> La lengua es la localización con mayor mortalidad según un análisis reciente de Base de datos de vigilancia, epidemiología y resultados finales (SEER).<sup>81</sup>

El trigono retromolar y la mucosa oral son, sin embargo, las localizaciones primarias más frecuentes en aquellas partes del mundo donde están más extendidos los hábitos de masticar tabaco y nuez de betel.<sup>82 83 84</sup>

### **1.3.6. Evaluación diagnóstica y estadificación clínica**

#### **1.3.6.1. Diagnóstico**

La mayoría de las neoplasias malignas orales se diagnostican en una etapa tardía, lo que resulta en una alta tasa de mortalidad para pacientes con cáncer oral. Por lo tanto, el diagnóstico precoz es clave de cara a aumentar la supervivencia y calidad de vida del paciente.

A continuación, indicamos los diferentes pasos a realizar en este proceso diagnóstico, siempre posterior a haber iniciado el proceso con una buena historia clínica, incluyendo hábitos tóxicos y sexuales.

### **Examen visual e histopatológico.**

La cavidad bucal es de fácil acceso y exploración.

El examen visual ayuda a identificar las características clínicas en una persona asintomática, lo que lleva a un diagnóstico más temprano y mejor tratamiento.<sup>85 86</sup>

El examen físico debe ser metódico, con especial atención a la zona de la cabeza y el cuello a través de una inspección, examen indirecto con espejo, endoscopia directa y palpación de sitios primarios y cuello.<sup>87</sup>

También se debe evaluar la funcionalidad de la masticación, deglución, fonación y respiración.

Siempre es necesario también, hacer un examen odontológico así como un estudio del estado nutricional del paciente, dada la dificultad en la masticación y deglución que les puede llevar a la pérdida de peso.

A esta exploración puede estar indicado añadir evaluaciones especiales si es necesario: psicológicas y sociales. Porque muchos de estos pacientes pueden ser fumadores y presentar una dependencia alcohólica.

Para confirmar el CECO, se debe realizar diagnóstico histopatológico a través de la biopsia del tumor.<sup>88</sup> La biopsia se puede obtener mediante resección quirúrgica o punción y aspiración con aguja fina.<sup>89 90</sup> Las biopsias se analizan histopatológicamente, utilizando tinción con Hematoxilina y Eosina (H&E) para identificar las características morfológicas, con cambios en el tejido para diagnosticar un tumor.

Para explorar la extensión del tumor, el diagnóstico por imágenes es necesario. Hay cierta controversia de la cronología a la hora de realizar las pruebas de imagen antes o después de la biopsia. Es evidente la afirmación de que el diagnóstico por imagen antes de una gran biopsia, evita falsos diagnósticos a partir de distorsión de la anatomía y

visualiza en toda su extensión el tumor. <sup>15</sup> Pero si esto retrasa el diagnóstico puede no ser lo más adecuado debido a los tiempos de procesamiento de las muestras.

De las pruebas de imagen indicadas, probablemente la más usada sea la Tomografía Axial Computarizada (TAC) cervical y, en segundo lugar, la Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

La RMN es superior a la TAC para la evaluación de la lengua, extensión perineural, invasión de la base del cráneo y extensión intracraneal.

En estadios iniciales a priori no sería necesario hacer un estudio de extensión si se confirma la no extensión regional (cN0).

En estadios avanzados o necesidades especiales, se requeriría realizar un TAC de tórax o radiografía en fases tempranas o incluso la realización de una tomografía por emisión de positrones-TAC (PET-TAC), actualmente la prueba de referencia ante estadios avanzados dado su utilidad de cara al diagnóstico de los ganglios (N), metástasis (M) y sincrónicos de tumores primarios. <sup>91</sup>

Esta indicado la biopsia del ganglio si hay dudas sobre su malignidad. Se realiza punción con aguja fina o gruesa, pero en muchos casos es preferible la resección ganglionar completa para prevenir diseminación metastásica extracapsular.

### **1.3.6.2. Estadificación**

El *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* y la *International Union Against Cancer (UICC)* desarrollaron el sistema TNM para clasificar la enfermedad por localizaciones y así poder determinar el tratamiento necesario. <sup>15</sup>

El sistema TNM de estadificación del cáncer refleja la extensión del tumor en todo el cuerpo y se basa en la evaluación del tamaño del tumor primario (T), compromiso de los ganglios linfáticos locorreregionales (N) y metástasis a distancia (M).

Esta clasificación es importante para el tratamiento, planificación, estimación del riesgo de recurrencia y evaluación de la supervivencia general. Sin embargo, este sistema, sólo

considera la extensión anatómica de la enfermedad y no de los otros factores pronósticos, como la comorbilidad o tratamiento.<sup>92</sup>

La información obtenida del examen clínico y las pruebas de imágenes, nos permite asignar un estadio clínico (cTNM) y posteriormente con ello estratificar a los pacientes para la selección de tratamientos.<sup>68</sup>

Si el paciente se somete a una resección quirúrgica, su estadio pasa a ser el patológico. El estadio patológico (pTNM) derivado de la histopatología tumoral y/o de los ganglios linfáticos regionales, es útil en la selección de la terapia adyuvante postoperatoria y para estimar el pronóstico.<sup>93</sup>

La *International Union Against Cancer* (UICC) publicó la primera edición del TNM en 1968, mientras que el *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) publicó su primer manual de estadificación en 1977. Las ediciones posteriores se sincronizaron.

El manual de la séptima edición se publicó en 2009, vigente hasta el 2016.

**Tabla 1 Séptima edición TNM**

## Tumor primario (T)

TX	Datos insuficientes para evaluar el tumor primario
T0	No evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ (CIS)
T1	Tumor ≤ 2 cm
T2	Tumor >2 cm ≤ 4 cm-
T3	Tumor >4 cm
T4a	<b>Enfermedad local moderadamente avanzada.</b> Tumor >4 cm Labio: el tumor invade el hueso cortical, el nervio alveolar inferior, el suelo de la boca o la piel (mentón o nariz). Cavidad oral: el tumor invade a través del hueso cortical hasta el músculo profundo / extrínseco de la lengua (geniogloso, hiogloso, palatogloso y estilogloso), el seno maxilar o la piel de la cara. Nota: La erosión superficial del hueso alveolar por un tumor primario de encía adherida no se considera T4.
T4b	<b>Enfermedad local muy avanzada.</b> Labio y cavidad oral: el tumor invade el espacio masticatorio, pterigoides, base del cráneo; o recubre la arteria carótida interna

## Ganglios linfáticos regionales (N)

NX	Los ganglios linfáticos regionales no pueden evaluarse
N0	No hay evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales
N1	Metástasis en un único nódulo ipsilateral ≤ 3 cm
N2	<b>N2a</b> Metástasis en un solo ganglio ipsilateral 3–6 cm <b>N2b</b> Metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales <6 cm <b>N2c</b> Metástasis en ganglios contralaterales o bilaterales <6 cm
N3	Metástasis en un ganglio único >6cm

### Metástasis a distancia (M)

<M	Datos insuficientes para evaluar las metastasis a distancia
M0	No evidencia de metástasis a distancia
M1	Evidencia de metástasis a distancia

### Estadios clínicos (TNM)

0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3 T2 ó T1	N0 ó N1 N1	M0 M0
IVA	T4a T1, T2 ó T3	N0, N1, N2 N2	M0 M0
IVB	Any T T4b	N3 Any N	M0 M0
IVC	Any T	Any N	M1

En 2017, se publicó la octava edición del manual. Introdujo dos cambios importantes para el CECO: la incorporación de la profundidad de invasión del tumor (Deep Of Invasion, DOI) en el estadio T y la incorporación de extensión extracapsular (ECS) en el estadio N.<sup>94</sup>

**Tabla 2 Octava edición TNM**

## Tumor primario (T)

TX	Datos insuficientes para evaluar el tumor primario
T0	No evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ (CIS)
T1	Tumor $\leq 2$ cm, DOI $\leq 5$ mm
T2	Tumor $>2$ cm $\leq 4$ cm-DOI $\leq 10$ mm ó Tumor $\leq 2$ cm-and DOI $>5$ mm $\leq 10$ mm
T3	Tumor $>4$ cm, DOI $\leq 10$ mm Tumor $>2$ cm $\leq 4$ cm, DOI $>10$ mm
T4a	<b>Enfermedad local moderadamente avanzada.</b> Tumor $>4$ cm, DOI* $>10$ mm Labio: el tumor invade el hueso cortical, el nervio alveolar inferior, el suelo de la boca o la piel (mentón o nariz). Cavidad oral: el tumor invade a través del hueso cortical hasta el músculo profundo / extrínseco de la lengua (geniogloso, hiogloso, palatogloso y estilogloso), el seno maxilar o la piel de la cara. Nota: La erosión superficial del hueso alveolar por un tumor primario de encía adherida no se considera T4.
T4b	<b>Enfermedad local muy avanzada.</b> Labio y cavidad oral: el tumor invade el espacio masticatorio, pterigoides, base del cráneo; o recubre la arteria carótida interna

## Ganglios linfáticos regionales (N)

NX	Los ganglios linfáticos regionales no pueden evaluarse
N0	No hay evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales
N1	Metástasis en un único nódulo ipsilateral $\leq 3$ cm y ENE-
N2	<b>N2a</b> Metástasis en un solo ganglio ipsilateral 3-6 cm y E <b>N2b</b> Metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales $<6$ cm y ENE- <b>N2c</b> Metástasis en ganglios contralaterales o bilaterales $<6$ cm y ENE-
N3	<b>N3a</b> Metástasis en un ganglio único $>6$ cm y ENE - <b>N3b</b> Metástasis en un ganglio único ipsilateral, varios ipsilateral, contralaterales o bilaterales de cualquier tamaño y ENE+

### Metástasis a distancia (M)

<M	Datos insuficientes para evaluar las metástasis a distancia
M0	No evidencia de metástasis a distancia
M1	Evidencia de metástasis a distancia

### Grados histológicos (G)

GX	Datos insuficientes para evaluar
G1	Bien diferenciado
G2	Poco diferenciado
G3	Poco diferenciado

### Estadios clínicos (TNM)

0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3 T2 ó T1	N0 ó N1 N1	M0 M0
IVA	T4a T1, T2 ó T3	N0, N1, N2 N2	M0 M0
IVB	Any T T4b	N3 Any N	M0 M0
IVC	Any T	Any N	M1

### 1.3.7. Factores pronósticos y predictivos

La estratificación del riesgo y la predicción de la supervivencia del CECO, dependen fundamentalmente de parámetros clínicos e histopatológicos, como el tamaño del tumor, el estadio ganglionar o las metástasis a distancia (estadificación clínica TNM) además de la evaluación histológica de la invasión perineural, linfovascular, el estado del margen, el grado histológico, el espesor tumoral o la invasión extracapsular del ganglio.

Arora et al. evaluó la importancia pronóstica de múltiples características, incluyendo estadio T, grado del tumor, gemación del tumor, grosor del tumor, profundidad de invasión, forma de los nidos tumorales, respuesta linfoide en el tumor, el patrón de invasión, reacción eosinofílica, reacción de células gigantes a cuerpo extraño, invasión linfovascular e invasión perineural.<sup>96</sup> Informaron que, en análisis univariante y multivariante, siete de estas fueron variables independientes para predecir la diseminación linfática. En orden descendente, estas fueron la profundidad de la invasión. (P = 0,003), patrón de invasión (P = 0,007), invasión perineural (P = 0,014), grado de diferenciación (P = 0,028), invasión linfovascular (P = 0,038), respuesta linfoide (P = 0,037) y gemación del tumor (P = 0,039).

Recientemente en la bibliografía encontramos nuevos parámetros histológicos determinantes para el pronóstico de CECO. Estos incluyen el crecimiento tumoral o *tumor budding tumoral* (TB), el patrón de invasión o *worst pattern of invasion* (WPOI), el ratio del estroma tumoral o *tumor-stroma ratio* (TSR) y la puntuación global de linfocitos infiltrantes de tumores o *overall score of tumor-infiltrating lymphocytes* (TIL).<sup>97</sup>

La presencia de alto TB se ha asociado con peor supervivencia de muchos tumores sólidos. El TB representa la capacidad de multiplicación celular y la actividad invasión de células tumorales en la zona frontal invasiva.<sup>98</sup> De manera similar, WPOI también se ha asociado con características clínico-patológicas y pronósticas. La evaluación de TSR, que representa la cantidad de tumores asociados al estroma, se ha informado como un parámetro de pronóstico para muchos tumores sólidos, incluido el CECO. La TSR puede considerarse como el primer biomarcador del microambiente tumoral, que se puede evaluar utilizando el método de rutina.<sup>95</sup>

Basado en las directrices introducidas recientemente por el Grupo de Trabajo Internacional de Biomarcadores de Inmuno-Oncología, se ha informado que la evaluación general de los TIL es una opción prometedora y un biomarcador rentable en CECO.<sup>99</sup>

### **1.3.8. Tratamiento**

La atención integral de los pacientes con cánceres de cabeza y cuello es compleja. Todos los pacientes necesitan el tratamiento por parte de un equipo multidisciplinar. A día de hoy en la práctica clínica, esta labor está centralizada en los comités de tumores o unidades de tratamiento multidisciplinar de tumores.

Este equipo está integrado por una gama completa de servicios de apoyo y especialistas con experiencia en la atención integral del paciente con cáncer de cabeza y cuello para su óptimo tratamiento y seguimiento.

- Cirujano de cabeza y cuello que puede ser un cirujano oral maxilofacial u otorrinolaringólogo principalmente.
- Oncología radioterápica.
- Oncología médica.
- Equipo de cirugía reconstructiva.
- Anatomía Patológica.
- Radiología diagnóstica e intervencionista.
- Medicina Nuclear.
- Atención de enfermería especializada.
- Odontología.
- Medicina Física y Rehabilitación.
- Terapia del habla y la deglución.
- Trabajadores sociales.
- Nutrición Clínica.
- Servicios complementarios: Cuidados paliativos, Unidad del dolor...

En todos los casos debe haber una evaluación multidisciplinar, para decidir la mejor opción de tratamiento combinado en función de las recomendaciones de guías clínicas

aceptadas internacionalmente, pero siempre teniendo en cuenta los factores relacionados con el tumor y con el paciente.

Las opciones terapéuticas iniciales de tratamiento para el CECO son la cirugía, la radioterapia, la quimioterapia y las terapias combinados.

De cara a revisar el manejo terapéutico de la manera más clara es dividir por estadios TNM siguiendo las guías de práctica clínica en oncología del *National Comprehensive Cancer Center* (NCCN), en su última versión hasta la fecha de febrero de 2014.<sup>100</sup>

En **estadios iniciales I-II** (T1-T2N0), los dos tratamientos de elección serían la cirugía (que según estas guías sería el de elección) versus la radioterapia.

Si nos centramos en la cirugía, el tratamiento a realizar, sería la resección del tumor con márgenes. El objetivo principal es resecar el tumor con márgenes libres adecuados. Se recomienda la resección en bloque para evitar aperturas del tumor y diseminación directa durante la cirugía. Los márgenes positivos se asocian a una disminución del 30% de la tasa de supervivencia.<sup>101</sup>

De cara al tratamiento cervical se plantean dos opciones; el vaciamiento cervical o la Biopsia Selectiva de Ganglio Centinela (BSGC). La decisión individualizada sería del comité en función de la localización tumoral, invasión y características clínico radiológicas e histopatológicas de cada tumor.

Si no se realiza la BSGC tenemos dos posibles escenarios; los ganglios centinelas son negativos o positivos. Si son positivos evidentemente se requeriría una segunda cirugía de Vaciamiento cervical, el tipo de este dependería de la localización tumoral, número de centinelas positivos o localización de éstos.

En cualquiera de los escenarios anteriores, el siguiente paso sería el análisis histopatológico del tumor primario y de los ganglios linfáticos. En función de las características clínicas e histológica:

- Si los márgenes están libres, no presenta ganglios linfáticos afectados y ni factores pronósticos adversos se realizaría seguimiento.

- Si presenta márgenes afectos, se puede plantear una segunda cirugía de ampliación de márgenes o terapia sistémica o radioterapia.
- Si presenta 1 solo ganglio afectado sin salida extracapsular ni ningún otro factor pronóstico de riesgo, se podría plantear radioterapia.
- Si presentase salida extracapsular del ganglio con algún otro factor pronóstico positivo, se debería plantear tratamiento sistémico +/- radioterapia.

En **estadios avanzados III-IV**, también el tratamiento de elección en el CECO es la cirugía. En este caso en función del estadio cervical ganglionar elegiremos un tipo de vaciamiento u otro si se realiza de manera ipsilateral o bilateral. Si tras el estudio histopatológico el paciente no presenta factores patológicos adversos, el tratamiento a realizar sería radioterapia adyuvante. Si se presentan factores patológicos adversos, si uno de ellos son los márgenes positivos, siempre se debe replantear la cirugía de ampliación a pesar de que se añade radioterapia. Si el paciente presenta cualquier otro factor de mal adverso, se debe replantear la terapia adyuvante sistémica combinada con la radioterapia.

Si el paciente presenta metástasis a distancia (M1) tendríamos tres opciones; incluir al paciente en un ensayo clínico, tratar la enfermedad locorregional y tratar la metástasis.

En cuanto a los criterios de irresecabilidad, no existe una definición universalmente aceptada en CECO, pero se consideran algunos criterios anatómicos inequívocos y clasificados como tumores T4b (afectación de base del cráneo, vértebras cervicales, músculos prevertebrales, plexo braquial, diseminación mediastínica, afectación de nasofaringe, tumor fijo a la clavícula, revestimiento vascular).

Las unidades o comités multidisciplinarias de tumores pueden excluir también a pacientes de tratamiento quirúrgico por: pocas posibilidades de lograr márgenes adecuados, inaceptables secuelas funcionales y/o estéticas, poca expectativa de curación o debido a comorbilidades de los pacientes.

La radioterapia desempeña un importante papel en el tratamiento del cáncer de cavidad oral. Consiste en el uso de las radiaciones ionizantes con el objetivo de eliminar las

células tumorales. Esto conlleva el efecto secundario más limitante, dependiente de dosis, que es el daño al tejido sano circundante al tumor.

A día de hoy este riesgo ha disminuido gracias a la opción de planificación del tratamiento mediante técnicas de imagen como el TAC, RMN o PET-TAC y la opción de Radioterapia de Intensidad Modulada (IMRT), en la que los haces de radiación se modulan para producir distribuciones de dosis conformados, permitiendo conseguir mayor dosis en el tumor y menor en el tejido peritumoral sano, disminuyendo los efectos secundarios comentados.

Se puede clasificar radioterapia según la distancia de la fuente al tumor. Diferenciando radioterapia externa, cuando la fuente de irradiación está a distancia del tumor o braquiterapia, cuando la fuente de irradiación se coloca en el interior o en las proximidades del tumor.

Como regla general la radioterapia postoperatoria debe iniciarse en las seis semanas siguientes a la cirugía, para maximizar los efectos del tratamiento combinado.<sup>102</sup>

Las indicaciones de uso de la quimioterapia en CECO son tres fundamentalmente:

- En pacientes con tumores localmente avanzados se emplea como tratamiento inicial denominado quimioterapia neoadyuvante, combinado o no con radioterapia, con intención curativa.<sup>103</sup>

Dentro de este grupo podríamos incluir la terapia de inducción o tratamiento citorreductor, que puede preceder a la QT-RT o la cirugía en casos muy avanzados y no resecables o para los pacientes no candidatos a cirugía.

- Tratamiento adyuvante postoperatorio, que se añade para aumentar la supervivencia, que también puede ir acompañado o no de radioterapia.
- Tratamiento paliativo para enfermedad recurrente o metastásica.

Los principales agentes quimioterápicos usados en el tratamiento de los tumores de cavidad oral son: cisplatino, carboplatino, 5-fluorouracilo, paclitaxel, docetaxel y cetuximab. En los últimos años y actualmente bajo indicación paliativa se está usando la inmunoterapia con muy buenos resultados y avances.

Hay varios estudios que han evaluado la combinación de agente anti-PD1 y anti-PDL1 con QTRT en la enfermedad localmente avanzada, pero ninguno de ellos ha conseguido alcanzar el objetivo principal pre especificado.

En la enfermedad recurrente o metastásica a día de hoy, si hay evidencia de aumento de supervivencia y actualmente se mide el estatus PDL1 del tumor. Dividimos los pacientes en dos escenarios:

- Platino sensible: Sería primera línea en pacientes con buen estado general y positividad a PDL1 (CPS>1) debido a que, Pembrolizumab(+/-Platino+5-fluoracilo) demostró aumentar la supervivencia global frente a EXTREME(pauta clásica común 5-fluoracilo+Platino+Cetuximab).
- Platino refractario: recaída en primeros 6 meses después de tratamiento con platino en la enfermedad no avanzada, o tras la progresión a una línea con platino a enfermedad avanzada. Tratamiento de elección Nivolumab (anti-PD1), independiente de concentración de PDL1.

#### **1.4. Manejo cervical en el carcinoma epidermoide de cavidad oral.**

##### **1.4.1. Anatomía cervical y tipos de vaciamiento cervical**

Desde 1987 la *American Head And Neck Society* (AHNS) describió los niveles oncológicos del cuello. Los enumeró con cifras romanas, del uno al seis (I-VI). Adicionalmente, se ha incluido otro nivel, denominado VII, localizado en el mediastino superior.<sup>104 105 106 107</sup>

Existen también ganglios localizados por fuera de la disección de cuello, y que se denominan según el sitio de localización, como son los occipitales, los retrofaríngeos, los peri parotídeos y los buccinadores.<sup>108</sup>

Detallamos las localizaciones anatómicas de los niveles a continuación:

##### Nivel I

Clínicamente está delimitado en la parte superior por la mandíbula; en la inferior, por el hueso hioides y el músculo digástrico.<sup>107</sup>

Se subdivide en dos grupos:

- Ia (grupo submentoniano): entre los vientres anteriores de los dos músculos digástricos.
- Ib (grupo submandibular): entre el vientre anterior y posterior del músculo digástrico, donde se encuentra la glándula submaxilar.

### Nivel II

Comprende los ganglios linfáticos localizados a la altura de la parte superior de la vena yugular interna. Su límite superior es la base del cráneo; el inferior, la bifurcación de la carótida y una línea horizontal a la altura del hueso hioides; el anterior, el músculo estilohioideo; y el posterior, el borde anterosuperior del músculo trapecio.<sup>105</sup>

Está subdividido, a su vez, en:

- IIa: ganglios por delante del nervio espinal accesorio.
- IIb: ganglios por detrás del nervio espinal accesorio.

### Nivel III

Contiene los ganglios linfáticos de la cadena yugular media. Su límite superior es una línea horizontal a la altura del hueso hioides; el límite inferior, una línea horizontal a la altura del cartílago cricoides; el límite posterior, el borde posterior del Músculo Esternocleidomastoideo (ECM); y el límite anterior, el borde lateral del músculo esternohioideo.<sup>109</sup>

### Nivel IV

Son todos ganglios linfáticos del tercio inferior de la vena yugular interna. Su límite superior es la línea horizontal del nivel del cricoides; el inferior, la clavícula; el posterior, el borde posterior del ECM; y el anterior, el borde lateral del músculo esternohioideo.<sup>109</sup>

Se subdivide, a su vez, en:

- IVa: ganglios localizados hacia la cabeza de la clavícula, la fascia de las venas yugular y carótida.

- IVb: Ganglios localizados hacia el cuerpo de la clavícula, por detrás de la vena yugular, a la altura del conducto torácico.

### Nivel V

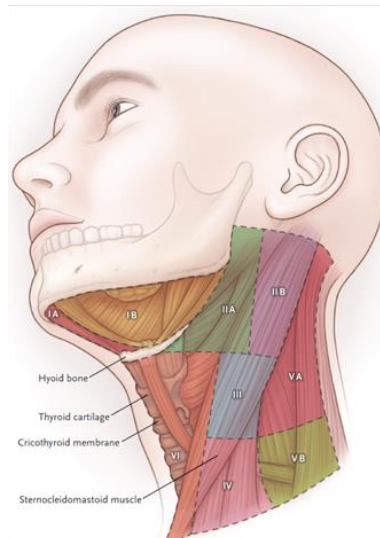
Básicamente, los ganglios que se encuentran en el triángulo posterior del cuello. Su límite anterior es el borde posterior del ECM; su límite posterior, el borde anterior del músculo trapecio; y su límite inferior, la clavícula.<sup>109</sup>

Está subdividido, a su vez, en:

- Va: es el ápex del triángulo cervical posterior; ganglios por encima de una línea horizontal a la altura del cartílago cricoides.
- Más aún, se subdivide en:
  - Vas (superior) y Vai (inferior). La división de dichos subniveles está dada por una línea horizontal a la altura del hueso hioides.
  - Vb: ganglios localizados por debajo del plano horizontal, del borde inferior del cartílago cricoides. Comprenden el tejido por debajo del vientre posterior del músculo omohioideo, hasta la clavícula.

### Nivel VI

Los ganglios linfáticos que se encuentran en la zona central del cuello, la cual es un compartimiento visceral donde se hallan estructuras como la hipofaringe, la laringe, la tráquea, el esófago, los nervios laríngeos recurrentes y las glándulas tiroideas y paratiroides. Su límite superior es el hueso hioides; el límite inferior, la arteria innominada; los límites laterales, la arteria carótida. Allí también se encuentran los ganglios pretraqueales, paratraqueales, prelaringeos, peritiroideos y perirrecurrenciales.<sup>110</sup>



**Figura 27** Clasificación quirúrgica del sistema ganglionar cervical<sup>14</sup>

Existen diferentes tipos de disecciones cervicales. El sistema de clasificación más empleado es el descrito por el *Committee for Head and Neck Surgery and Oncology of the American Academy of Otolaryngology -Head and Neck Surgery (AAO-HNS)*, también recomendado por la *American Society for Head and Neck Surgery*.<sup>111</sup>

### **Disección cervical radical**

Consiste en la extirpación en bloque del tejido celuloganglionar desde los niveles I hasta el V, junto con estructuras no ganglionares como la vena yugular interna, el nervio espinal, el músculo Esternocleidomastoideo (ECM), el plexo sensitivo cervical y la glándula submaxilar que queda incluida en el nivel ganglionar I.

Esta disección se extiende desde el borde inferior de la mandíbula como límite superior, hasta la clavícula inferiormente, y desde el borde lateral del músculo esternohioideo, el hueso hioides y el vientre anterior del músculo digástrico contralateral anteriormente, hasta el borde anterior del músculo trapecio como límite posterior.

Estaría indicada siempre que existan metástasis cervicales fijas, invasión extracapsular del ganglio linfático o metástasis con un diámetro mayor de 3 cm.

### **Disección cervical radical ampliada**

A lo anterior se sumaría la extirpación de estructuras vasculares, neurales o musculares que no se incluyen en las disecciones regladas.

Además, podría llegar a incluir la extirpación de estructuras linfáticas retrofaringeas y parafaringeas, adenopatías del mediastino superior o del vértice axilar o estructuras no linfáticas como pares craneales, arteria carótida, musculatura del triángulo posterior del cuello o la piel cervical.

### **Disección cervical radical modificada**

- Disección cervical radical modificada de tipo I: Conserva selectivamente el nervio espinal.
- Disección cervical radical modificada de tipo II: Conserva el nervio espinal y el músculo esternocleidomastoideo, pero sacrifica la vena yugular interna.
- Disección cervical radical modificada de tipo III o disección cervical funcional: Conserva el nervio espinal, la vena yugular interna y el músculo esternocleidomastoideo.

### **Disección cervical selectiva**

Estaría indicado para los tumores de cualquier T, en los cuales el cuello es clínicamente NO pero con riesgo de micrometástasis. Se incluyen:

- Disección cervical supraomohioidea: se incluyen los niveles I, II y III (para tumores primarios de la cavidad oral).
- Disección cervical yugular (disección cervical anterolateral): se incluyen los II, III y IV. Indicada en tumores primarios de la hipofaringe y la laringe.
- Disección cervical del compartimento anterior. Extirpación de los ganglios linfáticos del nivel VI en el compartimento central del cuello. Está indicada en el cáncer de tiroides.
- Disección cervical posterolateral. Incluye los ganglios del triángulo suboccipital, del triángulo posterior del cuello, del nivel V y la cadena yugular profunda de

ganglios de los niveles II, III y IV. Indicada en melanomas y carcinomas epidermoides del cuero cabelludo posterior.

#### **1.4.2. Estadiaje cervical**

La metástasis ganglionar comprende el factor pronóstico más significativo con tasas de supervivencia que disminuyen hasta el 50% en la afectación N1. <sup>112 113</sup>

Todos los pacientes con diagnóstico de cáncer de cavidad oral requieren un estudio inicial de esta afectación cervical, clave para el manejo terapéutico y pronóstico posterior.

##### **1.4.2.1. Patrones de diseminación linfática y a distancia**

El carcinoma oral de células escamosas, comprende una enfermedad maligna de origen epitelial de acuerdo con los principios de carcinogénesis. <sup>6</sup> Su curso natural y patrones de propagación se han estudiado extensamente. El CECO en pacientes no tratados previamente con metástasis en el cuello habitualmente siguen unos patrones predecibles.

El drenaje linfático regional de la cavidad oral se establece habitualmente hacia grupos de ganglios linfáticos regionales específicos, de modo que, según la localización primaria del tumor, podemos predecir dónde se va a producir la metástasis linfática. <sup>114 115</sup>

El patrón predominante de diseminación linfática predecible se asemeja a la forma de un "cono invertido", es decir el foco inicial del tumor metastásico se desarrolla dentro de un ganglio linfático "local", un ganglio en el primer escalón de drenaje. Posteriormente se distribuye de manera "ordenada" a niveles anatómicos produciendo una imagen de cono invertido visto en el 65% de los pacientes. <sup>116</sup>

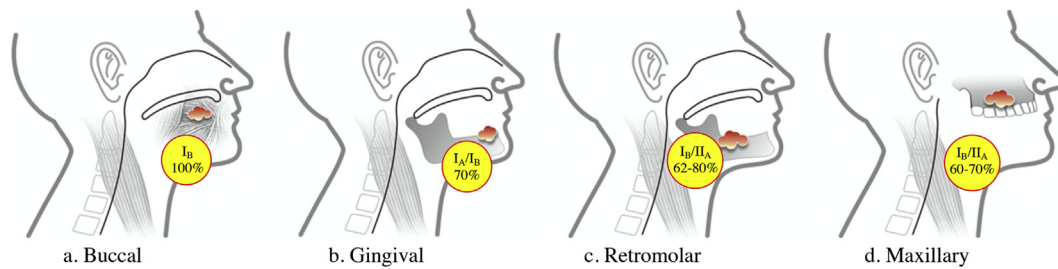
Factores como la posición de los depósitos intranodales, el grado de reemplazo nodal y la extensión de extracapsular, sugiere que la progresión metastásica linfática implica tanto la propagación directa entre ganglios vecinos y como diseminación "embólica" a otros ganglios. <sup>117</sup>

Podemos dividir este patrón de diseminación linfática en función de localización:

- Tumores lateralizados, tales como metástasis de CECO bucal, gingival, retromolar y maxilar, es más frecuente que diseminen primero a los niveles ipsilaterales I y IIa. <sup>114 115</sup>
- Cuanto más anterior se encuentra el tumor, mayor es la probabilidad de afectación de nivel IA y cuanto más posterior, mayor es la posibilidad de participación de nivel IIa.
- En CECO de localización de mucosa yugal, los ganglios faciales tienen riesgo alto.<sup>118</sup>
- La lengua se disemina predominantemente a los niveles I y II con una pequeña fracción (6-12%) de tumores que se metastatizan contralateralmente o bilateralmente, dependiendo de la proximidad del tumor a la línea media y su histopatología agresiva. Cuanto más posterior sea el tumor de la lengua, mayor será la probabilidad de nivel IIB y metástasis ganglionar contralateral, debido a una mayor interconexión posteriormente hacia la base de la lengua. <sup>113 114</sup>
- Tumores que surgen cerca de la línea media, como el suelo de la boca o el paladar se extendió a los niveles I y IIa con aproximadamente un 25% probabilidad de afectación ganglionar bilateral o contralateral. <sup>113 114 115</sup>

En la mayoría de los pacientes con CECO, el nivel IV sólo está involucrado cuando otros niveles del cuello son positivos para la metástasis. Byers y col. reportó que clínicamente NO CECO metastatizado a nivel IV en el 15,8% de los casos, donde el 5,5% representaron verdaderas "metástasis saltadas". <sup>119</sup> Shah y col. informó un 3% de participación de nivel IV en cNO OSCC <sup>115</sup> Las metástasis de salto verdadero al nivel IV representan el 2% o menos de los casos, predominantemente de lengua.

El cuanto al nivel V en cáncer oral cNO rara vez está involucrado (menos del 1%).<sup>115</sup>



**Figura 28** Niveles de diseminación predominantes en los ganglios linfáticos de metástasis de tumores de CECO. La probabilidad estimada se demuestra en los círculos; a. Bucal b. Gingival (reborde alveolar) c. Retromolar d. Maxilar.<sup>120</sup>

Aunque lo habitual es que esta diseminación ocurra de forma ordenada y secuencial a lo largo de los distintos niveles cervicales, como hemos desarrollado anteriormente sin embargo, la experiencia nos indica que las metástasis de estos tumores, no siempre siguen los caminos establecidos y en relación a esto se define el término de “el salto del escalón” o más conocidas en la literatura como “skip” o “saltadas” metástasis, cuando los ganglios afectados por la enfermedad metastásica no son los esperados según el orden de progresión de la enfermedad.<sup>119</sup>

También dentro del estudio de diseminación linfática cervical debemos conocer la posibilidad de metástasis ocultas o metástasis a distancia. En el cáncer oral temprano, la tasa de metástasis oculta o subclínicas es estimada entre 20 y 40%.<sup>121</sup>

Las metástasis a distancia son menos frecuentes que las metástasis cervicales, con una incidencia en torno al 10%. El sitio más frecuentemente afectado es el pulmón en un 78% de los casos. La aparición de metástasis a distancia está directamente relacionada con el tamaño tumoral y la afectación ganglionar cervical.<sup>122</sup>

### 1.4.3. Definición de ganglio centinela

“El ganglio linfático inicial donde drena primero el tumor primario”.<sup>123</sup>

La Biopsia Selectiva del Ganglio Centinela (BSGC), supone una técnica mínimamente invasiva, que permite al cirujano identificar y analizar la primera estación de drenaje linfático de un tumor maligno primario.

Esta técnica supone una prueba diagnóstica no terapéutica y presenta como objetivos generales:

- Localizar la ruta de diseminación linfática de un tumor y el ganglio que recibe las primeras células desde el tumor.
- Ultra Estadificación del ganglio centinela, con mayor precisión que en la disección completa.
- Seleccionar pacientes candidatos a linfadenectomía.
- Mejorar control locorregional del tumor y por ello de la supervivencia.

#### **1.4.4. Historia del ganglio centinela**

Esta técnica se basa en el concepto de ganglio centinela, descrito por primera vez por Cabanas, como el primer escalón de drenaje de una cadena linfática para un territorio tisular determinado y en este caso de un tumor primario.<sup>124</sup> Cabanas desarrolló esta hipótesis tras el exhaustivo examen anatómico de 100 pacientes utilizando linfoangiogramas y sugirió que, si el ganglio centinela estaba afectado por el tumor, el paciente precisaba linfadenectomía.

Realmente el primero que elaboró una teoría sobre los ganglios linfáticos fue el patólogo alemán Rudolf L. K. Virchow, quien dedujo que los ganglios linfáticos filtran partículas de la linfa y sobre esta evidencia se comenzó a estudiar el papel del ganglio.

Posteriormente ya en 1992 Morton et al.<sup>123</sup> en un estudio multicéntrico, lo aplica en pacientes con melanoma cutáneo y define el ganglio centinela, como el localizado en primer lugar, en la ruta de diseminación linfática de un tumor y el primero en recibir las células tumorales provenientes de él y su estado histológico definirá el estado del resto del estado ganglionar.

La pregunta a esto es ¿cómo identificamos cuáles son esos ganglios centinelas?

La teoría es que para identificar los ganglios centinelas al inyectar una sustancia en las proximidades de un tumor, esta sustancia migrará a través de los conductos linfáticos hasta alcanzar estos ganglios que presentan el primer drenaje.

El método inicial de detección fue el utilizado por Morton que combinó el método del colorante azul de metileno.<sup>123</sup>

Posteriormente Alex and Krag ampliaron el éxito de Morton, iniciando el uso de linfogammagrafía a través de la inyección del radionucleido como marcador radioactivo en la inyección peritumoral, para poder detectarlo posteriormente en los ganglios.<sup>125</sup> Una de las ventajas de la técnica que utiliza la inyección de radiotrazadores, es la posibilidad de realizar una linfografía previa a la cirugía y localizar los ganglios centinelas, antes de la intervención quirúrgica.<sup>126</sup>

Alex et al. concluyó en este artículo, que la cirugía radioguiada del ganglio centinela ofrecía tres ventajas: localiza adecuadamente el GC, permite verificar la extirpación del ganglio a través del uso de gammacámaras portátiles intraoperatorias y es una técnica simple de realizar.<sup>127</sup>

Tras el inicio de la aplicación de la BSGC en melanoma maligno y su validación en 1999 en otras localizaciones se ha estudiado su uso.<sup>128</sup>

- En mama, actualmente la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama está validada desde 2003 como una alternativa a la disección ganglionar axilar, con tasas de falsos negativos del 8,8% con un valor predictivo negativo del 95,4%, una sensibilidad del 91,2 % y un valor predictivo positivo y una especificidad del 100%.<sup>129</sup>
- Tumores gastrointestinales: su aplicación principal es en el cáncer colorrectal, donde no persigue como en otros tumores evitar la linfadenectomía, dado que el procedimiento quirúrgico incluye una resección en bloque. El objetivo del GC es localizar el ganglio o grupo de ganglios que reciben el drenaje linfático directamente desde el tumor, de forma que se puedan aplicar sobre ellos las técnicas histopatológicas que permitan la detección de micrometástasis.<sup>130 131</sup>
- Tumores urológicos: hay aplicaciones en estudio en cáncer de pene, próstata o vejiga.
- Tumores ginecológicos: hay estudios en varias localizaciones, pero es el cáncer de vulva donde más experiencia se tiene.

#### **1.4.5. Biopsia selectiva de Ganglio Centinela (BSGC)**

A pesar de un diagnóstico clínico-radiológico de N0, la prevalencia de afectación linfática oculta se estima entre el 20-30% en el CECO. <sup>132</sup>

Hay que tener en cuenta que la sensibilidad media de las pruebas diagnósticas como TAC, RMN, ECO, PET-TAC, sin contar con las micrometástasis, para la detección de afectación cervical es de un 70% según Andersen et al. <sup>133</sup>

La consecuencia de la no detección de metástasis cervicales ocultas, aumenta el riesgo de recurrencia y disminuye la supervivencia a 5 años desde el 82% al 53%.<sup>134</sup>

Por todo esto, la decisión de qué tratamiento cervical realizar, se ha convertido en un tema controvertido con muchísima bibliografía al respecto.

Durante años se han seguido dos tendencias: vaciamiento cervical selectivo (el 95% de las metástasis cervicales se encuentran en niveles I, II y III) u observación exhaustiva “watchful waiting”.

Encontramos publicaciones desde 1980 donde empiezan a comparar la supervivencia y morbilidad entre tipos de vaciamiento. <sup>135</sup>

En 1994 Weiss et al. desarrollaron un modelo matemático para predecir el tipo de tratamiento del cuello, en función del riesgo de metástasis cervical, concluyendo que se debe realizar un vaciamiento electivo del cuello, para pacientes donde el riesgo de metástasis sea mayor del 20%. <sup>136</sup>

Las revisiones de resultados tras la observación del cuello, en vez del tratamiento quirúrgico, aumentaban el número de cirugías de rescate de un 30 a un 50%, elevando por ello la morbilidad y disminuyendo la calidad de vida, aumentaba el estadio del tumor aumentando en 49% la presencia de salida extracapsular del ganglio con lo que supone a nivel de peor pronóstico y por supuesto disminución de supervivencia. <sup>133</sup>

Un estudio aleatorizado realizado por Kligerman et al. demostró que el vaciamiento cervical selectivo en estadios precoces con cuello N0 disminuye la tasa de recurrencia del 33% al 12% respecto a la conducta expectante. <sup>137</sup> Por esto la disección cervical se ha

postulado durante años como el “*gold standard*” en pacientes con tumores T1 y T2 y lesiones con una profundidad de invasión por encima de los 4 mm.

Yuen et al. desde 1997 y posteriormente en 2009 con un estudio prospectivo donde aleatorizaron pacientes para disección cervical versus observación cervical.<sup>138 139</sup> Presentaron 36 pacientes en el primer grupo y 35 en el grupo de observación. Hubo 11 pacientes en el grupo observación y 2 pacientes en el grupo de cirugía, que desarrollaron recurrencia ganglionar. Los 13 pacientes fueron rescatados y ningún paciente murió por recurrencia ganglionar. Por ello, la tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años fue del 87% para el grupo de observación, del 89% para el grupo cirugía y la diferencia del 2% no fue significativa.

En 2005 se publicó uno de los artículos más mencionados en la literatura en este sentido. Un estudio prospectivo randomizado de 500 pacientes que estudiaba los efectos en la supervivencia de realizar el tratamiento del cuello respecto a la observación cervical. La supervivencia global a tres años en el grupo de la cirugía fue de un 80% y la supervivencia libre de enfermedad de 69.5% respecto al grupo observación fue de 67,5% y 45% respectivamente.<sup>140</sup>

Posterior a ello poco se ha publicado ya al respecto, quedando demostrado que la observación cervical no debe plantearse como una opción de tratamiento en estadios iniciales cN0 de CECO.

En consecuencia, si a todos los pacientes diagnosticados como estadios iniciales cN0 se realiza un vaciamiento cervical, asumimos que un 70-80% de estos pacientes estaban sobre tratados.<sup>141</sup> Lo que significa que a estos pacientes se les realiza una técnica invasiva con una morbilidad potencial (disfunción del hombro, dolor crónico, paresia del labio inferior, cambios estéticos) a pesar de que no presentaban afectación metastásica cervical en el estudio histopatológico de los ganglios linfáticos.

Este hecho ha provocado que la sociedad científica se plantee la necesidad de buscar nuevas técnicas menos invasivas, para un diagnóstico más certero e individualizado de cada paciente.

Como sabemos la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC), supone una técnica mínimamente invasiva que permite al cirujano identificar y analizar intraoperatoriamente la primera estación de drenaje linfático de un tumor maligno primario. Dado los buenos resultados en su aplicación para otras localizaciones en 1999 se publicó el primer estudio aplicado a CECO. La BSGC más vaciamiento cervical vs BSGC no mostraron diferencias en la supervivencia a cinco años.<sup>142</sup>

En un primer momento se dudó sobre la fiabilidad de los patrones de drenaje linfático del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello. Ross et al. durante la Conferencia Internacional sobre la biopsia del ganglio centinela en mucosas de cabeza y cuello celebrada 2001, presentaron un estudio multicéntrico de cuellos tratados con BSGC seguida de vaciamiento cervical selectivo.<sup>143</sup> La tasa de identificación del GC fue del 95% con una sensibilidad del 90% y un 4% de falsos negativos (FN). Debemos añadir que las sensibilidades de los centros que realizaron 10 casos respecto a aquellos que hicieron más de 10 variaron desde el 57% al 94%. Esto confirma la importancia de la curva de aprendizaje asociada a la BSGC.

A partir de entonces se despertó el interés por la validación de este procedimiento y el número de estudios ha ido en aumento. La limitación en muchos de ellos ha sido el tamaño muestral pequeño y la baja potencia estadística.

En 2005 Paleri et al. realizó un meta- análisis encontrando una tasa de identificación del GC de 97.7% con una sensibilidad del 92.6% y una tasa de FN de 3%.<sup>144</sup> No estableció diferencias estadísticamente significativas entre la BSGC y el vaciamiento cervical selectivo en términos de recurrencia, supervivencia libre de enfermedad o mortalidad, pero no se recogieron los datos de morbilidad.

En 2004, Ross et al. presentó finalmente un estudio multicéntrico prospectivo de 2 años, aleatorizado en 134 pacientes con carcinoma epidermoide T1-T2 de cavidad oral y orofaringe.<sup>145</sup>

En otro estudio 79 pacientes elegidos al azar se realizaron BSGC únicamente y en 55 el tratamiento combinado de BSGC y vaciamiento cervical electivo. La tasa de detección fue del 93% con una sensibilidad del 92% y un VPN a los 5 años de 95%.<sup>146</sup>

El grupo de Civantos ha aportado muchos estudios al respecto.<sup>147 148</sup> En uno de ellos con 137 pacientes estableció una tasa de identificación del GC de 99,3% con un VPN del 94%.<sup>148</sup> En este artículo ya menciona la importancia de disminuir el grosor de cortes a 2-3mm y la realización de IHQ intraoperatoria para conseguir tasa de FN menores, como se establecerá en posteriores publicaciones.<sup>150 151</sup>

A pesar de las múltiples publicaciones en el extranjero para la validación de la técnica y el desarrollo de estudios prospectivos, en España nos encontramos a la cola de este desarrollo. En 2006 se publicó un estudio prospectivo en 14 pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral T1-T2NO en los que se realizó la BSGC junto al vaciamiento cervical electivo.<sup>152</sup> Se realizó un metaanálisis de 10 series que se sumaron a sus 14 pacientes, para establecer la sensibilidad global de 93% con una especificidad del 100% y una tasa de FN del 5%. Este estudio se centra en la validación de la técnica en una muestra pequeña de pacientes sin presentar seguimiento a medio o largo plazo de la cohorte limitando el conocimiento de recurrencias o la supervivencia libre de enfermedad.

Finalmente, en esta carrera hacia la validación de la BSGC como técnica para la detección de metástasis cervicales, en el 2010 el *American College of Surgeons Oncology Group* (ACOSOG) realizó un ensayo prospectivo multicéntrico en 168 pacientes, demostrando que el estado patológico de la GC correlaciona altamente con los resultados de la linfogammagrafía con un valor predictivo negativo (VPN) del 96 %.<sup>151</sup>

A nivel europeo se conformó un grupo denominado SENT (*Sentinel European Node Trial*) que ha presentado varias publicaciones multicéntricas.<sup>153</sup> Estudio prospectivo observacional con 14 centros europeos y 3 años de seguimiento. 415 pacientes T1-T2 NO de cavidad oral y orofaringe. Se realizaba vaciamiento cervical si GC positivo. Se detectaron 94(23%) metástasis ocultas, 17% ECS, 16% ITC, 48% micro 36% macrometástasis. Con una tasa de detección 99.5% con una sensibilidad de 86% Valor predictivo negativo (VPN) de 95% una tasa de FN de 14%. La supervivencia libre de enfermedad a los 3 años fue de 2%. La tasa de FN fue demasiado alta y de hecho los autores indican que debería ser en torno a 7% ya que es el aceptado en el cáncer de mama.<sup>154</sup>

La BSGC posterior a esta década de estudio de validación para su aplicación en CECO fue incluido en las principales guías clínicas de tratamiento, *National Comprehensive Cancer Network® Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®)* o *Guidelines from the National Institute for Health and Care Excellence (NICE)*.<sup>155</sup>

En los últimos años se ha seguido publicando una gran cantidad de artículos de cara fundamentalmente a mejorar la precisión diagnóstica a través del procesamiento histológico y de las pruebas de imagen de cara a la detección de los ganglios centinelas.

156 157 158 159

#### **1.4.6. Estudio histológico de los ganglios cervicales**

En la técnica del ganglio centinela se pretende realizar un análisis exhaustivo de sólo unos pocos ganglios linfáticos, para mejorar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de ganglio linfático y su invasión, para así seleccionar a aquellos pacientes realmente pN+ en quienes realizar una disección del cuello.

Este diagnóstico sobre el GC debe por tanto aspirar a tener un valor predictivo negativo cercano al 100%.

El análisis histopatológico de los ganglios centinelas debe ser capaz de diagnosticar tres niveles de invasión ganglionar:<sup>160</sup>

- ITC o células tumorales aisladas, depósitos tumorales no mayores de 0,2 mm de diámetro.
- Micrometástasis, definidas como un depósito tumoral que está entre 0,2 y 2 mm, y se reconocen como una entidad independiente.
- Macrometástasis, cuando los depósitos tumorales son mayores de 2 mm.

El análisis de rutina de muestras de una disección cervical generalmente se realiza en varias secciones de 3 a 4 mm de cada ganglio linfático teñidas con H&E, y como las micrometástasis representan depósitos tumorales que miden menos de 2 mm de diámetro, pueden pasar desapercibidos fácilmente en este análisis rutinario.

Se ha informado que el 21,9% de los pacientes con cáncer de la cavidad bucal tiene micrometástasis con un diámetro promedio de 1,36 mm.<sup>161</sup>

El método de referencia para el análisis histopatológico es el examen mediante multi seccionamiento en serie con IHQ, mediante la tinción con anticuerpos anticitoqueratina AE1-AE3 en casos de carcinoma de células escamosas.<sup>145 162</sup>

Está publicado que 14% de muestras de disecciones de cuello pN0 tuvieron que ser estadificados retrospectivamente tras realizar su análisis mediante seccionamiento en serie.<sup>163</sup>

Actualmente no hay uniformidad de protocolos de metodología del análisis histopatológico del ganglio centinela, pero sí parece haber consenso con que debe incluir:

1. Seccionamiento múltiple.
2. Tinción IHQ utilizando anticuerpos anticitoqueratinas AE1/AE3.

Un estudio del 1997 demostró que la sección múltiple de los ganglios y la técnica de IHQ con citoqueratinas, incrementa la conversión de ganglios negativos con H&E en un 12-31% para el carcinoma de mama y en un 12% para el melanoma.<sup>164</sup>

También concluyó que si el ganglio centinela está libre de tumor con la tinción hematoxilina-eosina y con las técnicas de IHQ, la probabilidad de que un ganglio no centinela negativo para la H&E esté afecto es menor de 0,1%.

El protocolo detallado actualmente más respaldado es el publicado por Stoeckli et al.<sup>165</sup>

1. Los ganglios centinelas son seccionados longitudinalmente a través de su hilo o su eje mayor y colocados en cassettes individuales.
2. Posteriormente se obtienen bloques de 2-5 mm de espesor de cada mitad del nódulo biseccionado. De cada bloque se obtiene una sección de 4 micras que se tiñe con H&E. Si existe presencia de tumor el GC se considera positivo.
3. Si en el primer examen, el ganglio centinela se considera libre de tumor, de cada bloque se obtienen láminas de 150-250 micras para ser examinadas mediante

técnicas de IHQ de tinción de anticuerpos anticitoqueratina. Los bloques se teñirán de queratina mediante la técnica de inmunoperoxidasa estándar comúnmente usada de anticuerpos para citoqueratinas (AE1/AE3).

1. Si existen depósitos tumorales epiteliales el resultado se considera positivo. Se considera positivo si aparecen clusters cohesivos con características de malignidad, células inmunoreactivas en el interior del ganglio linfático o si existen células histológicamente atípicas con fuerte reactividad citoqueratina en el seno subcapsular.
4. Si no se detecta tumor en el segundo examen con técnicas de IHQ, el GC centinela analizado se considera negativo.

El problema de estas técnicas es que requieren demasiado tiempo para poder aplicarse en el diagnóstico intraoperatorio de rutina, donde el análisis de secciones congeladas se utiliza más ampliamente. Actualmente la IHQ se presenta como el gold estándar pero precisa de 1-2 días para su procesamiento.

En análisis de una sola sección congelada intraoperatoriamente con H&E en manos experimentadas tiene una sensibilidad que oscila entre el 50% y el 85%.<sup>162</sup>

La sección congelada de secciones finas puede alcanzar una sensibilidad del 93%, pero requiere mucho tiempo y la inevitable pérdida de material puede provocar que se pasen por alto algunas micrometástasis.<sup>166</sup>

Para incrementar la aplicación de la BSGC se requiere de la aplicación de un método rápido y fiable de diagnóstico intraoperatorio.

Esto evitaría una segunda cirugía, con sus costes asociados, retraso de tratamiento y posibilidad de complicaciones.

En consecuencia, en la última década los grupos de estudio se han centrado en el estudio de marcadores moleculares para la detección de micrometástasis.

Uno de estos artículos estudió a 30 pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral que se sometieron a BSGC, en todos los ganglios se realizó IHQ usando anticuerpos monoclonales para metaloproteínas de membrana tipo 1(MT1-MMP), CD44, FAK-1 y E-

cadherina.<sup>167</sup> Los resultados evidenciaban que el MT1-MMP podría ser un candidato prometedor al correlacionar la positividad del GC además de la afectación perineural del tumor (Riesgo Relativo 7,33; IC: 1,07 a 50,27). En 2011 intentando avanzar en la identificación de marcadores tumorales expresados selectivamente en los ganglios cervicales.<sup>168</sup> En este caso estudiaron cuatro marcadores: proteínas relacionadas con la hormona paratiroidea (PTHrP), péñfigo vulgaris antígeno (PVA), SCCA ½ y el transductor de señal de calcio asociado a un tumor 1 (TACSTD1). La técnica utilizada para su estudio fue la Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* qRT-PCR).

En 2012 el mismo grupo desarrolló un ensayo rápido con RT-PCR en tiempo real (QRT-PCR) para PVA y TACSTD1 Cepheid GeneXpert.<sup>169</sup> Con ello demostraron una concordancia del 93-98% y una precisión del 94,2% aplicando esta nueva técnica que permite aislar el ARN de manera automatizada y en menos de 35 minutos eliminado además la incertidumbre y las tasas de discordancia con el análisis de cortes congelados.

El problema de la qRT-PCR es su aplicación clínica. A pesar de que en las publicaciones de Robert L Ferris se habla de su validación clínica, actualmente en España e incluso en EEUU su realización no se encuentra de alcance rutinario siendo una técnica de investigación básica en la gran mayoría de los casos. Su alternativa la RT-PCR tiene una duración de 3 horas, por lo que no nos ayuda en el diagnóstico inmediato intraoperatorio.

Por ello otros estudios paralelos han seguido intentando desarrollar otros métodos más eficientes para la detección intraoperatoria.

En 2011-2012 un nuevo método molecular semi-automatizado se ha aplicado para la detección de las metástasis ganglionares de cáncer de mama basado en la amplificación de ácidos nucleicos en un solo paso de 30 minutos (*One Step-Nucleic Acid Amplification* OSNA). Esta técnica consiste en una homogeneización por amplificación de copias de citoqueratina 19 (CK19) ARNm.

En 2011 ya se realizó la aplicación de esta técnica al carcinoma epidermoide de cavidad oral. <sup>170</sup> En este estudio un total de 312 ganglios linfáticos (65 pacientes) se evaluó la

precisión del ensayo OSNA en comparación con diagnóstico histopatológico validado (H&E e IHQ). La concordancia fue de 94,2%. El punto de corte óptimo para el número de copias de ARNm de CK19 en la evaluación de los ganglios linfáticos metástasis del CECO fue de 300 copias al tener la precisión diagnóstica más alta (95,2%).

En 2012, también en Japón, se publicó un estudio similar sobre 56 pacientes y un total de 175 ganglios cervicales demostrando una sensibilidad: 82,4, 95% IC 65,5-93,2; especificidad: 99,3, IC 95% 96,1 a 100,0.<sup>171</sup>

Nuevamente en 2015 Ferris publicó un artículo en el que intenta realizar una estadificación molecular de los ganglios cervicales en el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello.<sup>172</sup> Los resultados son similares a estudios previos ya mencionados, pero destacamos que entre esos 40 marcadores se encuentra la CK19. Este marcador se encontraba al mismo nivel de PVA, CEA, PTHrP, SCCA 1/2, y TACSTD1, por tener el alto potencial de detectar pequeños focos de tumor. Pero la CK19 se vio que no se expresa en valores altos en todos los tumores, por lo quedó excluido del grupo de los mejores marcadores de mRNA para la detección de metástasis cervicales en el CECO.

#### **1.4.7. Las citoqueratinas**

Las citoqueratinas son una familia de proteínas solubles en agua, con peso molecular que oscila entre 40 y 70 kD, que forman el citoesqueleto de las células epiteliales.

Suponen una familia de unos 25 miembros, cada uno de los cuales parece estar codificado por un gen separado. La subfamilia A comprende las citoqueratinas relativamente ácidas (pH debajo de 5,5), mientras que la subfamilia B contiene un pH relativamente básico de 6 o más.

Las citoqueratinas AE1/AE3 o también llamadas pancitoqueratinas identifican la mayoría de las citoqueratinas humanas y puede ser usado como herramienta para la identificación inmunohistoquímica positiva de células de origen epitelial simple y estratificado.<sup>173 174 175</sup>

Las citoqueratinas AE1/AE3 es una mezcla de dos anticuerpos monoclonales que se obtienen inmunizando ratones con queratinas humanas.<sup>172</sup>

El anticuerpo AE1 inmunorreacciona con un determinante antigénico presente en la mayoría de las citoqueratinas de la subfamilia A, incluidas las citoqueratinas 13, 14, 15, 16 y 19 pero no los números 412, 17 y 18. <sup>174</sup>

El anticuerpo AE3 reacciona con un determinante antigénico compartido con las citoqueratinas de la subfamilia B, que incluyen los números 1 y 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

La citoqueratina 19 (CK19) es una CK tipo I de bajo peso molecular de 40kd. Fue descrita por primera vez como un componente de la proteína del citoesqueleto en 1981 por Wu et al. y Rheinwald JG et al. <sup>173 176</sup>

El gen de CK19 tiene 6 intrones y 6 exones que cubren aproximadamente 4,7 kpb en 17q21 con una longitud de transcripción de 1463 pb. <sup>177</sup>

La (CK19) es una proteína del citoesqueleto. Se expresa exclusivamente en las células epiteliales por ello es un marcador típico de éstas. Por ello se expresa en neoplasias derivadas de células epiteliales, incluido el carcinoma epidermoide o de células escamosas. Se expresaría también en los ganglios metastásicos no en ganglios linfáticos normales. <sup>178 179</sup>

Aproximadamente se expresan de dos a diez queratinas diferentes por cada tejido epitelial. <sup>180 181 182 183 184</sup>

En el tejido de la mucosa oral normal, la presencia de la proteína CK19 se puede objetivar mediante IHQ únicamente en la capa basal de la mucosa. En el tejido del carcinoma de células escamosas de cavidad oral, se objetiva la presencia de ck19 en toda la capa mucosa. <sup>176</sup>

Esa expresión de CK19 en la capa suprabasal de la mucosa oral, se considera que se correlaciona con cambios premalignos en epitelio bucal. En el tejido de la mucosa oral hiperplásica, también es positivo sólo en la capa basal pero en el tejido de la mucosa oral hiperplásica con atipias, ya es positiva no sólo en la capa basal de la mucosa sino también en la capa suprabasal de ésta. <sup>185</sup>

Hay un gran debate sobre la expresión de CK19 en tejidos de CECO, que oscila entre el 29% y el 100%.<sup>161</sup>

La expresión de CK19 se evidencia de manera normal en las células epiteliales de la mayoría de los órganos glandulares pero su expresión se restringe a la capa basal del epitelio escamoso no queratinizante y no estaba disponible en la piel.<sup>186</sup>

Hasta aquí la CK19 parecía un marcador útil para la detección de ganglios linfáticos metastásicos en varios tipos de cáncer, incluidos los de cabeza y carcinoma de células escamosas de cuello.<sup>188</sup>

Pero, sin embargo, según otros estudios la CK19 no es la citoqueratina más expresada en CECO.<sup>182</sup>

Para el estudio de la expresión de CK19 se han utilizado dos técnicas fundamentales:

- La IHQ mediante el estudio de anticuerpos para reconocer las subunidades de queratina.<sup>189</sup>
- La amplificación de ácidos nucleicos en un solo paso: es una técnica molecular que permite detectar el ARN mensajero de la citoqueratina 19 (CK19).

Se basa en la amplificación y cuantificación en tiempo real del ARN mensajero de la CK19 en muestras homogeneizadas de los ganglios linfáticos.<sup>190</sup>

Hasta la fecha, CK19 es el único biomarcador disponible para la realización del OSNA.<sup>191</sup>

<sup>192 193 194</sup>

El ARNm de CK19 ha sido descrito como el que tiene la sensibilidad más alta con casi un 90% y fue elegido como el mejor marcador para el ensayo OSNA.<sup>191</sup>

Es la técnica actual estandarizada para el estudio del ganglio centinela en el carcinoma de mama. Permite el estudio del GC en 30 minutos, lo que permite su realización en el periodo intraoperatorio evitando un segundo procedimiento.<sup>195</sup> Respecto a su aplicación en carcinoma de mama, hay una amplia validación de estudios publicados que muestran que OSNA es un test cuantitativo fiable, con un 96% de concordancia con la histología, para la detección de GC positivos.<sup>196 197 198 199</sup>

Se ha recomendado el estudio de la expresión de CK19 sobre la biopsia en la selección de pacientes elegibles para el análisis OSNA, porque los ganglios centinelas con compromiso metastásico por cánceres de mama CK19-negativos puede resultar en una falsa resultado negativo por OSNA.<sup>200</sup> Esto es debido a que en algunos estudios como Pariikh et al. han reportado falta de expresión de CK19 en el 20,5%.<sup>201</sup>

Tras su extensión en la práctica clínica del carcinoma de mamá se comenzó el estudio de posibles aplicaciones del método OSNA y de su beneficio para otros cánceres donde se realizaba ganglio centinela.

En el caso del CECO Goda et al en 2012, analizaron 213 ganglios linfáticos de pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello. Y encontró una precisión del 94% por ganglio y 94% por paciente.<sup>170</sup>

Matsuzuka et al. También en el mismo año publicaron un VAN del 95,9% en carcinoma epidermoide de cabeza y cuello.<sup>171</sup>

Suzuki et al. dos años más tarde, en 2014, estudió 21 tumores primarios de carcinoma epidermoide de cabeza y se estudiaron 54 ganglios linfáticos cervicales. Evidenció que la CK19 no es marcador celular epitelial altamente expresado en todos los pacientes con CECO.<sup>202</sup>



## **2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## **2.1. Hipótesis**

La CK19 no es un marcador preciso para la detección de metástasis cervicales en pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral en estadios iniciales (I-II).

## **2.2. Objetivos**

### **Objetivos secundarios**

- Describir las características demográficas, clínicas e histopatológicas de los pacientes incluidos en el estudio.
- Describir la frecuencia de expresión de CK19 en la biopsia inicial y en el tumor.

### **Objetivos primarios**

- Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 de la biopsia en los carcinomas epidermoide de cavidad oral en estadios iniciales (I-II).
- Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 para la detección de metástasis en el GC de los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales (I-II).
- Evaluar la asociación estadística entre los factores de interés determinados a priori (grado de diferenciación tumoral, estadio tumoral, recidiva, localización del tumor, espesor máximo tumoral, EMT) con los resultados de expresión de la CK19 en tumor.



# 3.MATERIAL Y MÉTODOS

### **3.1. Aspectos éticos**

#### **3.1.1. Normas generales y particulares para los investigadores**

Los investigadores se han ceñido estrictamente a lo dispuesto en este protocolo, cumplimentando adecuadamente los cuadernos de recogida de datos. El estudio se ha llevado a cabo de acuerdo con las recomendaciones que figuran en la Declaración de Helsinki, revisada en las sucesivas asambleas mundiales (Última en Fortaleza, Brasil, octubre de 2013) y las Normas de Buena Práctica Clínica.

#### **3.1.2. Consentimiento informado**

Estudio pseudoanonimizado donde la solicitud del consentimiento informado de manera individual se ceñirá al consentimiento de la intervención quirúrgica como práctica clínica habitual.

#### **3.1.3. Dispositivos de seguridad y confidencialidad**

La información difundida y obtenida por la puesta en marcha del presente estudio, es considerada confidencial y será tratada en todo momento de acuerdo con la Normativa de Protección de Datos vigente (Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD), de Protección de Datos de Carácter Personal y la Ley Orgánica de Protección de Datos 03/2018. Se ha creado una base de datos en Excel y STATA específicamente diseñada para el estudio y para posibilitar el tratamiento estadístico, en el que los pacientes fueron identificados con un código numérico asignado por orden de reclutamiento definido en el cuaderno de registro y que no contendrá información personal de los pacientes.

#### **3.1.4. Seguro**

Se trata de un estudio observacional retrospectivo, en el que la única prueba extraordinaria a la que se va a someter al paciente, es el estudio en laboratorio de la citoqueratina de la biopsia y de la muestra quirúrgica obtenida (esta última según práctica clínica habitual), por lo que no se considera necesaria la contratación de un seguro de responsabilidad civil.

### **3.1.5. Memoria Económica**

Este estudio surge de una iniciativa independiente de los investigadores y no cuenta con financiación específica. No se contempla ningún tipo de remuneración económica ni para el paciente ni para los investigadores del estudio.

### **3.2. Diseño de estudio**

Se llevó a cabo un estudio unicéntrico observacional retrospectivo de evaluación de la precisión diagnóstica. En la cohorte del estudio se incluyeron pacientes de forma consecutiva intervenidos en el Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario 12 de Octubre, para la resección del tumor primario. Todos los pacientes tenían un diagnóstico de carcinoma epidermoide de cavidad oral con estadios iniciales tras una biopsia incisional sobre el tumor primario, pruebas de imagen para su estudio locorregional y, además se les había realizado la técnica de ganglio centinela.

Todos los pacientes fueron diagnosticados, tratados y seguidos en este centro siendo servicios encargados además del servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial, los servicios de Medicina Nuclear, Radiodiagnóstico y Anatomía Patológica.

La estadificación tumoral se realizó siguiendo la clasificación TNM propuesta por el AJCC y la UICC en la séptima edición de su manual.<sup>203</sup>A pesar de la publicación en 2018 de la octava edición de la clasificación TNM al encontrarse ya el estudio iniciado y dado que la aplicación clínica de la nueva clasificación tardó en realizarse un tiempo, se mantuvo el diagnóstico acorde a la séptima edición de todos los pacientes, para la uniformidad de criterios.

En todos los pacientes se tomaron tres muestras (biopsia inicial, GC y tumor primario) donde se estudió la expresión de CK19 para la realización del estudio de precisión diagnóstica.

Para evitar falsos negativos en los tumores que no expresan CK19, seguimos el consenso de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria sobre la aplicación del uso de la técnica OSNA, donde se recomienda comprobar que existe un mínimo del 30% de

células CK19 positivas en la biopsia inicial para realización posterior del estudio de expresión de CK19 sobre los ganglios centinelas.<sup>200</sup>

La información registrada en la base de datos, para garantizar la confidencialidad de los mismos, fue codificada para cumplir con la Ley Orgánica 3/2018, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y de acuerdo al Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).

### **3.3. Periodo de estudio**

A partir de revisión de historias clínicas de pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral, se incluyeron de manera retrospectiva a 60 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y que fueron intervenidos en un periodo de 7 años desde junio de 2015 a junio 2022.

El periodo de seguimiento mínimo fue de 24 meses y máximo de 9 años (108 meses).

### **3.4. Población de estudio**

#### **3.4.1. Criterios de inclusión**

- Adultos mayores de 18 años.
- Ambos sexos.
- Tumor primario en cavidad oral. Siguiendo la clasificación de la NCCN, *National Comprehensive Cancer Network*, cavidad oral incluye mucosa oral, suelo de boca, lengua móvil, reborde alveolar, trigono retromolar, paladar duro y mucosa labial. El carcinoma epidermoide de bermellón del labio no estaría incluido en cavidad oral sino en carcinoma escamoso de piel. 2022 *National Comprehensive Cancer Network*<sup>®</sup> (NCCN<sup>®</sup>).
- Diagnóstico histopatológico de carcinoma epidermoide a través de una biopsia sobre el tumor primario.
- TNM:T1 y T2 clínico radiológico N0 clínico radiológico (7<sup>º</sup> edición UICC/AJCC)
- Realización de biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC) previo a firma de consentimiento informado de la técnica.

### **3.4.2. Criterios de exclusión**

- Casos sin confirmación mediante biopsia.
- Vaciamiento cervical previo unilateral.
- Radioterapia previa.
- Trauma cervical extenso previo.
- Falta de tejido suficiente para el estudio y diagnóstico correcto en la biopsia inicial.

### **3.4.3. Tamaño muestral**

Debido a la naturaleza práctica y la accesibilidad de la población de interés, el tamaño muestral para este estudio se determinó utilizando un enfoque de muestreo por conveniencia. Se consideraron los pacientes operados entre junio 2015 a junio de 2022 que cumplieron los criterios del estudio. El Hospital Universitario 12 de Octubre incorporó la técnica de ganglio centinela a la cavidad oral en 2014 pero los pacientes intervenidos durante ese periodo formaban parte del proceso de validación de la técnica.

Dado que nuestro periodo de seguimiento mínimo marcado fue 24 meses, el último paciente incluido fue intervenido en junio de 2022.

### **3.5. Recogida de datos y fuentes de información**

El lugar de realización del proyecto es el Hospital Universitario 12 de Octubre (Avenida de Córdoba s/n 28041 Madrid).

El equipo investigador se ha compuesto de: Servicio de Cirugía Maxilofacial, Servicio de Medicina Nuclear y Servicio de Anatomía Patológica.

Todos los pacientes incluidos en el estudio siguieron el circuito de diagnóstico y tratamiento que detallamos a continuación según práctica clínica habitual.



**Figura 29** Cronograma del circuito diagnóstico y terapéutico de los pacientes antes de ser incluidos en el estudio.

Realización de biopsia del tumor primario que confirme histopatológicamente el diagnóstico de carcinoma epidermoide realizada en consultas externas de Cirugía Oral y Maxilofacial del edificio del policlínico planta 5ª.

Los registros radiológicos se han producido en el Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario 12 de Octubre. En todos los pacientes se realizó una Tomografía Axial Computarizada (TAC) de alta resolución con contraste intravenoso, en la que se confirmó la estadificación clínica del tumor primario como un T1-T2 y no evidencia de metástasis cervicales cN0.

Tras el diagnóstico clínico-radiológico del paciente entre las 24 horas y 2 horas previas a la cirugía a todos los pacientes se les realiza una linfogammagrafía y SPECT.

Esta se realizó en el Servicio de Medicina Nuclear en la planta S1 de la Residencia General.

Estas pruebas se realizan para demostrar el drenaje linfático del tumor primario hacia los ganglios linfáticos.

Se inyecta el radiotrazador a través de la mucosa y submucosa peritumoral en 4 cuadrantes hasta la porción más profunda del tumor. Si existe biopsia escisional previa y no se llega a ver remanente de lesión macroscópica, se realizó sobre la cicatriz.

El radiotrazador se difunde a través de los vasos linfáticos hasta almacenarse en los primeros ganglios de drenaje ganglios centinelas. Gracias a la linfogammagrafía basada en imágenes planares convencionales, se marcaron con rotulador indeleble dichos ganglios en la posición más similar posible a la del paciente durante la cirugía. El radiotrazador usado fue de dos tipos: nanocoloide de albúmina o tilmanocept marcados con <sup>99m</sup>Tc. 0,1 ml/dosis: 50-120 MBq para la cirugía previa a las 24 horas y 10-60 MBq

para la cirugía en el mismo día.

Desde enero de 2016 gracias a la incorporación de la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) en el hospital se inició su uso en la BSGC. Las imágenes fusionadas resultantes de la SPECT/TAC presentan los ganglios centinela en un entorno anatómico, que proporciona una guía anatómica muy útil para el cirujano en la localización intraoperatoria.

Los pacientes fueron intervenidos en el quirófano de la 2a planta de la Residencia General asignado al Servicio de Cirugía Maxilofacial (quirófano nº 29).

Durante el procedimiento quirúrgico se realizan dos actos de resección oncológica:

1º- Resección del tumor primario.

Se realizará la resección del tumor primario con márgenes macroscópicos de 1 cm.

2º- Detección y escisión de los ganglios centinelas.

En la misma cirugía de resección del tumor mediante el uso de la sonda gamma, se detectan de nuevo los ganglios centinelas intraoperatoriamente y se procede a su escisión a través de una pequeña incisión cervical dentro del posible abordaje posterior del vaciamiento celuloganglionar. Se realiza la exéresis de todos los ganglios centinela identificados con gammagrafía con un 10% o más de radiactividad del ganglio centinela más radiactivo. Éstos se marcan individualmente y se mandan al laboratorio de anatomía patológica. Tras la extirpación de los GC se debe determinar la actividad restante en el lecho quirúrgico para valorar la presencia de otros GC adyacentes.

El estudio histopatológico y de IHQ fue llevado a cabo en el Servicio de Anatomía Patológica de la Residencia General.

En el estudio se realiza el análisis histopatológico sobre tres muestras de tejido:

- Biopsia inicial sobre el tumor primario
- Pieza completa de tumor primario
- Ganglios centinelas

Al ser un estudio retrospectivo, el análisis protocolario, independiente del estudio actual, sobre el tumor primario y sobre los ganglios centinelas ya se encuentra hecho pero se revisa cada pieza para corroborar que el estudio es completo y correcto, dado que el estudio histopatológico del GC se toma como patrón de referencia para establecer la precisión diagnóstica de la CK19.

A continuación, revisamos nuestro protocolo.

- El estudio sobre el tumor primario: primero se fija la muestra en formol durante 24 horas. Posterior se realiza un procesamiento en parafina con cortes a 4 micras y tinción con H&E.
- Estudio sobre el ganglio centinela:
  1. Los ganglios centinelas son seccionados longitudinalmente a través de su hilio o su eje mayor y colocados en cassettes individuales.
  2. Posteriormente se obtienen bloques de 2-5 mm de espesor de cada mitad del nódulo biseccionado.
  3. Se hicieron secciones cortadas en series de 4 micras de grosor, de cada bloque de parafina con un microtomo deslizante y recogido en portaobjetos recubiertos de silano.

Esto se tiñe con H&E. Si existe presencia de tumor el ganglio centinela se considera positivo.

4. Si en el primer examen, el GC se considera libre de tumor, de cada bloque se obtienen láminas de 4 micras para ser examinadas mediante técnicas de IHQ de tinción de anticuerpos anticitoqueratina. Se empleó un anticuerpo monoclonal contra citoqueratina AE1-AE3(Leica, dilución 1:50).

El procedimiento de IHQ fue el siguiente: Después de la desparafinación con xileno, las secciones se transfieren a agua a través de etanol. Antes de incubar en soluciones de anticuerpos, las secciones se calentaron con agua baño a 100°C con solución tampón citrato 0,01 mol/L (Ph 6,0) durante 20 minutos para recuperar el antígeno, enfriado a temperatura ambiente y se

lava con solución tamponada con fosfato (PBS) 3 veces durante 5 minutos cada una en el caso de citoqueratina AE1-AE3.

El proceso se realiza con el inmunoteñidor automatizado Bond III (Leica) que incluye la inhibición de la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% una vez durante 5 minutos, incubación con el anticuerpo durante 20 minutos y posteriormente se añade el polímero marcado con peroxidasa para visualización con diaminobencidina. Finalmente, las sesiones fueron lavadas con agua destilada, contra teñida con H&E durante 2 minutos, se lavó con agua del grifo, etanol y se cubrió con cubreobjetos.

Si existen depósitos tumorales epiteliales el resultado se considera positivo. Se considera positivo si aparecen clusters cohesivos con características de malignidad, células inmunoreactivas en el interior del ganglio linfático o si existen células histológicamente atípicas con fuerte reactividad citoqueratina en el seno subcapsular.

5. Si no se detecta tumor en el segundo examen con técnicas de IHQ, el ganglio centinela analizado se considera negativo.

Es importante detallar que tipo de marcador inmunohistoquímico es las citoqueratinas AE1-AE3 también denominado pancitoqueratinas AE1-AE3.

Este marcador es un cóctel de anticuerpos monoclonales específicos para antígenos que se encuentran en las citoqueratinas. Se ha observado que AE1/AE3 identifica la mayoría de las citoqueratinas humanas, puede ser usado como herramienta para la identificación IHQ positiva de células de origen epitelial estratificado y simple. El anticuerpo AE1 inmunorreacciona con un determinante antigénico presente en la mayoría de las citoqueratinas de la subfamilia A, incluidas citoqueratinas 10, 13, 14, 15 16 y 19. El anticuerpo AE3 reacciona con un determinante antigénico compartido con las citoqueratinas de la subfamilia B, que incluyen los números 1 y 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

6. Al análisis histopatológico rutinario por este estudio añadimos el análisis de expresión de CK19 sobre las tres muestras.

Para el estudio de la expresión de CK19 se usa la misma técnica de IHQ de citoqueratinas AE1-AE3. También se utiliza un anticuerpo monoclonal contra citoqueratina (Leica clon B170, prediluido). Y la única diferencia en la técnica es que en vez de lavar con solución tamponada con fosfato (PBS) 3 veces durante 5 minutos como con la AE1-AE3, en la CK19 se realiza una incubación con proteinasa K durante 10 minutos.

En el momento de confirmación de inclusión del paciente en el estudio lo primero que se realiza es el estudio de la CK19 sobre el material de la biopsia inicial y sobre el tumor primario.

Si en la biopsia inicial hay una expresión de CK19 mayor e igual del 30%, siguiendo el consenso de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria sobre la aplicación del uso de la técnica (OSNA), donde se recomienda comprobar que existe un mínimo del 30% de células CK19 positivas en la biopsia inicial, pasamos a realizar posteriormente sólo en estos casos el estudio de expresión de CK19 sobre los ganglios centinelas.<sup>199</sup>

El seguimiento postoperatorio inmediato ha tenido lugar en la hospitalización correspondiente a nuestro servicio, igualmente ubicada en la 3a planta del Hospital 12 de Octubre. Las revisiones postquirúrgicas en consultas externas, edificio policlínico bloque B 5a planta.

Los registros radiológicos se han producido en el Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario 12 de Octubre.

Todos los pacientes mantuvieron un seguimiento mínimo de 24 meses siguiendo los protocolos de Unidad Multidisciplinar de Tumores de cabeza y Cuello (UMTCC) del Hospital. Se realizó TAC a los 6, a los 12, 18 y 24 meses de la intervención y revisiones periódicas en consultas externas.

### **3.6. Variables de valoración del estudio**

Dividimos las variables en:

#### **Demográficas:**

- Número de Historia Clínica (NHC)
- Género
- Fecha de nacimiento

#### **Variables del tumor primario:**

- Localización
- Lateralidad
- Estadio TNM 7<sup>º</sup> edición

#### **Variables obtenidas durante la cirugía:**

- Fecha de intervención quirúrgica
- Número de ganglios centinelas detectados intraoperatoriamente
- Localización de los ganglios centinelas detectados intraoperatoriamente

#### **Variables del estudio anatomopatológico:**

##### **1- De la biopsia inicial:**

- Porcentaje expresión de CK19
- Positividad o Negatividad expresión CK19

##### **2- Del tumor primario:**

- pT
- Grado de diferenciación
- EMT (espesor máximo tumoral)
- PNI (invasión perineural)
- LVI (Invasión linfovascular)
- Porcentaje expresión de CK19
- Positividad o Negatividad expresión CK19

##### **3- Del ganglio:**

- Número de ganglios centinelas
- pN
- ECS(extensión extracapsular)
- Positividad o Negatividad expresión CK19
- Estudio con H&E e IHQ

#### **Variables relacionadas con el seguimiento de los pacientes:**

- Recidiva local: fecha, tratamiento y estadio TNM
- Recidiva regional: fecha, tratamiento y estadio TNM
- Supervivencia, causa muerte

### **3.7. Análisis estadístico**

Se diseñó una base de datos de Excel para la recogida y almacenamiento de los datos.

Posteriormente para la manipulación de los datos recogidos se exportó al software de análisis estadístico Stata 17 (StataCorp LLC, College Station, TX).

Explicamos el análisis estadístico usado en el estudio para dar respuesta a cada uno de nuestros objetivos.

#### **3.7.1. Descripción de las características demográficas, clínicas e histopatológicas de los pacientes incluidos en el estudio**

Para el análisis descriptivo de la muestra se evaluó la normalidad de la distribución de las variables continuas mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables continuas que siguen una distribución normal se describen a través de la media y la desviación estándar. En caso contrario, se describen mediante la mediana y los percentiles 25 y 75. Las variables categóricas se resumen a través de la frecuencia absoluta y porcentaje.

#### **3.7.2. Estudio de la precisión diagnóstica de la CK19 en la biopsia y en el centinela**

En estos estudios de precisión diagnóstica, se comparan los resultados de una o más pruebas con los obtenidos mediante la prueba diagnóstica de referencia sobre el mismo grupo de pacientes, en los que se considera que hay un proceso patológico concreto.<sup>204</sup>

Se ha estudiado la precisión diagnóstica de la CK19 en biopsia para identificar resultados positivos en tumor.

El término precisión se refiere al grado de concordancia entre la información ofrecida por la prueba diagnóstica evaluada (denominada prueba índice) y la ofrecida por la prueba de referencia.

En nuestro caso la prueba evaluada o índice serían dos:

- La expresión de CK19 en la biopsia.
- La expresión de CK19 en el ganglio centinela.

Y las pruebas referencia serían:

- La expresión de CK19 en el tumor.
- La H&E y la IHQ en el ganglio centinela.

Se calculó la prevalencia de resultados positivos de la CK19 en tumor. Para la expresión CK19 en biopsia, se estimaron los valores de sensibilidad, capacidad para identificar correctamente a las personas con resultado positivo en tumor, y especificidad, capacidad de para identificar correctamente a las personas con resultado negativo en tumor. Además, se han calculado los cocientes de probabilidad positivo y negativo, que expresan la magnitud en la que un resultado positivo de CK19 en biopsia aumenta la probabilidad de detectar un resultado positivo en tumor (CP+), y la magnitud en la que un resultado negativo de CK19 en biopsia disminuye la probabilidad de tener un resultado positivo en tumor (CP-).

Además, se han calculado los valores predictivos de la CK19 en biopsia. El valor predictivo positivo (VPP), representa la probabilidad de que una persona con un resultado positivo en la CK19 en biopsia también tenga un resultado positivo en tumor, y el valor predictivo negativo (VPN) representa la probabilidad de que una persona con un resultado negativo en la CK19 en biopsia tenga un resultado negativo en tumor.

Presentamos un estudio de concordancia para evaluar el error de medida entre distintos instrumentos o procedimientos de medida. Cuanto más error, menor concordancia y viceversa.

La concordancia se ha estudiado empleando los resultados de la CK19 en términos de porcentaje de expresión y en forma categórica, considerando expresión positiva un porcentaje igual o superior a 30%.<sup>200</sup>

La concordancia entre los porcentajes de expresión se evaluó mediante el uso del Coeficiente de Correlación Intraclase (ICC). Este Coeficiente estima la proporción de varianza total en las mediciones debida a diferencias reales entre los sujetos, en comparación con la varianza total, que incluye también el error de medición.

Valores de ICC cercanos a 1 indican alta consistencia entre las medidas, mientras que valores cercanos a 0 señalan falta de concordancia.

Para valorar el grado de acuerdo entre los resultados se ha empleado la escala propuesta por Liljequist.<sup>205</sup>

Valor de ICC	Fuerza de la concordancia
< 0.40	Pobre
0.40-0.59	Suficiente
0.60-0.74	Buena
0.75-1	Casi Excelente

**Tabla 3** Escala de Liljequist<sup>205</sup>

La concordancia entre la CK19 en biopsia y la CK19 en tumor como resultado positivo y negativo se ha evaluado mediante la proporción de acuerdos y el coeficiente Kappa de Cohen.

La proporción de acuerdos observados toma valores entre 0 (total desacuerdo) y 1 (máximo acuerdo).

El índice Kappa permite cuantificar el grado de acuerdo que existe por más allá de lo esperado por el azar. Los valores de Kappa cercanos a 1 expresan una concordancia perfecta, mientras que aquellos cercanos a 0 indican una concordancia similar al azar.

Landis y Koch propusieron la siguiente tabla de valoración del índice kappa <sup>206</sup>

Coefficiente kappa	Grado de acuerdo
0.00	Sin acuerdo
0.01-0.20	Insignificante
0.21-0.40	Discreto
0.41-0.60	Moderado
0.61-0.80	Sustancial
0.81-1.00	Casi perfecto

**Tabla 4** Tabla de valoración del índice kappa <sup>205</sup>

Para evaluar la precisión y concordancia de la expresión de CK19 con la H&E y la IHQ en el ganglio centinela se han utilizado los mismos procedimientos metodológicos.

### **3.7.3. Asociación entre los factores de interés y los resultados de expresión de la CK19 en tumor.**

Se ha realizado un contraste de hipótesis para evaluar la asociación estadística entre los factores de interés determinados a priori con los resultados de expresión de la CK19 en tumor.

- Grado de diferenciación tumoral
- Estadio tumoral (pT y pN)
- Recidiva
- Localización del tumor
- EMT

Se consideró el resultado de la CK19 en términos de porcentaje de expresión y como frecuencia de resultados positivos.

Para analizar la asociación con el porcentaje de expresión de CK19, para variables categóricas se emplearon los tests no paramétricos U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, en función del número de grupos a comparar, y para variables continuas el coeficiente de correlación de Spearman.

Para evaluar la asociación con la positividad del resultado de CK19, para las variables categóricas se empleó el test Chi cuadrado de Pearson, para variables continuas el test U de Mann-Whitney.

Se consideraron significativos los resultados con un p-valor igual o inferior a 0.05.



# 4.RESULTADOS

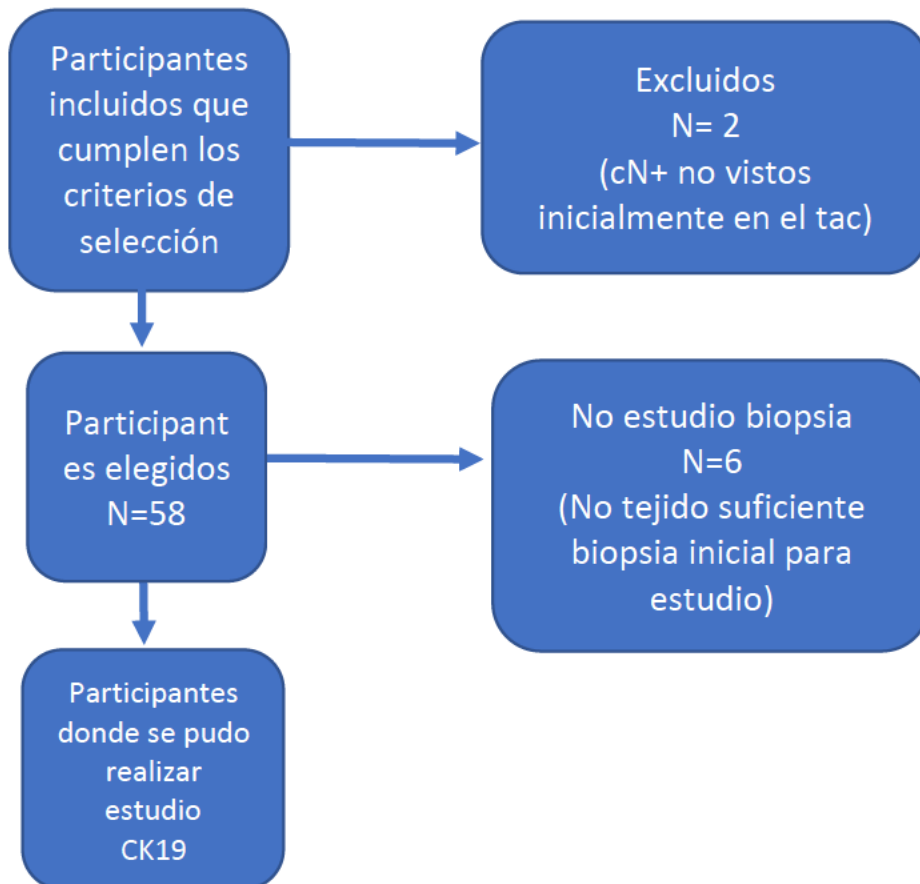
**4.1.Describir las características demográficas, clínicas e histopatológicas de los pacientes incluidos en el estudio.**

60 pacientes fueron incluidos en el estudio tras cumplir los criterios seleccionados en el estudio.

2 de estos pacientes, tras ser incluidos en el estudio al cumplir los criterios de inclusión, se vio durante el seguimiento que realmente no eran inicialmente cNO y fueron falsos negativos en el TAC.

En 4 de ellos no hubo suficiente tejido en la biopsia inicial para poder realizar correctamente el estudio de expresión de la CK19, por lo que tuvieron que ser excluidos del estudio).

Se excluyeron 6 pacientes y finalmente la muestra fue de 52 pacientes.



**Figura 30** Diagrama de flujo

De la muestra final de 52 pacientes, 32 de ellos fueron hombres (62%) y 20 mujeres (38%).

Presentaron una edad media de 50, rango (57-79.5) (Tabla 3).

En referencia a la localización del tumor la distribución fue la siguiente: Labio inferior 23(44%), Lengua 17(33%), Mucosa oral 2(4%), Paladar duro 1(2%), Suelo de boca 8(15%) y trígono retromolar 1(2%).

Inicialmente todos los tumores incluidos estaban diagnosticados clínicamente como T1-T2, siendo 42(81%) T1 y 10(19%) T2.

El número total de ganglios centinelas primarios extirpados en los 52 pacientes fue de 121. En 14 pacientes (27%) sólo se detectó 1 ganglio, en 13(25%) 2 ganglios, en 19(36.5%) 3 y en 6(11.5%) 4 ganglios. El número medio por paciente fue de 2.32 ganglios centinelas.

La localización de los ganglios centinelas detectados intraoperatoriamente.

Si nos fijamos en la localización del drenaje cervical en 35(67%) fue ipsilateral al tumor y 17(33%) presentó un drenaje tanto ipsilateral como contralateral. Al tumor.

En cuanto a las características anatomopatológicas de cada paciente:

En el análisis anatomopatológico posterior dos de los tumores que fueron clasificados clínicamente como T2 por su tamaño final se reclasificaron como T3, quedando la clasificación de tamaño por estudio anatomopatológico como, 42(81%) tumores clasificados como pT1, 8(15.38%) clasificados como pT2 y 2(3.84%) clasificados como pT3.

De los 52 pacientes incluidos en el estudio únicamente 2(4%) presentaron afectación cervical en el estudio histológico, siendo uno N1 y otro N2 por presentar dos ganglios cervicales positivos que fueron los dos centinelas.

Si caracterizamos el tumor en función de su grado de diferenciación; 42(81%) tumores son bien diferenciados, 7(13%) son moderadamente diferenciados y 3(6%) pobremente diferenciados.

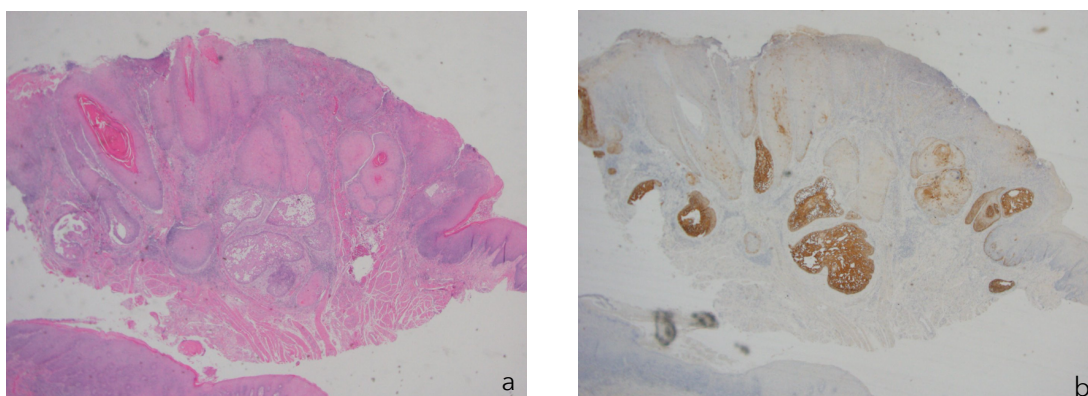
En el estudio histopatológico el espesor máximo tumoral, teniendo la medida una n de 50 dado que en dos pacientes no se pudo medir correctamente, fue de 4mm, con un mínimo de 1 mm y un máximo de 24mm.

Solo se visualizó una infiltración perineural en el tumor en un paciente y no se visualizó ninguna infiltración perivascular.

En cuanto al estudio de CK19:

Realizamos el estudio de expresión de la CK19 en los 52 pacientes sobre la biopsia inicial con una mediana de expresión en porcentaje de 9.92%.

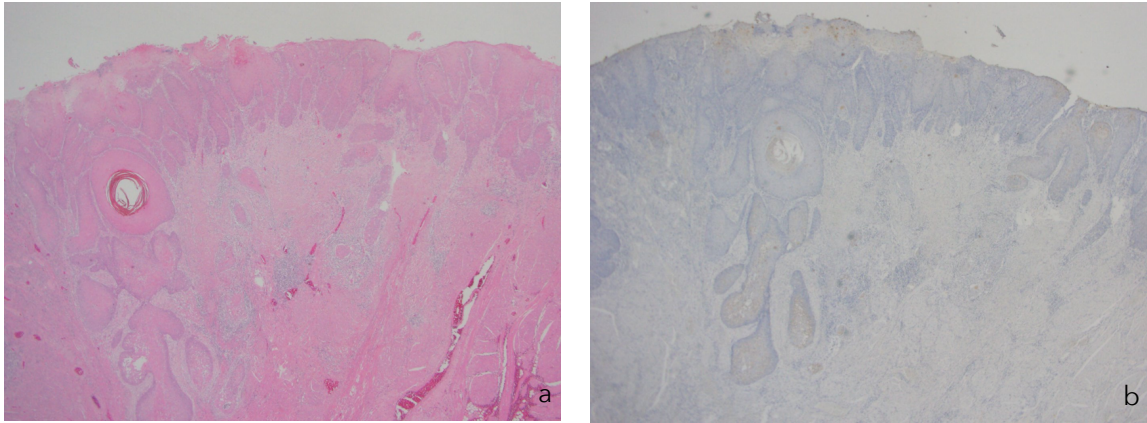
Siendo en 44 pacientes (85%) menor de 30% considerándose negativa y en 8(15%) mayor o igual a 30%, siendo positiva.



**Figura 31 a** Corte de la biopsia con tinción de H&E con aumento de 2X10  
**b** Corte de la biopsia con tinción de IHQ AE1-AE3 con aumento de 2X10

En el estudio de expresión de CK19 sobre el tumor primario la media de expresión en % fue de 9,46. La mediana fue de 0 y los percentiles 25 y 75 0 y 5, respectivamente.

En 44(85%) tumores primarios la expresión de CK19 fue menor de 30% considerándose negativa y en 8(15%) mayor o igual a 30%, siendo positiva.



**Figura 32 a** Corte del tumor en parafina con tinción de H&E con aumento de 2X10  
**b** Imagen corte del tumor en parafina teñido con CK19 con aumento de 2X10

Como se explicó en el diseño de nuestro estudio solo se realizó el estudio de la expresión de la CK19 sobre el centinela en aquellas biopsias iniciales con una mayor expresión del 30%.

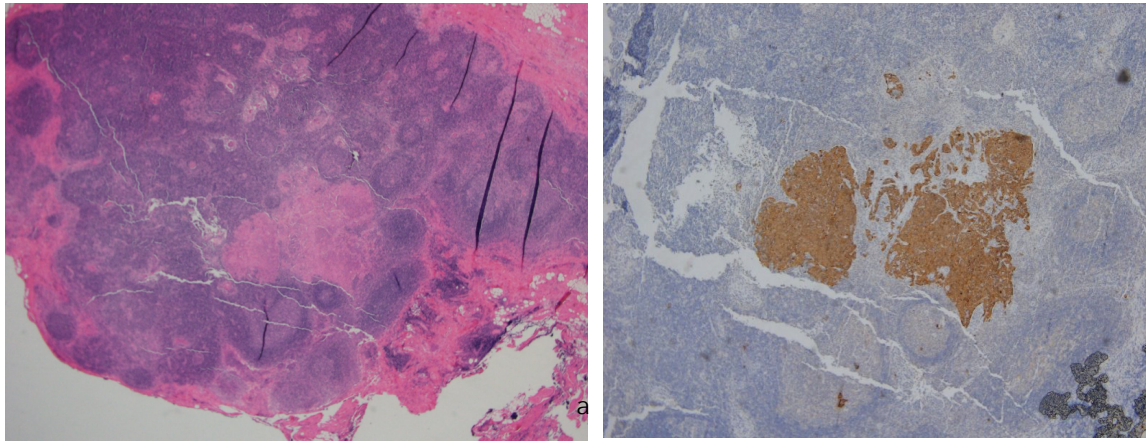
Por lo que se realizó el estudio sobre los 8 (15%) pacientes con positividad en la biopsia inicial. En el resto 44(84.6%) no está indicado.

En 6(11.5%) de esos pacientes la expresión de CK19 fue negativa y en 2(4%) fue positiva.

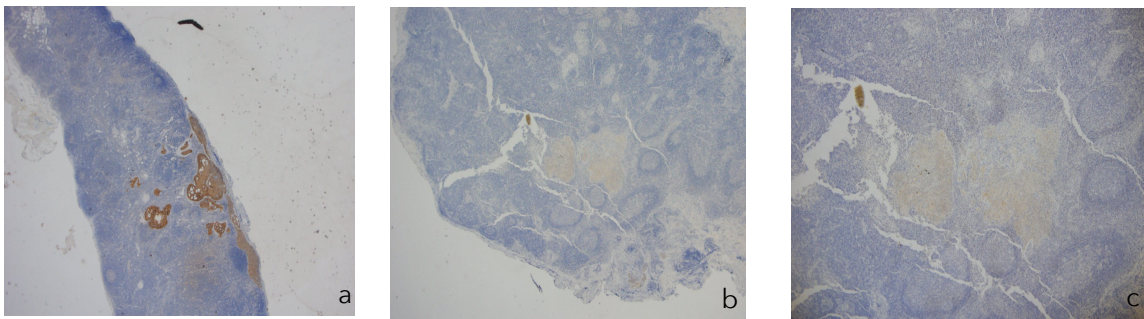
En un paciente sólo fue positivo un ganglio ipsilateral al tumor y en el segundo paciente presentó positividad en los dos ganglios ipsilaterales al tumor.

En cuanto a las pruebas de referencia, sobre todos los ganglios centinelas se realiza el estudio de H&E y de IHQ.

Con el estudio de H&E en 2(4%) pacientes fueron positivos para células tumorales en el estudio del ganglio centinela.



**Figura 33 a** Imagen del ganglio centinela teñida con H&E del a un aumento de 2x10.  
**b** Imagen del ganglio centinela teñida con AE1-AE3 con un aumento de 4x10.



**Figura 34 a** Imagen del ganglio centinela teñida con AE1-AE3 con un aumento de 2x  
**b** Imagen del ganglio centinela teñida con AE1-AE3 con un aumento de 2x10. Imagen del ganglio centinela teñida con CK19 con un aumento de 4x10.

El estudio IHQ AE1-AE3 fue concordante respecto al de H&E y en los mismos 2(4%) pacientes fueron positivos para células tumorales en el estudio del ganglio centinela.

Ningún GC presentó salida extracapsular de células tumorales.

De las variables recogidas en el seguimiento de los pacientes postcirugía: 3(5.76%)<sup>b</sup> pacientes presentaron durante el tiempo de seguimiento una recidiva. De estas tres recidivas 2 de ellas fueron locales y una cervical.

Dado que solo tres pacientes presentaron recidiva, específico los detalles de cada uno de cara a analizar posteriormente alguna asociación con alguna de las variables a estudiar.

El primer paciente que presentó una recidiva local fue un tumor primario lingual derecho diagnosticado como pT1N0 bien diferenciado con un EMT de 1 mm y márgenes negativos. Presentó un drenaje ipsilateral cervical.

La recidiva fue local con un diagnóstico de pT2 y una supervivencia a fin de seguimiento.

El segundo paciente con recidiva local fue un tumor primario de mucosa labial inferior en línea media con drenaje bilateral. Fue diagnosticado de pT1N0 bien diferenciado con un EMT 2 mm. Presentó márgenes positivos que fueron posteriormente ampliados con negatividad. La recidiva local se estadió como pT1 y la presentó supervivencia a fin de seguimiento.

El paciente que presentó recidiva cervical fue un tumor primario lingual derecho con drenaje cervical ipsilateral. pT2N0 con márgenes negativos, un EMT 4mm sin infiltración perineural ni linfovascular. Tuvo una recidiva estadiada como N3b con supervivencia a fin de seguimiento.

En la muestra de 52 pacientes durante el seguimiento hubo una mortalidad de 8(15%) pacientes pero solamente 1(13%) de esos 8 fue por causa del carcinoma de cavidad oral. Debemos añadir que ese paciente tuvo un resultado de ganglio centinela positivo y decidió no intervenir ni realizarse ningún tratamiento adyuvante.

En la tabla 5 se muestra el Análisis descriptivo de la muestra.

**Tabla 5.** Análisis descriptivo de la muestra

VARIABLE	N = 52
<b>SEXO</b>	
Hombre	32 (62%)
Mujer	20 (38%)
<b>EDAD (n = 52)</b>	
Mediana (p25-p75)	70.0 (57.0-79.5)
<b>LOCALIZACIÓN</b>	
Labio inferior	23 (44%)
Lengua	17 (33%)
Mucosa oral	2 (4%)
Paladar duro	1 (2%)
Suelo de boca	8 (15%)
Trigono retromolar	1 (2%)
<b>LATERALIDAD</b>	
Derecho	23 (44%)
Izquierdo	19 (37%)
Línea media	10 (19%)

<b>Nº de ganglios centinelas</b>	
1	14 (27%)
2	13(25%)
3	19(36.5%)
4	6(11.5%)
<b>cT</b>	
T1	42 (81%)
T2	10 (19%)
<b>pT</b>	
T1	42 (81%)
T2	8(15.38%)
T3	2 (3.84%)
<b>pN</b>	
N0	50 (96%)
N1-N2	2 (4%)
<b>Estadio TNM</b>	
I	40 (76.92%)
II	8(15.38%)
III	3(5.76%)
IVA	1(1.92%)
<b>GRADO DE DIFERENCIACIÓN</b>	
Bien diferenciado	42 (81%)
Moderadamente diferenciado	7 (13%)
Pobrememente diferenciado	3 (6%)
<b>EMT en mm(n= 50)</b>	
mediana (p25-p75)	4.0 (1.0-24.0)
<b>PNI</b>	
No	51 (98%)
Si	1 (2%)
<b>CK19 BIOPSIA</b>	
Negativa	44 (85%)
Positiva	8 (15%)
<b>CK19 % BIOPSIA (n = 52)</b>	
mediana (p25-p75)	0.0 (0.0-7.5)
media (p25-p75)	9.94(4.97-14.91)
<b>CK19 CENTINELA</b>	
Negativa	6 (11.5%)
No indicado	44 (84.6%)
Positiva	2 (4%)
- IA IZQ	1
- III IZQ, IIA IZQ	1
<b>H &amp; E INTRA</b>	
Negativa	50 (96%)
Positiva	2 (4%)
<b>IHQ AE1 – AE3</b>	
Negativa	50 (96%)
Positiva	2 (4%)

<b>CK19 TUMOR</b>	
Negativa	44 (85%)
Positiva	8 (15%)
<b>% CK19 TUMOR (n = 52)</b>	
mediana (p25-p75)	0.0 (0.0-5.0)
media (p25-p75)	9.46(4.73-14.19)
<b>RECIDIVA</b>	
No	49 (94%)
Si	3 (6%)
<b>LOCALIZACIÓN RECIDIVA (Estadio y Tratamiento)</b>	
Local	2 (67%)
- T2N0, Cirugía local y vaciamiento	
- T1N0, Cirugía local	
Regional	1 (33%)
- T0N3b, Vaciamiento	
<b>SUPERVIVENCIA</b>	
Vivo	44 (85%)
Muerto	8 (15%)
<b>CAUSA MUERTE</b>	
CA Oral	1 (13%)
Otros	7 (88%)

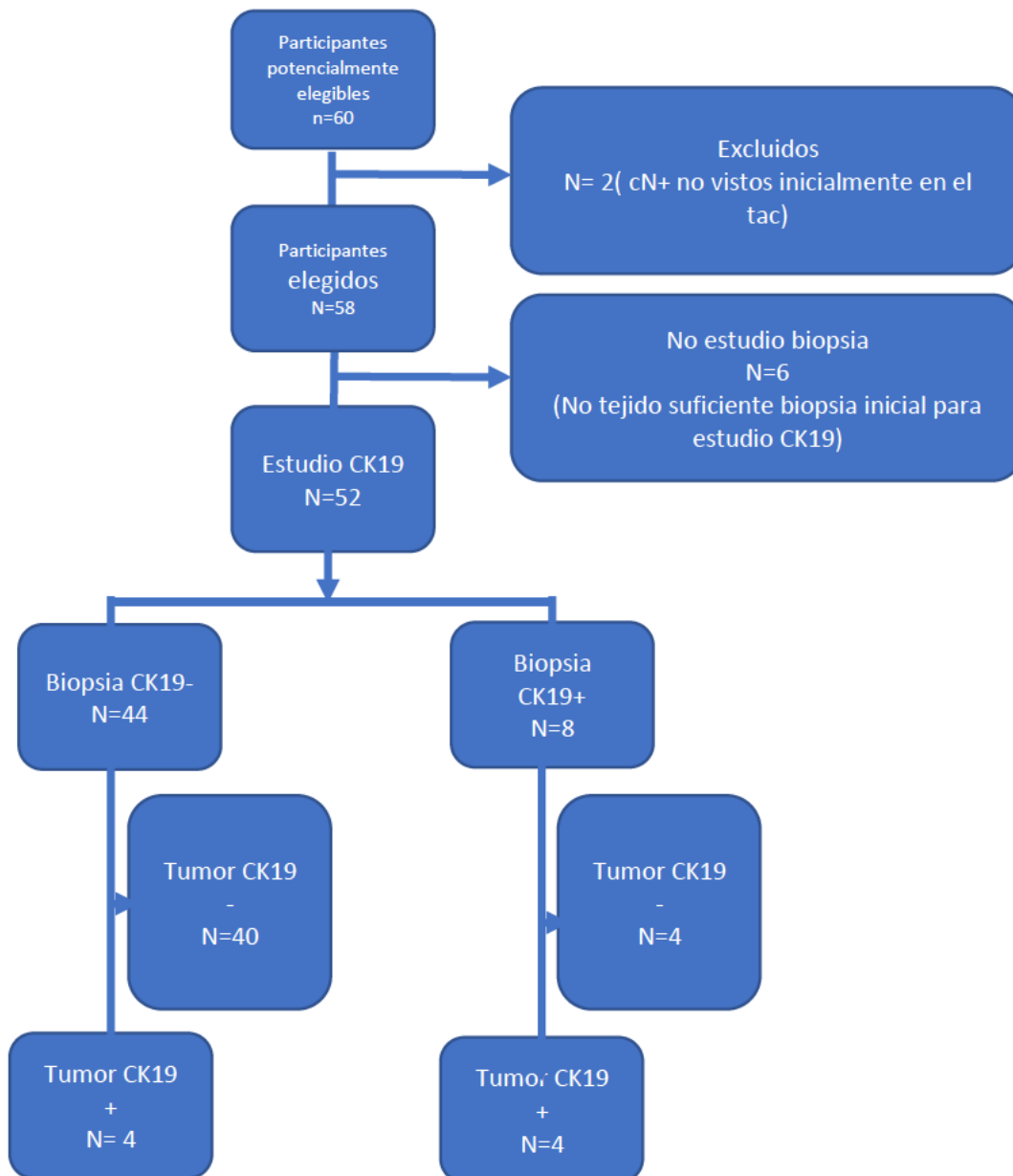
#### 4.2. Describir la frecuencia de expresión de CK19 y estimar la precisión diagnóstica de la CK19 de la biopsia, en los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II)

Decidimos realizar este estudio dado que, en la evaluación de una prueba médica, como sería la utilización de la CK19 como marcador válido para el estudio de las metástasis cervicales, un paso esencial es el establecimiento de la precisión de la prueba diagnóstica.

Se ha realizado el análisis de la precisión diagnóstica de la CK19 en biopsia para identificar resultados positivos en tumor. La expresión de CK19 en tumor representa la prueba de referencia en este caso porque corresponde a la expresión de CK19 real del tumor primario. Realizar la comparativa entre la expresión de CK19 en biopsia frente a la del tumor nos permite analizar cuánto de preciso es el diagnóstico de expresión de CK19 de la biopsia frente a la real del tumor.

La serie de casos del estudio presenta tumores de un tamaño menor o igual a 2 cm si es T1 o menor de 4 cm si es T2 (en la séptima edición no está contemplado la profundidad en el diagnóstico). Esto supone que la biopsia inicial en algún caso de tumor pequeño

pueda suponer la resección completa o casi completa del tumor. Por supuesto siempre se requiere una segunda cirugía, para asegurar esa resección completa y ampliar márgenes oncológicos. En 2 pacientes del estudio la biopsia inicial supuso la resección completa del tumor y en la pieza de resección posterior no se observaron células tumorales para la realización del estudio de CK19, por lo que en estos pacientes se asumió la expresión de CK19 de la biopsia inicial como la misma del tumor completo.



**Figura 35** Diagrama de flujo estudio de precisión diagnóstica de expresión de CK19 en biopsia

Tal y como se observa en la tabla 6, la proporción de personas con biopsias positivas es del 15.4% (prevalencia).

La validez interna de la prueba se obtiene mediante el cálculo de los valores de sensibilidad y especificidad.

La sensibilidad de la CK19 en biopsia es del 50%. Este resultado significa que esta prueba tiene una probabilidad del 50% de que el resultado en la biopsia sea positivo si realmente tiene expresión positiva en el tumor.

Observamos que la especificidad tiene un resultado de 90,9%, indicando que la CK19 en biopsia clasifica correctamente como negativas al 90.9% de las personas con CK19 negativos en tumor.

**Tabla 6.** Evaluación de la exactitud diagnóstica de la CK19 en biopsia

CK19 Biopsia	CK19 Tumor		Total
	Negativa	Positiva	
Negativa	40	4	44
Positiva	4	4	8
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>8</b>	<b>52</b>

	<b>VALOR(IC 95%)</b>
<b>Prevalencia</b>	15.4% (6.9-28.1)
<b>Sensibilidad</b>	50.0% (15.7-84.3)
<b>Especificidad</b>	90.9% (78.3-97.5)
<b>Área ROC</b>	0.70 (0.51-0.89)
<b>Cociente de probabilidad positivo (CP+)</b>	5.50 (1.72-17.60)
<b>Cociente de probabilidad negativo (CP-)</b>	0.55 (0.27-1.11)
<b>Valor Predictivo Positivo (VPP)</b>	50.0% (15.7-84.3)
<b>Valor Predictivo Negativo (VPN)</b>	90.9% (78.3-97.5)

El área bajo la curva ROC (*Receiver Operating Characteristic* o Característica Operativa del Receptor) es una herramienta estadística que se utiliza para medir el acierto en la predicción de eventos. La curva ROC de un indicador que refleja la relación entre la tasa de verdaderos positivos y la tasa de falsos positivos, permitiéndonos medir la capacidad de la CK19 en biopsia de discriminar entre resultados positivos y negativos en el tumor primario. El resultado de área bajo la curva ROC en este caso es de 0.70, lo que sugiere una capacidad moderada de discriminación del modelo.

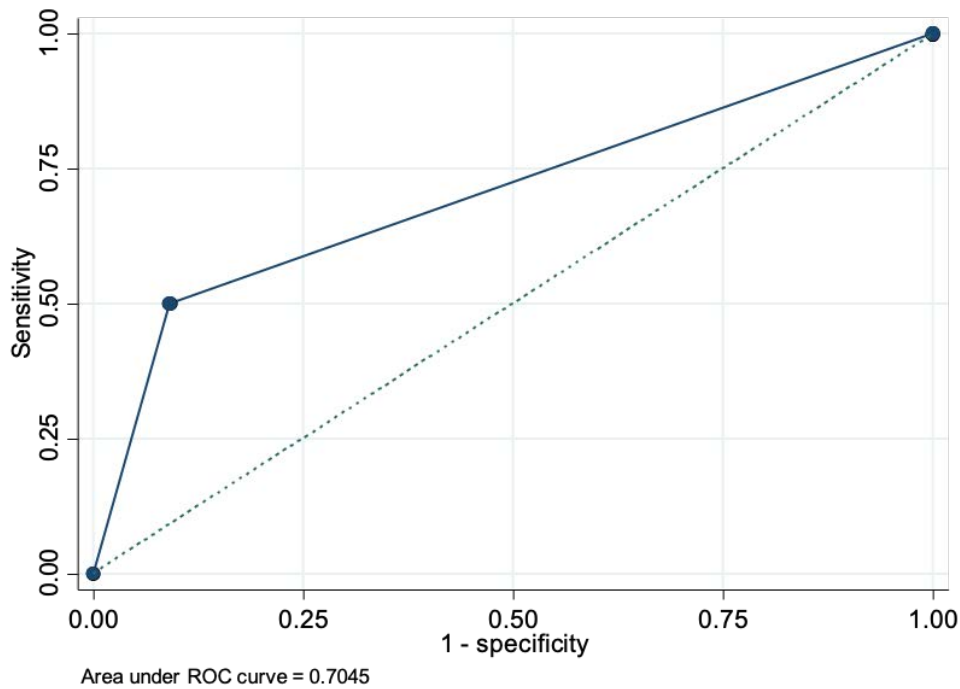


Figura 36 Área bajo la curva ROC de 0.70.

Los cocientes de probabilidad se utilizan para recalculan las probabilidades pretest, que expresan la magnitud en la que un resultado positivo de CK19 en biopsia aumenta la probabilidad de detectar un resultado positivo en tumor (CP+) y la magnitud en la que un resultado negativo de CK19 en biopsia disminuye la probabilidad de tener un resultado positivo en tumor (CP-).

Se ha calculado los cocientes de probabilidad positivo y negativo, El valor del Cociente de probabilidad positivo (CP+) es de 5.50, lo que nos indica que es 5.5 veces más probable tener un resultado positivo de la CK19 en biopsia en un paciente positivo en tumor que en un paciente con resultado negativo en tumor.

Por otro lado, el valor del Cociente de probabilidad negativo (CP-) es de 0.55, lo que nos indica que es un 45% (1-0.55) menos probable tener un resultado positivo de la CK19 en biopsia en un paciente negativo en tumor que en un paciente con resultado positivo en tumor.

La seguridad de la prueba, es decir la capacidad del test para predecir la positividad o negatividad de expresión de CK19, viene determinada por:

Del Valor Predictivo Positivo (VPP): la probabilidad de que una persona con resultado positivo de CK19 en la biopsia tenga un resultado positivo en la CK19 en tumor es del 50.0%.

Del Valor Predictivo Negativo (VPN): la probabilidad de que una persona con resultado negativo en CK19 en biopsia tenga un resultado negativo en la CK19 en tumor es del 90.9%.

En el estudio de la concordancia de la CK19 se incluyeron 52 pacientes. El tamaño de muestra disponible y la baja prevalencia de resultados positivos de la expresión de CK19 tanto en tumor como en biopsia, permiten hacer una estimación del índice kappa con una confianza del 95% con una precisión absoluta de 0.308.

Para la evaluación de la concordancia de los resultados de la CK19 en biopsia respecto a la CK19 en tumor, se ha estudiado la concordancia entre los resultados (positivo/negativo) en biopsia y en tumor (Tabla 7). Los resultados presentan un grado de acuerdo del 84.6% (44/52). El índice Kappa que evalúa el grado de concordancia corregido por el acuerdo atribuible al azar es de 0.409 (IC 95% 0.047-0.804), lo cual implicaría un grado de concordancia moderado.

**Tabla 7** Tabla de concordancia entre los resultados de CK19 en Biopsia y en tumor

CK19 Biopsia	CK19 Tumor		Total
	Negativa	Positiva	
Negativa	40	4	44
Positiva	4	4	8
<b>Total</b>	44	8	52

Grado de acuerdo	Índice Kappa
84.6%	0.409

Se ha evaluado la concordancia en el porcentaje de expresión de la CK19 en biopsia respecto al porcentaje de expresión en tumor mediante el índice de correlación intraclass (ICC), dado que ambas variables son de carácter cuantitativo, y vienen de la

medición de diferentes pruebas. El resultado obtenido es de ICC = 0.502 (IC95% 0.268, 0.680), que indicaría que el grado de acuerdo es suficiente según la Escala de Lilliequist.

#### 4.3. Estimar la precisión diagnóstica de la CK19, para la detección de metástasis en el ganglio centinela de los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II)

De cara al estudio de la CK19 como marcador válido para el estudio de las metástasis cervicales además de valorar la expresión sobre biopsia y tumor, es necesario analizar la capacidad de la CK19 en detectar la presencia de células tumorales en el ganglio centinela. En este caso realizamos dos análisis comparando la expresión de CK19 en el ganglio centinela frente a dos de las pruebas referencia:

La precisión de la CK19 frente a la H&E.

La precisión de la CK19 frente al estudio de IHQ de la CK AE1-AE3.

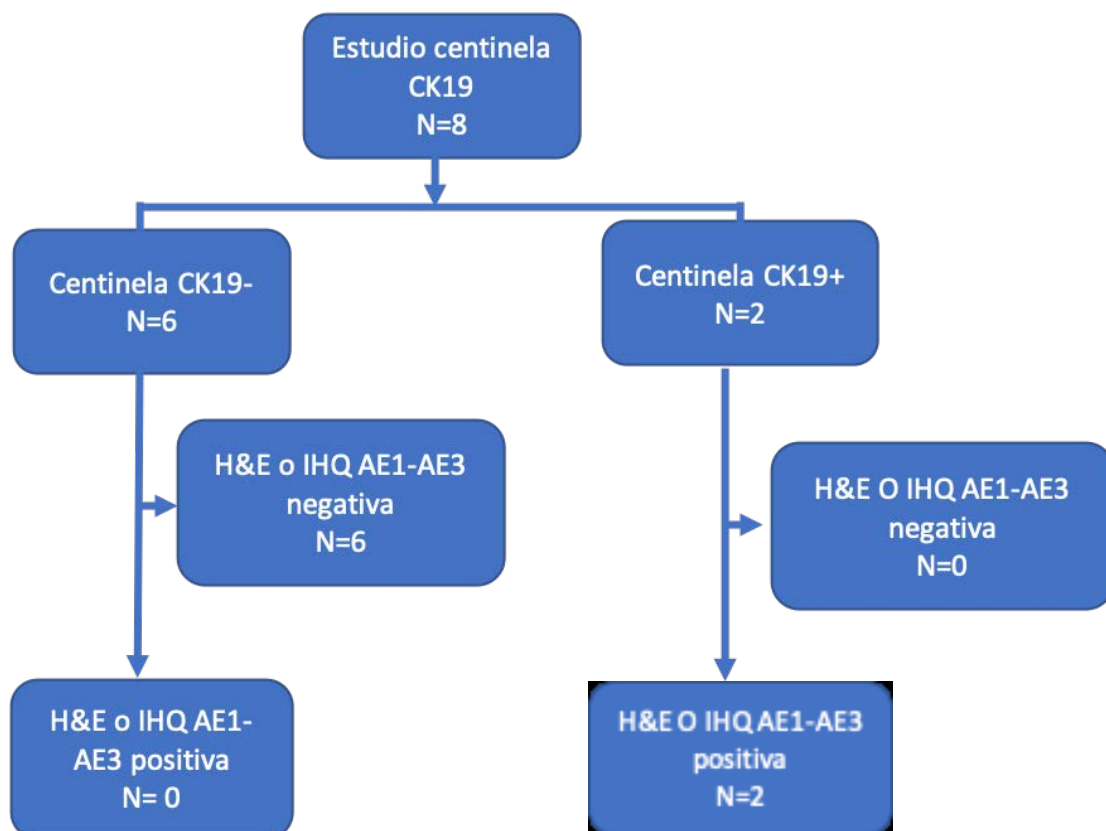


Figura 37 Diagrama de flujo estudio de precisión diagnóstica de expresión de CK19 en GC

Claramente los resultados de este análisis están limitados por el bajo número en la muestra de pacientes. Únicamente 8(15.38%) pacientes de la n total de 52 presentaron una expresión mayor del 30% para poder realizar el estudio del centinela.

#### 4.3.1. La precisión de la CK19 frente a la H&E

En 2(25%) de los ganglios centinelas estudiados se obtuvo una expresión de CK19.

La sensibilidad del estudio CK19 en el ganglio centinela es del 100%. Este resultado significa que esta prueba tiene una probabilidad del 100% de que el resultado en el ganglio centinela sea positivo, si realmente tiene expresión positiva en la H&E.

Observamos que la especificidad tiene un resultado de 100% también, indicando que la CK19 en el ganglio centinela clasifica correctamente como negativas al 100% de las personas con CK19 negativos en la H&E.

**Tabla 8** Evaluación de la exactitud diagnóstica de H&E

H&E	CK 19 Centinela		Total
	Negativa	Positiva	
Negativa	6	0	6
Positiva	0	2	2
<b>Total</b>	6	2	8

	VALOR (IC 95%)
<b>Prevalencia</b>	25% (3.2-65.1)
<b>Sensibilidad</b>	100% (15.8-100)
<b>Especificidad</b>	100% (54.1-100)
<b>Área ROC</b>	1.00 (1.00-1.00)
<b>Valor Predictivo Positivo (VPP)</b>	100% (15.8-100)
<b>Valor Predictivo Negativo (VPN)</b>	100% (54.1-100)

El resultado del área bajo la curva ROC en este caso es de es de 1, lo que sugiere una capacidad alta de discriminación del modelo.

La seguridad de la prueba, es decir la capacidad del test para predecir la positividad o negatividad de expresión de CK19, viene determinada por:

- Del Valor Predictivo Positivo (VPP): la probabilidad de que una persona con resultado positivo de CK19 en la biopsia tenga un resultado positivo en la CK19 en tumor es del 100%.
- Del Valor Predictivo Negativo (VPN): la probabilidad de que una persona con resultado negativo en CK19 en biopsia tenga un resultado negativo en la CK19 en tumor es del 100%.

#### 4.3.2. La precisión de la CK19 frente a la IHQ AE1-AE3

En 2(25%) de los ganglios centinelas estudiados se obtuvo una expresión de CK19.

La sensibilidad del estudio CK19 en el ganglio centinela es del 100%. Este resultado significa que esta prueba tiene una probabilidad del 100% de que el resultado en el ganglio centinela sea positivo si realmente tiene expresión positiva en la H&E.

Observamos que la especificidad tiene un resultado de 100% también, indicando que la CK19 en el ganglio centinela clasifica correctamente como negativas al 100% de las personas con CK19 negativos en la H&E.

**Tabla 9.** Evaluación de la exactitud diagnóstica de la IHQ AE1-AE3.

IHQ AE1-AE3	CK 19 Centinela		Total
	Negativa	Positiva	
Negativa	6	0	6
Positiva	0	2	2
<b>Total</b>	6	2	8

	VALUE (IC 95%)
<b>Prevalencia</b>	25% (3.2-65.1)
<b>Sensibilidad</b>	100% (15.8-100)
<b>Especificidad</b>	100% (54.1-100)
<b>Área ROC</b>	1.00 (1.00-1.00)
<b>Valor Predictivo Positivo (VPP)</b>	100% (15.8-100)
<b>Valor Predictivo Negativo (VPN)</b>	100% (54.1-100)

El resultado del área bajo la curva ROC en este caso es de es de 1, lo que sugiere una capacidad alta de discriminación del modelo.

La seguridad de la prueba, es decir la capacidad del test para predecir la positividad o negatividad de expresión de CK19, viene determinada por:

- Del Valor Predictivo Positivo (VPP): la probabilidad de que una persona con resultado positivo de CK19 en la biopsia tenga un resultado positivo en la CK19 en tumor es del 100%.
- Del Valor Predictivo Negativo (VPN): la probabilidad de que una persona con resultado negativo en CK19 en biopsia tenga un resultado negativo en la CK19 en tumor es del 100%.

Para la evaluación de la concordancia de los resultados de la expresión de CK19 en ganglio centinela respecto a la H&E y a la IHQ, se ha estudiado la concordancia entre los resultados (positivo/negativo) en sendas muestras (Tabla 8). Los resultados presentan un grado de acuerdo del 100%.

El índice Kappa que evalúa el grado de concordancia corregido por el acuerdo atribuible al azar es de 1 en ambos casos, lo cual implicaría un grado de concordancia casi perfecto.

**Tabla 10** Tabla de concordancia entre los resultados de H&E y la CK19 Centinela.

H&E	CK 19 Centinela		Total
	Negativa	Positiva	
Negativa	6	0	6
Positiva	0	2	2
<b>Total</b>	6	2	8

Grado de acuerdo	Índice Kappa
100.0%	1.000

**Tabla 11.** Tabla de concordancia entre los resultados de IHQ AE1-AE3 y la CK19 Centinela.

IHQ AE1-AE3	CK 19 Centinela		Total
	Negativa	Positiva	
Negativa	6	0	6
Positiva	0	2	2
<b>Total</b>	6	2	8

Grado de acuerdo	Índice Kappa
100.0%	1.000

**4.4. Evaluar la asociación estadística entre los factores de interés determinados a priori (grado de diferenciación tumoral, estadio tumoral, recidiva, localización del tumor, EMT) con los resultados de expresión de la CK19 en tumor**

A continuación, se presentan las tablas del estudio para establecer la asociación estadística entre los resultados de expresión de la CK19 en tumor con los diferentes factores de interés:

- Estadio tumoral (pT y pN)
- Localización del tumor
- EMT
- Grado de diferenciación tumoral
- Recidiva

Realizamos el análisis de la asociación entre variables de dos maneras:

- Tomando la expresión de CK19 como positiva/negativa, variable dicotómica
- Tomando la expresión de CK19 en tumor en términos de porcentaje

#### **4.4.1. Estadio tumoral (pT y pN)**

Como se observa en la tabla inferior (tabla 12) , el porcentaje de resultados positivos en la expresión de CK19 en tumores clasificados con un tamaño de T1 es del 17% y del 10% en los T2.

Estas diferencias no resultan estadísticamente significativas (p-valor = 0.599).

Al tomar la expresión de CK19 en tumor en términos de porcentaje, se presentan medianas y p25-p75 (tabla 13).

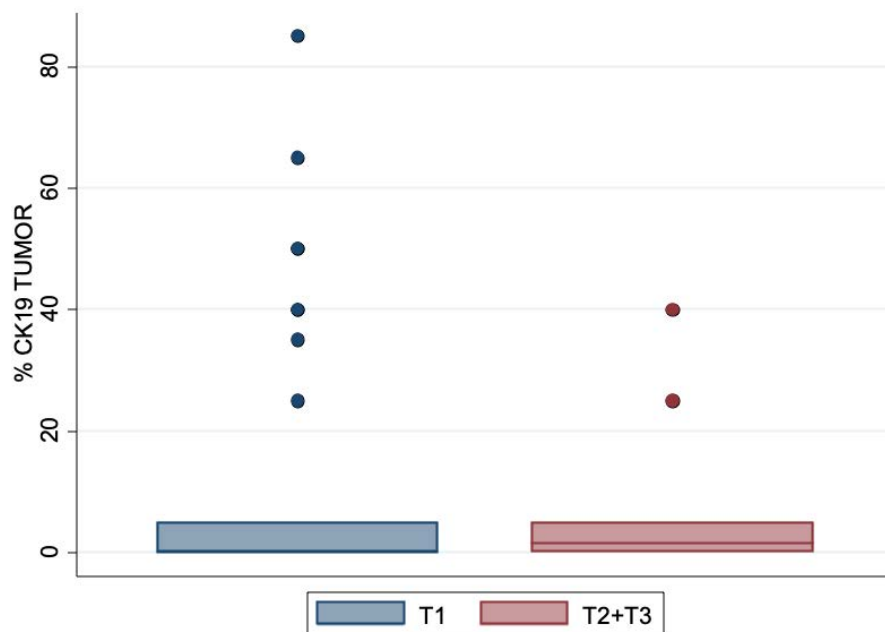
Las diferencias según el grado de diferenciación tampoco son estadísticamente significativas (p-valor=0.492).

**Tabla 12** Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según el estadio tumoral (pT).

pT	CK19 TUMOR		P-valor
	Negativa	Positiva	
T1	35 (83%)	7 (17%)	0.599
T2-T3	9 (90%)	1 (10%)	

**Tabla 13** Porcentaje de expresión CK19 en tumor según el estadio tumoral (pT).

pT	n	CK19 % TUMOR mediana (p25-p75)	P-valor
T1	42	0 (0-5)	0.492
T2	8	1.5 (0-5)	
T3	2	15.5 (7.75-23.25)	



**Figura 38** Diagrama de cajas pT-CK19 TUMOR

Si estudiamos la asociación de la expresión de CK19 en el tumor con el estadio cervical del tumor:

- Sobre el total de 50 pacientes que fueron pN0; en 7(14%) pacientes hubo expresión positiva de CK19 en el tumor frente a 43(86%) que fue negativa.
- Sobre los dos pacientes pN + hubo uno de cada, 1 tubo expresión y otro no. Poco valorable dada la baja n.

Estas diferencias no resultan estadísticamente significativas (p-valor = 0.166).

Al tomar la expresión de CK19 en tumor en términos de porcentaje, se presentan medianas y p25-p75 (tabla 15).

Las diferencias según el grado de diferenciación tampoco son estadísticamente significativas (p-valor=0.116).

**Tabla 14** Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según el estadio tumoral (pN).

pN	CK19 TUMOR		P-valor
	Negativa	Positiva	
N0	43 (86%)	7 (14%)	0.166
N1-N2	1 (50%)	1 (50%)	

**Tabla 15** Porcentaje de expresión CK19 en tumor según el estadio tumoral (pN).

pN	n	CK19 % TUMOR mediana (p25-p75)	P-valor
N0	50	0 (0-5)	0.116
N1-N2	2	21 (2-40)	

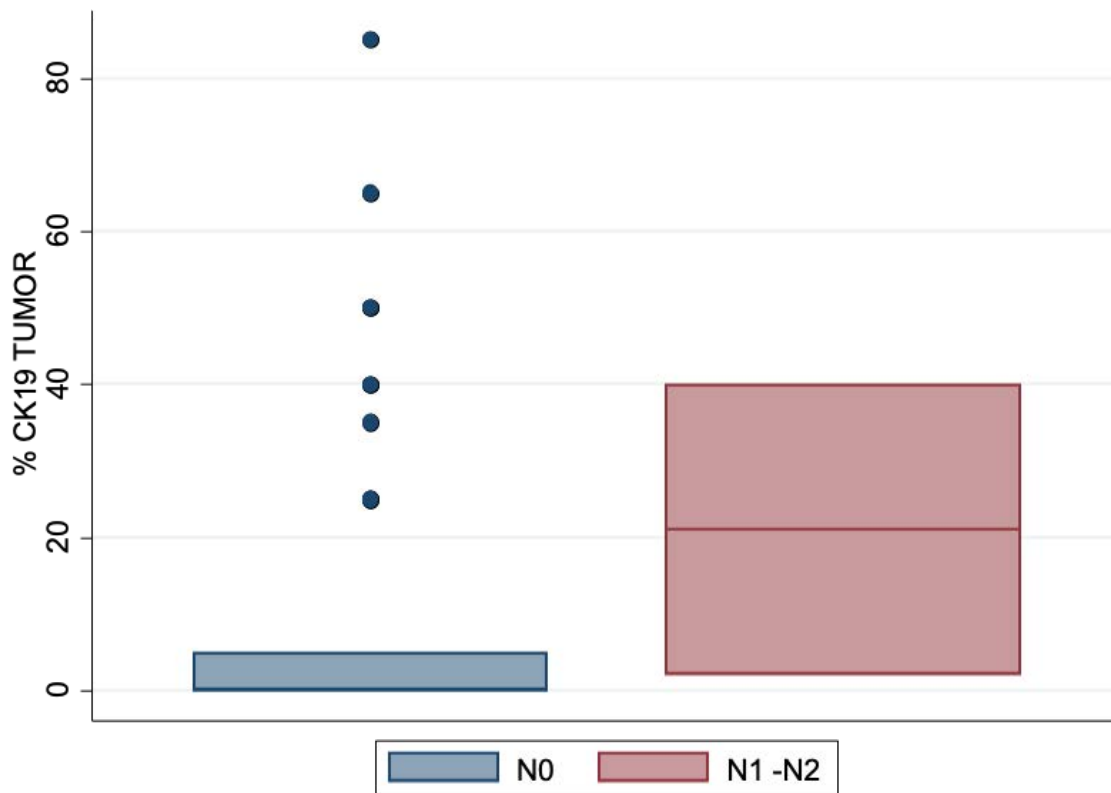


Figura 39 Diagrama de cajas pN0-CK19 TUMOR

#### 4.4.2. Localización del tumor

Al analizar la asociación de expresión de CK19 según localización tumoral no vemos nuevamente diferencias estadísticamente significativas ni según frecuencia de expresión de la CK19 (p-valor = 0.107) ni según porcentaje de expresión (p-valor = 0.251).

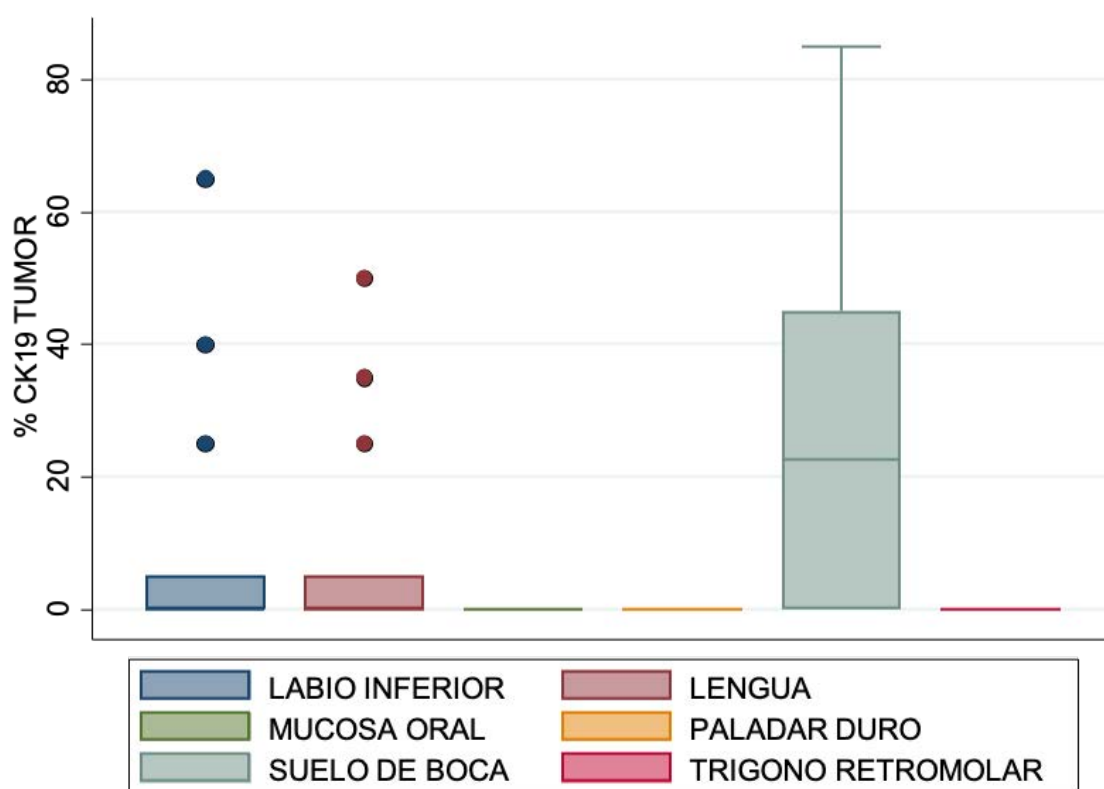
Al tomar la expresión de CK19 en tumor en términos de porcentaje, se presentan medianas y p25-p75 (tabla 17).

Tabla 16 Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según la localización.

LOCALIZACIÓN	CK19 TUMOR		P-valor
	Negativa	Positiva	
Labio Inferior	21 (91%)	2 (9%)	0.107
Lengua	15 (88%)	2 (12%)	
Mucosa oral	2 (100%)	0 (0%)	
Paladar duro	1 (100%)	0 (0%)	
Suelo de boca	4 (50%)	4 (50%)	
Trígono retromolar	1 (100%)	0 (0%)	

**Tabla 17** Porcentaje de expresión CK19 en tumor según la localización.

LOCALIZACIÓN	n	CK19 % TUMOR mediana (p25-p75)	P-valor
Labio Inferior	23	0 (0-5)	0.251
Lengua	17	0 (0-5)	
Mucosa oral	2	0	
Paladar duro	1	0	
Suelo de boca	8	22.5 (0-45)	
Trígono retromolar	1	0	



**Figura 40** Diagrama de cajas LOCALIZACIÓN TUMORAL-CK19 TUMOR

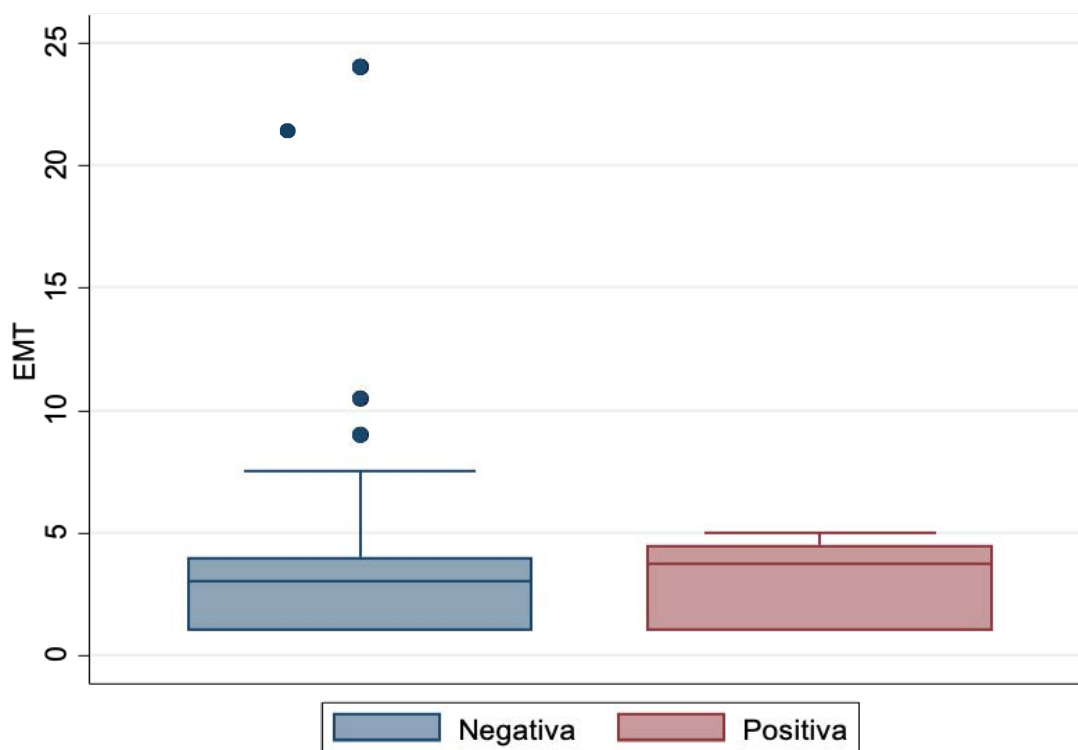
#### 4.4.3. EMT

En 2 pacientes no se recogió correctamente el EMT, por eso vemos que la n es de 50.

Como se observa en la tabla 16, no se observan diferencias significativas entre los valores de EMT según si la expresión de CK19 en el tumor fue positiva o negativa ( $p = 0.968$ ). Si se toma la variable expresión de CK19 en el tumor en porcentajes se aprecia que la correlación entre ambas es positiva pero no significativa (Rho de Spearman = 0.262,  $p$ -valor = 0.066). Es decir, a medida que aumenta el EMT aumenta la expresión.

**Tabla 18** Valores que toma la variable EMT en función de las categorías de CK19 TUMOR.

CK19 TUMOR	n	EMT	P-valor
Negativa	42	3 (1-4)	0.968
Positiva	8	3.75 (1-4.5)	



**Figura 41** Diagrama de cajas EMT-CK19 TUMOR

#### 4.4.4. Grado de diferenciación

Como se observa en la tabla 17 el porcentaje de resultados positivos en la expresión de CK19 en tumor son 33% en los tumores pobremente diferenciados, 29% en los moderadamente diferenciados y 12% en los bien diferenciados. Estas diferencias no resultan estadísticamente significativas (p-valor = 0.356).

Al tomar la expresión de CK19 en tumor en términos de porcentaje, se presentan medianas y p25-p75 (tabla 20). Las diferencias según el grado de diferenciación tampoco son estadísticamente significativas (p-valor=0.264).

**Tabla 19** Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según el Grado de diferenciación

GRADO DE DIFERENCIACIÓN	CK19 TUMOR		P-valor
	Negativa	Positiva	
Bien diferenciado	37 (88%)	5 (12%)	0.356
Moderadamente diferenciado	5 (71%)	2 (29%)	
Pobremente diferenciado	2 (67%)	1 (33%)	

**Tabla 20** Porcentaje de expresión CK19 en tumor según el Grado de diferenciación

GRADO DE DIFERENCIACIÓN	n	CK19 % TUMOR mediana (p25-p75)	P-valor
Bien diferenciado	42	0 (0-5)	0.264
Moderadamente diferenciado	7	0 (0-50)	
Pobremente diferenciado	3	5 (0-85)	

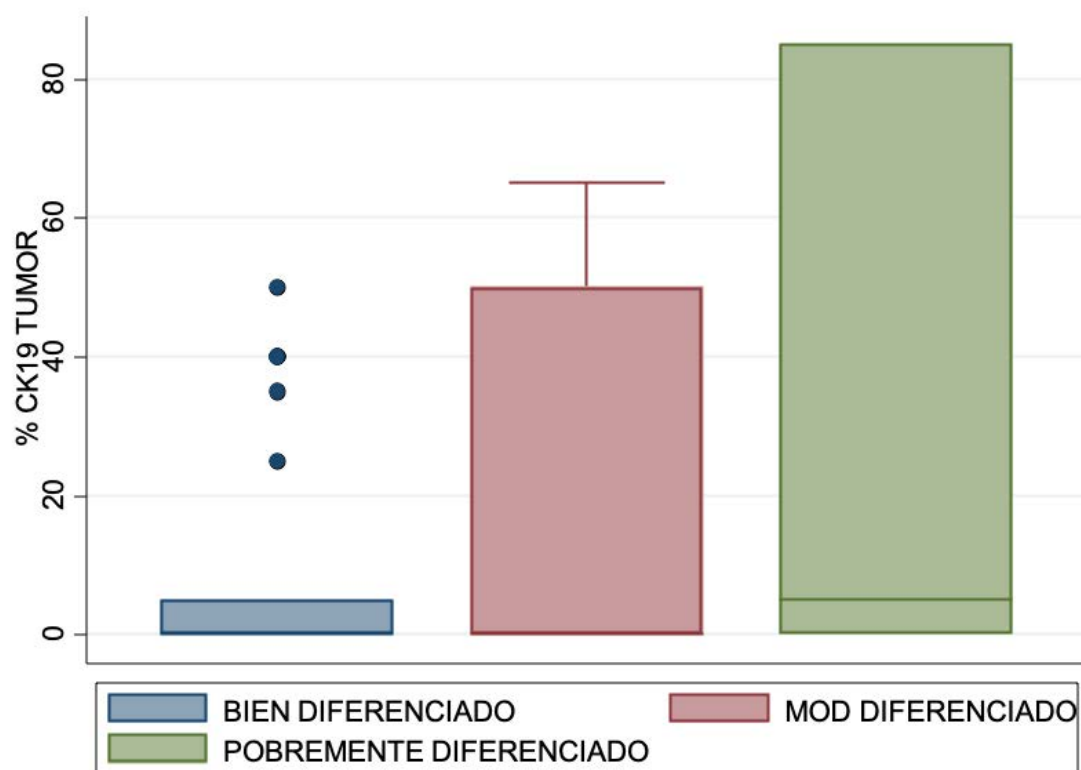


Figura 42 Diagrama de cajas GRADO DE DIFERENCIACIÓN-CK19 TUMOR

#### 4.4.5. Recidiva

Como se observa en la tabla 19 sobre los pacientes que presentaron recidiva, sea local o cervical, que fueron 3 en ninguno de ellos hubo expresión de CK19 en el tumor.

El estudio de la asociación de las diferencias de expresión de CK19 sobre los que no recidivan no aporta significado en este sentido.

Tabla 21. Frecuencia de expresión positiva de CK19 en tumor según presencia de recidiva.

RECIDIVA	CK19 TUMOR		P-valor
	Negativa	Positiva	
No	41 (84%)	8 (16%)	0.477
Si	3 (100%)	0 (0%)	

Tabla 22. Porcentaje de expresión CK19 en tumor según presencia de recidiva.

RECIDIVA	n	CK19 % TUMOR mediana (p25-p75)	P-valor
No	49	0 (0-5)	0.785
Si	3	0 (0-5)	



# 5.DISCUSIÓN

El carcinoma de cavidad oral en 2022 se posiciona en el puesto de decimosexto a nivel global en cuanto a incidencia y en el decimoquinto en cuanto a mortalidad, por lo que representa un porcentaje importante del cáncer mundial, siendo el tumor maligno más frecuente del tracto aerodigestivo superior.<sup>1</sup>

El tabaco y el alcohol, además de ser la etiología fundamental de esta enfermedad, son los factores medioambientales más preocupantes en la salud pública.

El CECO se caracteriza por una progresión natural de la enfermedad hacia los ganglios linfáticos cervicales (enfermedad regional). La estadificación correcta de la extensión ganglionar cervical, supone el factor de mayor valor pronóstico en cuanto supervivencia y ocurre en el 20-30% de los tumores en estadios precoces, implicando un descenso significativo en la esperanza de vida.

La estadificación estándar incluye tanto la exploración física clásica como técnicas de imagen, generalmente TAC, PET-TAC, ecografía, o RMN.

A pesar de un diagnóstico clínico-radiológico de NO, la prevalencia de afectación linfática oculta se estima entre el 20-30%.<sup>130</sup>

La consecuencia de la no detección de metástasis cervicales ocultas aumenta el riesgo de recurrencia y disminuye la supervivencia a 5 años desde el 82% al 53%.<sup>132</sup> Por todo esto la decisión de qué tratamiento cervical realizar se ha convertido en un tema controvertido.

En la actualidad el vaciamiento cervical es considerado la opción terapéutica de elección. Sin embargo, el 70-80 % de los cuellos NO clínico-radiológicos no presentan metástasis cervicales en el estudio histopatológico posterior, pudiendo considerarse la disección cervical en estos casos como un sobretratamiento.

La biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) es una técnica con baja morbilidad, que trata de confirmar de forma más certera y menos invasiva la existencia de metástasis cervical, basándose en el examen de la primera estación de drenaje linfático del tumor primario. La BSGC se posiciona como una solución intermedia entre la actitud expectante (vigilancia cervical) y la disección cervical (con su elevada morbilidad y

consumo de recursos), ya que es un método diagnóstico fácilmente asequible, en comparación con otros métodos de imagen.

Otra ventaja de la técnica de la BSGC, en comparación con la disección cervical electiva, es que permite una evaluación más precisa de ese menor número de ganglios. Los protocolos de estudio rutinarios de cada ganglio centinela suponen técnicas de multi seccionamiento y tinción IHQ utilizando anticuerpos anticitoqueratinas AE1/AE3. Estas técnicas han permitido revelar pequeños depósitos tumorales que no se detectaban en el estudio anatomopatológico estándar.

Desde 2002 se incluyen en la clasificación de la *American Joint Committee on Cancer Control* (AJCC) y la *Union for International Cancer Control* (UICC) el concepto de micrometástasis como un depósito tumoral que está entre 0,2 y 2 mm, y se reconoce como una entidad independiente los depósitos celulares aislados (ITCs), los cuales son simples células tumorales aisladas o pequeños “racimos” de células tumorales no mayores de 0,2 mm de diámetro.<sup>205</sup>

Por lo tanto, la técnica de la BSGC permite realizar un estadiaje cervical más preciso que el estudio patológico estándar de toda la muestra de disección cervical. En primer lugar porque los cortes son inferiores a los estándar de 2-3mm que perderían el diagnóstico de micrometástasis e ITCs. Además, la IHQ puede detectar pequeñas metástasis en el 5-13% de los pacientes que permanecían indetectables por hematoxilina/eosina.<sup>206</sup>

Tras múltiples estudios de validación este procedimiento fue incluido en las NCCN y en otras guías de práctica clínica extendiéndose su uso clínico bajo las indicaciones establecidas de estadios iniciales.<sup>100</sup>A pesar de ello siempre ha existido un hándicap, debido a la necesidad de aplicación de un método rápido y fiable de diagnóstico intraoperatorio. Actualmente la IHQ (IHQ) se presenta como el *gold standard*, pero precisa de 1-2 días para su procesamiento e imposibilita su uso intraoperatorio. Este método intraoperatorio evitaría una segunda cirugía, con sus costes asociados, retraso de tratamiento, posibilidad de complicaciones y aumento de morbimortalidad del paciente.

Por ello, muchos de los estudios recientes en este aspecto se han centrado en la búsqueda de un método fiable, preciso y rápido para su uso intraoperatorio.

Este estudio se diseña con el objetivo de estudiar el único marcador viable hasta la fecha, para ser usado de manera rápida intraoperatoria a través del estudio de amplificación en un solo paso de ácidos nucleicos (OSNA) que es la CK19.

Tras varias publicaciones que presentaban expresiones muy variables y que no se realizaban bajo los criterios clínicos de aplicación de la técnica de BSGC, que finalmente sería su aplicación, decidimos realizar un estudio en nuestro centro sobre este marcador bajo las condiciones de uso clínico.

En el Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital 12 de Octubre, se comenzó a realizar la técnica de ganglio centinela en Enero de 2014 y ante la limitación en la precisión diagnóstica del análisis de las micrometástasis cervicales basados en la literatura internacional y con el objetivo de avanzar en el estudio de un método intraoperatorio de estudio del ganglio centinela, a principios de 2015 el equipo investigador del presente trabajo diseñó este estudio de evaluación de la CK19 como marcador, con la colaboración fundamental del servicio de Anatomía Patológica y de Medicina Nuclear del mismo centro.

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral es dar respuesta a la pregunta:

**¿Es la CK19 un marcador preciso para la detección de metástasis cervicales en pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral en estadios iniciales?**

Esta pregunta intenta dar respuesta a su vez a ver si es viable o no, la incorporación del estudio OSNA, basado en la expresión de la proteína CK19 en el procedimiento de la BSGC sobre los pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral en estadios iniciales.

Para poder responder a estas preguntas tenemos que dar respuesta a los objetivos del estudio y discutir si son congruentes con los hallazgos de la literatura.

### **5.1. Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 de la biopsia, en los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales (I-II)**

En los estudios de precisión diagnóstica, se comparan los resultados de una o más pruebas, con los obtenidos mediante la prueba diagnóstica de referencia sobre el mismo grupo de pacientes.<sup>207</sup>

El objetivo del estudio de la precisión diagnóstica de la expresión de la CK19 en la biopsia, es dar respuesta a las preguntas:

- ¿La expresión de CK19 en la biopsia representa la expresión total del tumor?  
¿Hay concordancia entre ambas medidas?
- Pero, ¿por qué es importante esta concordancia para la validación de la CK19 como marcador?

Si el objetivo es usar la CK19 como marcador histológico de uso intraoperatorio para la detección de células tumorales en el ganglio centinela, es necesario saber si el tumor expresa o no CK19. Si no lo expresa o lo expresa en una cantidad pequeña <sup>200</sup> las células tumorales que este mande al ganglio cervical, si ha ocurrido diseminación linfática, se comportaran de la misma manera que las del tumor, por lo que la CK19 no será un marcador válido de estudio.

Si expresan CK19, como mínimo en la cantidad consensuada significativa, las células tumorales del ganglio se comportarán igual y podremos utilizar la detección de expresión de CK19 para estudiarlo.

Por ello de cara a validar la CK19 como marcador válido o no para este propósito, es fundamental:

1. Que presenta una alta prevalencia de expresión, tanto en la biopsia como en el tumor, en la muestra de pacientes.
2. Qué la validez interna de la prueba sea adecuada. Es decir que la sensibilidad y especificidad de esta prueba sean altas.
3. Que haya una concordancia entre la expresión en la biopsia como en el tumor.  
Dado que en el flujo de decisión terapéutico de la práctica clínica debemos

decidir, si está indicado el uso intraoperatorio del estudio de la CK19 sobre los ganglios centinelas, si la biopsia inicial previa a la resección del tumor tiene una expresión alta. Por lo que la precisión diagnóstica de expresión de CK19 en la biopsia inicial tiene que ser alta para ser representativa de la expresión del tumor completo.

La prevalencia de expresión de CK19 en las biopsias iniciales de los pacientes de la muestra es del 15.4%.

La prevalencia de expresión de CK19 en el tumor de los pacientes de la muestra es del 15.4%.

En ambos casos hay 8 pacientes de 52 que presentan positividad de expresión de CK19 tanto en la biopsia como en el tumor.

Esto nos indica una baja prevalencia de expresión tanto en biopsia como en el tumor. Esta expresión es extremadamente insuficiente para sugerir que la CK19 podría usarse de manera generalizada para el CECO en esta indicación.

La sensibilidad del 50% de la prueba de expresión de CK19 en la biopsia ofrece solo un 50% de probabilidad, de que el resultado en la biopsia sea positivo si realmente tiene expresión positiva en el tumor. A su vez esta prueba presenta una especificidad más alta del 90.9%, indicando que clasifica correctamente como negativas al 90.9% de las personas con CK19 negativos en tumor.

La prevalencia de expresión de CK19 en la biopsia respecto al tumor es la misma, 15,4%. Pero si revisamos la concordancia entre resultado positivo/negativo de expresión en biopsia y tumor, los resultados presentan un grado de acuerdo del 84.6% (44/52). En 15.4% de los pacientes en los que estudiemos la expresión de CK19 no se corresponde con la expresión real del tumor. Según el índice Kappa este grado de concordancia sería moderado.

Al evaluar la concordancia comparando porcentajes de expresión, en vez de positividad/negatividad, de la CK19 en biopsia respecto al porcentaje de expresión en

tumor mediante el ICC nos da un grado de acuerdo suficiente según la Escala de Liliequist.

Estos resultados con una expresión muy baja y heterogénea confirman que la CK19 puede detectarse sólo en un subconjunto de tumores primarios. En este sentido, el CECO difiere del carcinoma de mama, colorrectal o de estómago, todos ellos adenocarcinomas, donde CK19 OSNA ha sido clínicamente validado demostrando una prevalencia de expresión mucho más alta.<sup>208 209 210 211</sup>

La sensibilidad baja de la prueba no permite establecer una relación de causalidad y por tanto imposibilita realizar una afirmación positiva ante un resultado positivo de la prueba. Lo que limitaba la confianza diagnóstica de que el resultado de la biopsia exprese realmente el del tumor y pueda usarse, aunque la sensibilidad sea más alta.

Entendemos la precisión de una prueba como el margen de error de la estimación. A medida que aumenta el tamaño de muestra la precisión de la estimación mejora (valor más pequeño).

En nuestro estudio tenemos una precisión de 0.3, que es bastante alta teniendo en cuenta que el Kappa se mueve entre 0 y 1. Al tener una muestra pequeña la estimación de la concordancia es imprecisa. La estimación del Kappa es 0.409 con un intervalo de confianza muy amplio (IC95% 0.047; 0.804). Es decir que el verdadero valor de la concordancia de CK19 entre tumor y biopsia puede ser del 5% o hasta casi el 80%. Si tuviésemos un tamaño de muestra mayor, podríamos haber acotado más estas estimaciones y por tanto haber sido más precisos.

Uno de los riesgos de presentar falsos positivos de la técnica de la CK19, aplicado a la BSGC en CECO, es la presencia de tejido epitelial circundante (glándulas salivales o tiroides).<sup>212</sup>

Se encontraron glándulas salivales ectópicas hasta en 12.1% de las muestras de disección del cuello.<sup>213</sup>

Hay bastantes discrepancias en la importancia que se da a este riesgo. Desde estudios que consideran que se puede ignorar la influencia de las glándulas salivales ectópicas

porque la expresión de ARNm de CK19 en los tejidos de las glándulas salivales es extremadamente baja.<sup>170</sup>

Hasta estudios que hablan de necesidad de estudio específico para eliminar estos tejidos. Dejando claro que no hubo inclusiones de ganglios linfáticos epiteliales (salival o tiroides); sin embargo, detallan que en un caso CK19 positivo el tejido de la glándula salival perinodal se incluyó en la sección.<sup>214</sup>

Algunos reportan hallazgos de expresión fuerte y consistente de CK19 en tejido glandular ectópico.<sup>215</sup>

En nuestro estudio, en el análisis retrospectivo de todas las muestras de cara al estudio de CK19 se eliminaron todos los tejidos glandulares que podrían crear FP. Aun así la posibilidad de FP la podríamos encontrar sobre todo en los tumores de labio, pero en la experiencia de los autores del presente estudio, de 23 pacientes con tumor de labio inferior, la expresión de CK19 se dio en 7 casos. Siendo negativos 5 de ellos, con un porcentaje de expresión en el tumor del 2% en 1 de ellos, 5% en 3 de ellos y 25% en 1 paciente. Fueron positivos, con una expresión igual o mayor de 30%, sólo 2 pacientes, con expresiones de 40 %y 60%.

Este problema de falsa positividad de cara al ganglio centinela supone menor problemática, dado que las inclusiones son vistas antes del análisis en un protocolo BSGC con multiseccionamiento, pero un FP a nivel cervical puede suponer un tratamiento innecesario del cuello sin enfermedad ganglionar.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que informa de la expresión de CK19 y su precisión diagnóstica en pacientes con CECO en España. También encontramos que supone el primer estudio que realiza el análisis de la expresión de la CK19 solo en estadios iniciales (I-II), bajo las indicaciones de su aplicación clínica incluyendo el estudio de concordancia de la expresión de CK19 entre la biopsia y el tumor.

En nuestra comparativa de resultados en relación a la bibliografía existente hasta la fecha de redacción de este estudio, cabe destacar en primer lugar, que no hay una

uniformidad de escala de medición ni técnica histológica para medir la expresión de la CK19. Esto dificulta en gran medida la comparación entre resultados.

En cuanto a la escala de medición de la expresión de CK19 en algunos estudios, la expresión de CK19 se clasificó utilizando el sistema H, calculado multiplicando la intensidad de la tinción (0-3) con el porcentaje de células tumorales teñidas (0-100%). La intensidad de la tinción se calificó como negativa. (0), débil (1), moderada (2) y fuerte (3).<sup>216 217</sup>

En otro grupo de publicaciones utilizan la puntuación de Allred >2 como positividad. La puntuación de Allred es un sistema que analiza el estado de expresión de receptores hormonales.<sup>215</sup> Y posteriormente se califica en una escala de 0 a 8. Cuanto mayor sea la puntuación, más expresión tiene.

Otra tercera escala utilizada para medir la expresión fue la usada por Suzuki et al. en 2016, quienes estudiaron las lesiones primarias extirpadas durante la cirugía para determinar la expresión de CK19 mediante inmunotinción con el anticuerpo monoclonal RCK108(DAKO, Hamburgo, Alemania).<sup>202</sup> Según esta evaluación utilizando J-score cuando más del 1% de las células tumorales fueron inmunoteñidas en el tumor primario, el patólogo lo consideró positivo para CK19.El mismo criterio se usó sobre el ganglio centinela.<sup>218</sup>

En este estudio decidimos medir la expresión en porcentaje dado que es la medida más extendida en España y en Europa, para la medición de la CK19 en cáncer de mama donde encontramos el consenso más validado. Establecemos la positividad de expresión si presenta un porcentaje de expresión igual o mayor al 30%.<sup>200</sup>

En cuanto a la expresión hay un importante debate sobre los grados de expresión de la CK19 en CECO, con grados que oscilan entre 29% y 100%. A continuación, realizamos una revisión de los principales artículos que estudian esta expresión estudiada sobre CECO.

Hamakawa et al.<sup>12</sup> encontraron que la tasa de proteína CK19 positiva fue del 66,7% en el tejido de CEEO, pero sólo el 24% fue designado como de intensidad de tinción fuerte.

161

Nie et al.<sup>13</sup> encontraron una tasa de positividad del 100% de la proteína CK19 en tejido de CEEO.<sup>219</sup>

Vora et al.<sup>5</sup> encontraron que la tasa positiva de la proteína CK19 era solo del 29% en las células escamosas de la lengua.<sup>220</sup>

Yamauchi et al. revisó a 17 pacientes con T1/T2, N0 con carcinoma epidermoide lingual que fueron tratados quirúrgicamente.<sup>221</sup> Evaluaron la expresión de varios marcadores CK19, CK903, p63, CK8/18 y AE1/AE3. Reportando una expresión débil e irregular de CK19 y CK8/18. Estableciendo el p63 y el AE1/AE3 como mejores marcadores de utilidad clínica.

Suzuki et al. en 2014 estudió 21 tumores primarios de carcinoma epidermoide de cabeza y un total de 54 ganglios linfáticos cervicales.<sup>202</sup> Evidenció que la CK19 no es marcador celular epitelial altamente expresado en todos los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello con una tasa de expresión del 43%.

Un estudio de 2022 evaluó la expresión de CK19 utilizando la puntuación H informó que el 29,9% de sus pacientes con CEEO tenían una expresión alta de CK19.<sup>217</sup>

Rahadiani et al en 2023 publicó la evaluación de la expresión de CK19 que reveló que 45 pacientes (73,8%) tenían expresión baja de CK19 mientras que 16 pacientes (26,2%) tenía alta expresión de CK19. La mediana de la puntuación H fue 69,8 y la puntuación H mínima fue 0 y la puntuación H máxima es 300.<sup>216</sup>

Otros estudios con diferentes escalas para esta evaluación informaron expresiones de CK19 positivas de 31,8%, 56%, 58%, 62,2%, 90,9% y 100%.<sup>184 222 223 224 225 226</sup>

También gran parte de las discrepancias de porcentaje de expresión viene de las diferentes técnicas de medición empleadas.

En nuestro estudio utilizamos una misma técnica, detallada en la sección de diseño del estudio, para el estudio tanto de la prueba de referencia de citoqueratinas AE1-AE- como de la CK19 que es la IHQ, que es la técnica estándar, más usada en la práctica clínica y también la más recogida en la bibliografía.

Dado que el OSNA, como explicamos en la parte de introducción, es una técnica molecular que permite detectar el ARN mensajero de la CK19 mediante PCR, esto ha producido que en diferentes estudios se estudie no solo la expresión de proteínas de la CK19 sino también su ARN mensajero con diferentes técnicas.

En 2007 Zhong LP et al. investigaron la expresión de CK19 en el tejido del CECO de 33 pacientes así como su correlación con el grado de diferenciación patológica y el pronóstico.<sup>183</sup>Cada muestra la dividieron en 2 partes, una para la detección de la proteína CK19 mediante IHQ y la otra para la estudio de CK19 ARNm mediante cadena de polimerasa con transcriptasa inversa fluorescente en tiempo real reacción (RT-PCR).La tasa de positividad de CK19 en tejido canceroso fue del 90,9% (30 de 33) detectada mediante IHQ. La expresión de ARNm de CK19 estudiado mediante RT-PCR, fue 2,21 veces mayor que en tejido distante (P0.020).

En 2016, posterior al diseño de este estudio Shaw et al. publicaron el estudio de dos cohortes: una de ellas eran 43 pacientes cT1no y cT2N0 es decir paciente con indicación de realización de ganglio centinela.<sup>214</sup>Y una segunda cohorte 87 que la mayoría de ellos fueron cT3-T4. En este estudio se realizó el análisis de expresión de CK19 con diferentes técnicas: qRT-PCR, ARN hibridación in situ (ISH) e IHQ, así como OSNA.

En la cohorte 1, de 43 tumores primarios cT1/T2N0 analizados con IHQ la CK19, 21 (48,8%) fueron positivos. Cuando se realizó el análisis con CK19 RNA ISH 29/39 (74,4%) fueron positivos. CK19 IHQ fue concordante con CK19 RNA ISH en 26 de 39 casos (66,7%). Para ambas pruebas, la tinción fue generalmente débil y heterogénea. De los 13 resultados discordantes, 9 fueron positivos en RNA ISH y negativo en IHC, lo que refleja una mayor sensibilidad del ARN ISH.

En relación al centinela, CK19 IHQ y CK19 RNA ISH fueron concordantes en 6 de 8 casos con metástasis en ganglios linfáticos. Ninguno de los ganglios linfáticos sin evidencia de metástasis de carcinoma (n = 26) expresó CK19.

En el estudio de ARNm de CK19 mediante qRT-PCR. 18 de 26 (69%) tejidos tumorales primarios cT1/T2N0 fueron positivos para ARNm de CK19 mediante qRT-PCR. CK19 qRTPCR fue concordante con IHQ en 16 de 26 casos (62%) y con CK19 RNA ISH en 13 de 22 casos (59%).

En la cohorte 2 de 87 muestras de tumores primarios analizadas finalmente se pudo estudiar la CK19 sobre 76 muestras de tumores, 61 (80%) fueron positivas para ARNm de CK19 por OSNA, sin correlación para el estadio del tumor o la localización del tumor primario.

Para investigar la técnica del OSNA se extrajo el ARNm de los tejidos OSNA de las 87 muestras fue sometido a qRT-PCR. Se excluyeron cuatro muestras basadas en los bajos niveles de ARN. De estas 83 (67%) fueron positivas para CK19, mostrando concordancia con los datos de OSNA en 70 de 81 (85%) de los casos.

Los resultados finales de ambas cohortes demostraron que la expresión del ARNm de tumores primarios de CECO es del 60-80%, mientras que la expresión de proteínas (ISH, IHQ) se observó en sólo el 50% de los tumores. La discordancia entre diferentes técnicas indicó que OSNA era más sensible que qRT-PCR o RNA-ISH, que a su vez eran más sensibles que IHQ.

Un año más tarde en 2017 publicaron este artículo sobre 207 pacientes donde estudiaron la expresión IHQ de la CK19. <sup>215</sup>En este estudio se entiende que, de los 207 pacientes, 97 estaban clasificados como estadios tempranos (I-II) y 66 de esos 207 presentaban afectación cervical, por lo que ya se consideran estadios avanzados (III-IV). También, como en nuestro estudio, tuvieron que eliminar pacientes (36) por insuficiencia en el tejido para determinar estudio de la expresión de CK19.

La expresión de CK19 varió ampliamente entre los diferentes CECO. La puntuación media para el tumor primario fue de 2,7 (rango 0-8) y para las metástasis ganglionares fue de 4,0 (rango 0-8).

El 44% (94/207) de los tumores primarios en total y el 39% (38/97) incluyendo solo los estadios iniciales fueron positivos para expresión de CK19, ambas expresiones mayores que la evidenciada en nuestro estudio.

La expresión en nuestro estudio (15.4%) es la menor respecto a otros estudios. Creemos que esto se justifica en primer lugar por un tamaño muestral pequeño y fundamentalmente porque solo incluye tumores de estadio temprano(I-II) siendo el 81% de ellos T1. Estos tumores son de un tamaño pequeño menores de 2 cm(T1), por lo que puede condicionar que la expresión sea menor de 30% y con el crecimiento del tumor aumenta. A posteriori en el último objetivo estudiaremos si la expresión de CK19 tiene relación con factores pronósticos como la diferenciación, tamaño o EMT. Pero como ya hemos visto en los estudios revisados previamente los estadios avanzados siempre presentan expresiones de CK19 más altas.

También la técnica histológica usada fue la de IHQ, que como hemos podido revisar es la menos sensible, pero es la usada en la práctica clínica y la que se encuentra a disposición en nuestro centro. El resto de técnicas requerirían financiación económica con la que no contaba este estudio.

Como conclusión, tanto los resultados de este estudio, como la bibliografía existente hasta la fecha muestran una expresión de CK19 no lo suficientemente alta ni uniforme como para convertir la CK19 en el un marcador fiable para el estadiaje ganglionar de uso generalizado y rutinario.

Inicialmente en la gran mayoría de los estudios no indican si de cara a la aplicación clínica del OSNA, exigían una expresión mínima en la biopsia de cara a su aplicación. De hecho, creó una gran controversia la publicación de dos estudios japoneses que aplicaban la técnica del OSNA sin un estudio previo de la expresión del tumor y con muy buenos resultados de precisión diagnóstica sobre el centinela.

Goda et al en 2012, encontró una precisión del 94% por ganglio y 94% por paciente. <sup>170</sup>

Matsuzuka et al. también en el mismo año publicaron un VAN del 95,9% en carcinoma epidermoide de cabeza y cuello. <sup>171</sup>

Ambos estudios se llevaron a cabo en una población japonesa con variedad de estadios clínicos y diferentes localizaciones de cabeza y cuello. Debido a que el estudio con ganglio centinela esta validado solo para uso en pacientes cT1-T2 N0 de cavidad oral (NCCN y NICE) estos estudios no reflejan la población objetivo en cuestión.

Posteriormente a estas publicaciones debido a las debilidades detectadas varios proyectos sí comenzaron a estudiar la expresión de ck19 del tumor y sugerían la necesidad de una expresión mínima de cara al uso de la CK19 como marcados sobre el centinela.

Suzuki et al. en 2016 compararon la sensibilidad y especificidad del OSNA en pacientes con tumores CK19 positivos y negativos. <sup>202</sup>Compararon el OSNA tomando como prueba de referencia la H&E, dato que nos parece insuficiente al no incluir un estudio de IHQ siendo un estudio sobre ganglios centinelas. En pacientes con una lesión primaria CK19 positiva por inmunotinción, la sensibilidad y especificidad del OSNA fue del 86% y del 100%, respectivamente. En comparación con pacientes con tumores CK19 negativos, donde la sensibilidad y especificidad de la fue de 50% y 97%, respectivamente. Es decir, la precisión del OSNA, fue mayor en los pacientes con tumores CK19 positivos respecto a los negativos. Este hallazgo sugiere que el estudio de expresión de CK19 previo es un requisito necesario para detectar metástasis en los ganglios linfáticos mediante el método OSNA.

Noorlang et al. en una tentativa de preseleccionar pacientes en función de la expresión de CK19 estudiaron la homogeneidad de la expresión de CK19 en el tumor primario.

Se encontró una alta consistencia de la expresión de CK19 dentro del tumor, lo que indica que una la biopsia del CECO se puede utilizar para determinar la expresión de CK19 de todo el tumor primario. <sup>215</sup>

En el diseño de este estudio, contando con los especialistas del servicio de Anatomía Patológica, creímos indicado añadirlo bajo la justificación (dado que no hay protocolo en el CECO) no solo de bibliografía existente sino de que en el resto de carcinomas donde está validado la técnica del OSNA se realiza a pesar de que las prevalencias de expresión son mucho más altas del 95% como es el caso del carcinoma de mama.<sup>191 227</sup>

No aplicar este requerimiento de expresión mínima sobre la biopsia y en consecuencia sobre el tumor aumentaría el número de falsos negativos. En el estudio de Shaw et al. los resultados del OSNA, mostraron expresión de CK19 en el 80% de los casos primarios, por lo que si se utiliza para el diagnóstico del estudio de metástasis de ganglios linfáticos, podrían dar lugar a un resultado falso negativo en el 20% de los casos donde serían negativos, pero por falta de expresión también en el tumor primario.<sup>214</sup> Dato que es inadmisibles de cara a la aplicación de cualquier prueba diagnóstica y más en su aplicación en oncología.

## **5.2. Estimar la precisión diagnóstica de la CK19 para la detección de metástasis en el ganglio centinela de los carcinomas epidermoides de cavidad oral en estadios iniciales(I-II)**

De cara a la validación de la CK19 para uso en el CECO en estadios iniciales, no solamente debíamos analizar su prevalencia de expresión y su concordancia respecto al tumor, realmente hasta aquí solo hemos llegado a analizar los requisitos previos a su aplicación.

El objetivo del uso de la CK19, en forma del estudio OSNA, fundamentalmente recae en la capacidad de esta en diagnosticar las células tumorales en el ganglio centinela.

Para ello estudiamos también la precisión diagnóstica de la CK19 sobre el centinela comparándolo con dos pruebas de referencia a nivel histopatológico, la H&E y la IHQ AE1-AE3.

En el estudio que presentamos, hay dos limitaciones importantes:

1. Por un lado, la baja expresión de CK19 en la biopsia y en la pieza tumoral postquirúrgica, supone una limitación del estudio.

2. Por otro el acotamiento del tipo de tumor y estadiaje reduce el tamaño muestral, y esto lo demuestra el presente estudio, que pese a realizarse en un centro de referencia nacional en patología maxilofacial, únicamente se han reclutado 52 pacientes en un periodo largo de tiempo (7 años).

Dado que la expresión positiva de 15.4% se corresponden solo a 8 pacientes, se realizó el estudio de la expresión de CK19 de los ganglios centinelas de este grupo.

De manera global se estudiaron 124 ganglios centinelas en el total de los 52 pacientes. En estos 124 ganglios el protocolo de estudio histológico de ganglio centinela estaba hecho, pero se revisaron de manera retrospectiva para completarlo en algún caso que no estaba hecha la AE1-AE3.

Sólo en 19 de éstos 124 ganglios, en estos 8 pacientes donde la biopsia de CK19 fue positiva, se realizó el estudio de la expresión de CK19.

De estos 8 pacientes, en 2(25%) de ellos la CK19 fue positiva en el centinela. De estos 2 pacientes, en uno de ellos se resecó 2 ganglios centinelas y solo en uno de ellos hubo expresión para CK19 y en el otro paciente se resecaron 3 ganglios centinelas de los cuales 2 tuvieron expresión de CK19.

La importancia de esto es la comparativa respecto a la prueba de referencia, que establecemos dos, la H&E y la IHQ.

La sensibilidad del estudio CK19 en el ganglio centinela es del 100% porque los 2 pacientes que presentaron los 3 ganglios con metástasis cervicales, según ambas pruebas de referencia, fueron correctamente diagnosticados por la CK19.

Lo mismo con la especificidad de la prueba que tiene una probabilidad del 100%, porque el resto de pacientes que fueron negativos según CK19 también lo fueron por las pruebas de referencia.

Por ello la concordancia tiene un grado de acuerdo del 100%.

Paradójicamente en la muestra de los 52 pacientes, los únicos dos pacientes que presentaron afectación cervical fueron estos dos que también presentaron expresión de

CK19. Se podría pensar que hubo falsos negativos pero el seguimiento mostró que sólo un paciente presentó afectación cervical a posteriori y fueron 15 meses posterior a la primera cirugía de BSGC.

No se estudia la expresión de CK19 en el resto de ganglios centinelas a parte de esos 19 debido a que el análisis, ya hecho previamente y revisado en el estudio retrospectivamente, de IHQ con las citoqueratinas AE1-AE3 detecta la mayoría de las citoqueratinas humanas, específicamente el anticuerpo AE1 inmunorreacciona con un antígeno presente en la CK19 entre otras. Por lo que si los ganglios centinelas han sido negativos para AE1-AE3 se asume negatividad para expresión de CK19 no aportando más información de cara al estudio.

Los dos pacientes que tras el estudio histológico de la disección cervical fueron N +, presentaron una expresión de CK19 en la biopsia de 40% y 90% y de 40% y 20% en el tumor respectivamente. Los resultados de este segundo paciente son sorprendentes, dado que la biopsia presenta una expresión muy alta considerándose positiva, pero sobre el tumor al tener solo un 20% de expresión se consideraría negativa.

No podemos extrapolar los datos y establecer conclusiones sobre la expresión de un paciente aislado, pero el resultado si muestra que la expresión de CK19 puede ser parcheada y no homogénea en todo el tumor, cosa que dificulta aún más su uso de manera rutinaria generalizada. Algún estudio de los revisados anteriormente hablaba de la alta consistencia de expresión dentro del tumor.<sup>215</sup> Pero la gran mayoría reporta expresiones heterogéneas.<sup>161 221</sup>

También esto puede estar justificado por el tipo de muestra del presente estudio, tumores de un tamaño pequeño en que la biopsia inicial, puede representar gran parte del tumor y el tumor remanente extirpado en la cirugía resectiva representar un porcentaje menor de este.

La mayor debilidad de este estudio frente otras publicaciones similares, viene determinada por el criterio de inclusión de pacientes en estadios iniciales, pero también su mayor fortaleza en parte es ésta, dado que en la práctica clínica la aplicación de la

BSGC y por ellos del OSNA como estudio intraoperatorio del ganglio centinela, solo está indicado en estos pacientes.

La precisión diagnóstica de la CK19 de cara a la detección de metástasis cervicales en nuestro estudio es alta, pero sobre una muestra extremadamente pequeña. Por lo que más que nunca es necesario revisar el resto de bibliografía publicada para establecer unas conclusiones al respecto.

Tras una revisión meticulosa de las publicaciones existentes hasta la fecha cabe mencionar en este apartado 4 estudios.

Los tres primeros todos japoneses, dos de ellos de publicación previa al diseño de este estudio, con resultados a favor de la validez del marcador CK19 en CECO eran prospectivos. Los tres realizaron un estudio sobre los ganglios cervicales, dividiéndolos en diferentes porciones para su estudio o por OSNA o por la prueba de referencia establecida que podía ser la H&E, únicamente en uno de ellos, asociada en los otros dos a las IHQ AE1-AE3.

Es importante destacar que la amplificación de ácido nucleico de un solo paso (OSNA) utiliza todo el centinela para su análisis, no quedando material para el diagnóstico de rutina histopatológico posterior. Esto conlleva que esta técnica requiere de una alta sensibilidad y especificidad porque las consecuencias de un diagnóstico falso negativo son clínicamente inaceptables. Por ello los tres estudios presentan comité de ética aprobado, dato que ha sido muy comentado en reuniones científicas a posteriori, porque se aceptaba estudiar parte del ganglio solo por OSNA, una técnica no validada hasta la fecha en CECO, sin compararlo con la prueba de referencia presentando el riesgo de presentar células tumorales aisladas, micro o macrometástasis que sólo estuviesen incluidas en esa sección del ganglio.

Como las muestras incluían todo tipo de estadios, los ganglios estudiados no solo fueron centinelas sino también ganglios cervicales elegidos al azar dentro del vaciamiento cervical para el estudio de OSNA.

En el primer estudio publicado de los tres 312 ganglios linfáticos de 65 pacientes fueron investigados tanto por OSNA como por H&E e IHQ.<sup>170</sup> La sensibilidad y la especificidad en este estudio fueron muy altas, de 86.9% (53/61) y 96% (241/251), respectivamente. La concordancia general para esta fase técnica fue 94.2%. Hubo 8 ganglios linfáticos FN y 10 FP.

En el segundo estudio publicado por Matsuzuka T et al intentan dar respuesta a otra limitación del OSNA al aplicarlo al CECO.<sup>171</sup> El resultado del OSNA se da en copias de RNAm. En mama está establecido un sistema que clasifica la expresión como ARNm de CK19 menos de 250 copias/LL es designado como (+); un nivel entre 250 y 5,000 copias/LL como (++); y un nivel superior a 5,000 copias/LL como (+++). Por lo que en función de ese sistema la validez interna de la prueba puede variar. En mama se establece la positividad de la expresión en un nivel de 250 copias de 250. Si se continúa con este criterio para la clasificación del OSNA, la sensibilidad de esta clasificación fue 76.5 % y la especificidad fue del 100 %. Pero si se cambia la positividad a 131 copias, según los autores el punto donde la detección era óptima en CECO; la sensibilidad aumenta hasta 82.9, disminuye ligeramente especificidad 99.3%.

Usando el punto de corte de 131 copias se observaron siete casos discordantes entre OSNA y diagnóstico histopatológico, de los cuales seis fueron patológicamente positivo para metástasis pero negativo en OSNA, es decir FN, mientras que uno fue patológicamente negativo para metástasis y positivo en el ensayo OSNA, es decir FP.

En el tercer estudio es interesante cómo divide la validez interna de la prueba en función de la positividad o negatividad de la expresión de CK19 en el tumor. En negativo la prueba de referencia usada sólo es la de la H&E y no la IHQ. En el grupo de lesiones primarias CK19 negativa, la sensibilidad y la especificidad del OSNA contra la H&E fue del 50% y 97%, respectivamente.

La sensibilidad y especificidad en el grupo de CK19 positiva ascendió a 86% y 100% respectivamente.

En el grupo de lesiones primarias CK19 positivas 1 ganglio linfático tuvo resultados discrepantes para metástasis entre la tinción de H&E (positivo) y OSNA (negativo).

Hubo dos causas principales de discordancia entre resultados. El primero ya comentado el estudio del ganglio por secciones y la posible localización de los focos en diferentes porciones. Y otro la baja o ausencia de expresión de ARNm de CK19 en el tumor. A esto los autores responden que al estudio de OSNA, se deberían añadir otros marcadores además de la CK19, sugiriendo algunos de los estudiados por Ferris et al. para aumentar la precisión diagnóstica de la prueba.<sup>172</sup>

Si comparamos los valores de sensibilidad y especificidad frente a los del presente estudio. En todos vemos que los valores de especificidad son más altos que los de sensibilidad. Es decir, clasifica con más seguridad a los ganglios negativos que a los positivos, siendo el riesgo de FN mayor que el de FP. En una prueba de aplicación oncológica, específicamente en este caso de aplicación sobre el diagnóstico de metástasis cervicales, esta implicación es grave y negativa dado que más pacientes serían diagnosticados como negativos, aunque si presentan enfermedad, no siendo tratada y empeorando el pronóstico del paciente y su supervivencia.

En el tercer estudio ninguno de los pacientes con una lesión primaria CK19 negativa presentó ganglios linfáticos positivos, por lo que los ganglios linfáticos positivos para CK19 se encontraron sólo cuando las lesiones primarias también fueron positivas.<sup>202</sup> Estos resultados sugieren que el OSNA ofrece un potencial de diagnóstico similar al del diagnóstico histopatológico sobre el ganglio en pacientes con una lesión primaria CK19 positiva. Que es extrapolable a los resultados de nuestro estudio, limitados por nuestro pequeño tamaño muestral.

Hasta ahora la única opción de estudio intraoperatorio válido rápido de aplicación clínica hasta la fecha, exceptuando el OSNA, es la sección congelada intraoperatoria que presenta una sensibilidad de 60-70 % en pacientes con HNSCC, principalmente como resultado de la no posibilidad de detectar micrometástasis.<sup>228</sup>

En el cuarto estudio publicado en el último de los cuatro, Noorlag R et al. describió que el 65% (43/66) de las metástasis en los ganglios linfáticos fueron positivas para expresión de CK19.<sup>215</sup> Se detectaron 18 de las metástasis ocultas en los ganglios linfáticos que fueron positivas para CK19 56% (10/18). Sin embargo, la correlación que encontraron entre el tumor primario y las metástasis de los ganglios linfáticos en el CECO

no era adecuada; sólo alrededor del 80% de los tumores primarios positivos para CK19 tenían expresiones detectables.

### **5.3. Evaluar la asociación estadística entre los factores de interés determinados a priori (grado de diferenciación tumoral, estadio tumoral, recidiva, localización del tumor, EMT) con los resultados de expresión de la CK19 en tumor**

En nuestro estudio no se observó diferencias estadísticamente significativas de la expresión de CK19 comparándolo con ningún factor de interés estudiado; ni tamaño tumoral, ni estadiaje cervical, ni localización.

En cuanto a la diferenciación del tumor tampoco se observó una asociación estadística ( $p$ -valor = 0.356) pero si había una correlación negativa, es decir, a menor diferenciación del tumor el porcentaje de pacientes con expresión positiva de CK19 aumenta, es decir 33% en los tumores pobremente diferenciados, 29% en los moderadamente diferenciados y 12% en los bien diferenciados.

Algo similar observamos al compararlo con el EMT. Tampoco se observan diferencias significativas entre los valores de EMT según si la expresión de CK19 en el tumor fue positiva o negativa ( $p$  = 0.968). Si se toma la variable expresión de CK19 en el tumor en porcentajes se aprecia que la correlación entre ambas no es significativa aunque está cerca de estarlo (Rho de Spearman = 0.262 con  $p$ -valor = 0.066) pero si es positiva, es decir, a mayor EMT mayor expresión de CK19.

Estos dos últimos resultados en cuanto a asociación de la CK19 con características histológicas del tumor que marcan pronóstico local y regional, son consistentes y concuerdan con la bibliografía publicada.

Inicialmente la correlación entre la expresión de CK19 con la patogenia del tumor y el grado de diferenciación de los CECO no había sido confirmado. Inicialmentese informó que los tumores CECO negativos para CK19 siempre estuvieron bien diferenciados, mientras que tumores CK19-positivos eran pobre o moderadamente diferenciados.<sup>179</sup>

<sup>229</sup> Sin embargo, debido al pequeño número de muestras, no encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Según un estudio realizado por Rejeswari et al, encontró que la expresión de CK19 estaba elevada en la hiperplasia epitelial oral y asociada, con un aumento grados de inflamación en ambos tipos de epitelios.<sup>230</sup> Esta expresión estaba reducida en la displasia leve y moderada, pero aumentó de manera importante en la displasia severa.

Safadi et al. encontraron un aumento progresivo en la expresión de CK19 con grados crecientes de displasia en muestras obtenidas de diferentes grados de displasia.<sup>231</sup> Además también reportó importantes correlaciones entre una mayor expresión de CK19 y CECO con metástasis a distancia, así como en estadio IV comparado con otros CECO sin metástasis a distancia y estadio I-III.

Pacientes con pobre diferenciación CECO y pacientes con CECO en estadio IV mostrando un mayor porcentaje de expresión alta de CK19 en comparación con pacientes de otros grados y etapas.<sup>224</sup>

Zhong et al. y Bombeccari et al. también encontraron que la expresión de CK19 estaba correlacionada con tumores de mayor grado (moderadamente o poco diferenciados CECO).<sup>183 223</sup>

En 2007 Zhong LP et al.<sup>183</sup> investigaron la expresión de CK19 en el tejido del CECO de 33 pacientes así como su correlación con el grado de diferenciación patológica y el pronóstico.<sup>183</sup> Cada muestra la dividieron en 2 partes, una para la detección de la proteína CK19 mediante IHQ y la otra para el estudio de CK19 ARNm mediante cadena de polimerasa con transcriptasa inversa fluorescente en tiempo real reacción (RT-PCR). La expresión de CK19 se correlacionó significativamente con el grado de diferenciación patológica, tanto en su estudio de IHQ (P 0,002) como RT-PCR (P 0,025).



# 6.CONCLUSIONES

1. La citoqueratina 19 en el carcinoma epidermoide de cavidad oral presenta una expresión baja y heterogénea, confirmando que sólo puede detectarse en un subconjunto pequeño de tumores primarios. (Responde al objetivo secundario número 2)
2. La precisión diagnóstica de la expresión de la citoqueratina 19 de la biopsia respecto al tumor, no es suficiente para su aplicación clínica rutinaria y no podría ser validada bajo los resultados de este estudio. (Responde al objetivo principal número 1)
3. Los resultados de nuestro estudio apoyan los obtenidos en trabajos previos, donde se demuestra, que la CK19 ofrece un potencial de diagnóstico similar al del diagnóstico histopatológico sobre el ganglio centinela en pacientes con una lesión primaria citoqueratina 19 positiva. (Responde al objetivo principal 2)
4. No se encontró asociación estadísticamente significativa de la expresión de citoqueratina19 en el tumor con ninguno de los factores pronósticos del carcinoma epidermoide de cavidad oral estudiados. A pesar de ello y en concordancia con la bibliografía publicada, la expresión de CK19 tiene una correlación inversa con el grado de diferenciación del tumor y una correlación positiva con el espesor máximo tumoral. (Responde al objetivo principal 3)
5. Bajo los resultados encontrados en nuestro estudio y en concordancia con la literatura existente, concluimos que la citoqueratina 19 no es un marcador preciso para la detección de metástasis cervicales en pacientes con carcinoma epidermoide de cavidad oral en estadios iniciales (I-II). Por lo que no podemos rechazar nuestra hipótesis de trabajo y queda confirmada.



# 7.BIBLIOGRAFÍA

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today (version 1.1). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
2. Las cifras del cáncer en España 2024.Sociedad Española de Oncología Médica(SEOM).Disponible en: [https://seom.org/images/publicaciones/informes-seom-de-evaluacion-de-farmacos/LAS\\_CIFRAS\\_2024.pdf](https://seom.org/images/publicaciones/informes-seom-de-evaluacion-de-farmacos/LAS_CIFRAS_2024.pdf)
3. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024 May-Jun;74(3):229-263.
4. Fould L. The experimental study of tumor progression: a review. *Cancer Res.* 1954 Jun;14(5):327-39
5. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000 Jan 7;100(1):57-70.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646-74.
7. Estimaciones de la incidencia del cáncer en España. 2024. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), 2024.
8. Garrido Cantarero G. Hernández González J, Longo Muñoz F. Informe del Registro de Tumores de Madrid (RTMAD). Año 2022. Oficina Regional de Coordinación Oncológica. Dirección General Asistencial. SERMAS. Madrid, 2023.
9. Mody MD, Rocco JW, Yom SS, Haddad RI, Saba NF. Head and neck cancer. *Lancet.* 2021 Dec 18;398(10318):2289-2299. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01550-6. Epub 2021 Sep 22. PMID: 34562395.
10. Hedberg ML., Grandris JR. Mendelsohn J., Gray JW., Howley PM.,Israel MA., Thompson CB. The molecular pathogenesis of head and neck cancer. 4th ed. Philadelphia. 2105:491-98
11. Gemma Gatta, Laura Botta, María José Sánchez, Lesley Ann Anderson, Daniela Pierannunzio, Lisa LicitraPrognoses and improvement for head and neck cancers diagnosed in Europe in early 2000s: The EURO CARE-5 population-based study, *European Journal of Cancer*,Volume 51, Issue 15,2015,Pages 2130-2143,
12. Nadarajah Vigneswaran, Michelle D. Williams,Epidemiologic Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis,Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America,Volume 26, Issue 2,2014, Pages 123-141,)

13. Sturgis EM., Cinciripini PM., Trends in head and neck cancer incidence in relation to smoking prevalence: an emerging endemic of human papillomavirus, associated cancer. *Cancer* 2007;110:1429-35.
14. Chow LQM. Head and Neck Cancer. *N Engl J Med.* 2020 Jan 2;382(1):60-72. doi: 10.1056/NEJMra1715715. PMID: 31893516.
15. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424.)
16. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893–2917
17. Seiwert TY, Cohen EE. State-of-the-art management of locally advanced head and neck cancer. *Br J Cancer* 2005;92:1341–1348
18. Guevara, M.; Molinuevo, A.; Salmerón, D.; Marcos-Gragera, R.; Carulla, M.; Chirlaque, M.-D.; Rodríguez Cambor, M.; Alemán, A.; Rojas, D.; Vizcaíno Batllés, A.; et al. Cancer Survival in Adults in Spain: A Population-Based Study of the Spanish Network of Cancer Registries (REDECAN). *Cancers* 2022, 14, 2441.
19. Shah JP, Patel SG. *Cirugía y Oncología de Cabeza y Cuello*. 3a edición. Cavity oral y orofaríngea. Elsevier Science; 2004. 173–233
20. Nadarajah Vigneswaran, Michelle D. Williams, Epidemiologic Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis, Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America, Volume 26, Issue 2, 2014, Pages 123-141,)
21. F. Aceval, R. Arévalo, M. Molina. Ca epidermoide de labio. Marzo 2003. Volumen 55, Nº1. Págs. 95-108.
22. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer.* 2013 Apr;49(6):1374-403.
23. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, Trama A, Visser O, Brenner H, Ardanaz E, Bielska-Lasota M, Engholm G, Nennecke A, Siesling S, Berrino F, Capocaccia R; EURO-CARE-5 Working Group. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO-CARE-5-a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014 Jan;15(1):23-34.

24. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988;48(11):3282–7. 14.
25. Hashibe M, Brennan P, Benhamou S, et al. Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(10):777–89.)
26. Mia Hashibe, Paul Brennan, Simone Benhamou et al. Alcohol Drinking in Never Users of Tobacco, Cigarette Smoking in Never Drinkers, and the Risk of Head and Neck Cancer: Pooled Analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, Volume 99, Issue 10, 16 May 2007, Pages 777–789)
27. F Fioretti, C Bosetti, A Tavani, S Franceschi, C La Vecchia, Risk factors for oral and pharyngeal cancer in never smokers, *Oral Oncology*, Volume 35, Issue 4, 1999, Pages 375-378,9
28. Hashibe M, Brennan P, Chuang SC, Boccia S, Castellsague X, Chen C, Curado MP, Dal Maso L, Daudt AW, Fabianova E, Fernandez L, Wünsch-Filho V, Franceschi S, Hayes RB, Herrero R, Kelsey K, Koifman S, La Vecchia C, Lazarus P, Levi F, Lence JJ, Mates D, Matos E, Menezes A, McClean MD, Muscat J, Eluf-Neto J, Olshan AF, Purdue M, Rudnai P, Schwartz SM, Smith E, Sturgis EM, Szeszenia-Dabrowska N, Talamini R, Wei Q, Winn DM, Shangina O, Pilarska A, Zhang ZF, Ferro G, Berthiller J, Boffetta P. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Feb;18(2):541-50.
29. Franceschi, E Bidoli, R Herrero, N Muñoz, Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues, *Oral Oncology*, Volume 36, Issue 1, 2000, Pages 106-115
30. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988;48(11):3282–7.)
31. Edgar P. Simard, Lindsey A. Torre, Ahmedin Jemal, International trends in head and neck cancer incidence rates: Differences by country, sex and anatomic site, *Oral Oncology*, Volume 50, Issue 5, 2014, Pages 387-403.

32. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER cancer statistics review, 1975- 2011. 2014; based on November 2013 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2014. Available at: [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2011/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011/). Accessed January 11st, 2021.)
33. Boing AF, Antunes JL, de Carvalho MB, et al. How much do smoking and alcohol consumption explain socioeconomic inequalities in head and neck cancer risk? *J Epidemiol Community Health* 2011;65(8):709–14.
34. Conway DI, Brenner DR, McMahon AD, et al. Estimating and explaining the effect of education and income on head and neck cancer risk: INHANCE consortium pooled analysis of 31 case-control studies from 27 countries. *Int J Cancer* 2014;36:1125–39.)
35. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, et al. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a metaanalysis. *Lancet* 2007;370(9581):59–67.
36. Adami J, Gabel H, Lindelof B, et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. *Br J Canc* 2003;89(7):1221–7. Jensen P, Hansen S, Moller B, et al. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol* 1999;40(2 Pt 1):177–86.
37. Piselli P, Serraino D, Segoloni GP, et al. Risk of de novo cancers after transplantation: results from a cohort of 7217 kidney transplant recipients, Italy 1997-2009. *Eur J Canc* 2013;49(2):336–44.9
38. Buckley L, Jackett L, Clark J, et al. HPV-related oropharyngeal carcinoma: a review of clinical and pathologic features with emphasis on updates in clinical and pathologic staging. *Adv Anat Pathol* 2018; 25: 9.
39. Howard JD, Chung CH. Biology of human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. *Semin Radiat Oncol* 2012; 22: 187–93.
40. De Martel C, Plummer M, Vignat J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer* 2017; 141: 664–70. 12. Begum S, Cao)
41. Chakravarthy A, Henderson S, Thirdborough SM, et al. Human papillomavirus drives tumor development throughout the head and neck: improved prognosis is associated with an immune response largely restricted to the oropharynx. *J Clin Oncol* 2016; 34: 4132–41.

42. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP, Haugen TH. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope* 1998;108:1098–103.
43. Hashibe M, Brennan P, Benhamou S, et al. Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(10):777–89. 9.
44. Freedman ND, Schatzkin A, Leitzmann MF, et al. Alcohol and head and neck cancer risk in a prospective study. *Br J Cancer* 2007;96(9):1469–74.)
45. Yang, J, Wang, Z-Y, Huang, L, et al. Do betel quid and areca nut chewing deteriorate prognosis of oral cancer? A systematic review, meta-analysis, and research agenda. *Oral Dis.* 2020; 00: 1– 10.
46. Koch WM, Lango M, Sewell D, et al. Head and neck cancer in non smokers: a distinct clinical and molecular entity. *Laryngoscope.* 1999;109(10): 1544-1551.
47. Wiseman SM, Swede H, Stoler DL, et al. Squamous cell carcinoma of the head and neck in non smokers and nondrinkers: an analysis of clinicopathologic characteristics and treatment outcomes. *ANN Surg Oncol.* 2003;10(5):551-557.
48. Patel SC, Carpenter WR, Tyree S, et al. Increasing incidence of oral tongue squamous cell carcinoma in young white women, age 18 to 44 years. *J Clin Oncol.* 2011; 29(11): 1488-1494.
49. Lodi G, Scully G, Carrozzo M, et al. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; 100(1):40-51.)
50. Alter BP. Cancer in fanconi anemia, 1927-2001. *Cancer.* 2003;97(2):425-440.
51. Bagan J., Sarrion G., Jimenez Y. Oral cancer: Clinical features. *Oral Oncol.* 2010; 46 (6): 414-417.
52. Tanaka T and Ishigamori R. Understanding carcinogenesis for fighting oral cancer. *J Oncol;* 2011: 603740.
53. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2009; 45: 317-323.
54. Rivera C. Essentials of oral cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Sep 1;8(9):11884-94. PMID: 26617944; PMCID: PMC4637760.

55. World Health Organization. World Health Organization Classification of Tumours. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. Pathology & Genetics. Head and Neck Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC) IARC Press, 2005;177–9.
56. Warnakulasuriya S, Johnson NW and van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 575-580.
57. Neville BW.(2009) Oral and Maxillofacial Pathology. Saunders/Elsevier.
58. Scully C, Bagan JV, Hopper C and Epstein JB. Oral cancer: current and future diagnostic techniques. *Am J Dent* 2008; 21: 199-209.
59. Thompson L. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. *Ear Nose Throat J.* 2006 Feb;85(2):74.
60. Broders AC. Squamous cell cancer of the lip: a study of five hundred and thirtyseven cases. *JAMA* 1920;74:656–64).
61. Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, van der Wall I. Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1997. p. 10–6. [Pindborg J, Reichart P, Smith C and Van der Waal I. WHO International Histological Classification of Tumours Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. New York: Springer-Verlag; New York; 1997.
62. Cardesa A, Gale N, Nadal A, Zidar N. Squamous cell carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics. Head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2005. p. 119–23).
63. Jakobsson PA, Eneroth CM, Killander D, Moberger G, Martensson B. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. *Acta Radiol Ther Phys Biol* 1973;12:1–8.
64. Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. *Scand J Dent Res* 1987;95:229–49.
65. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Kjaerheim A. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. *J Pathol* 1992;166:375–81.

66. Woolgar JA, Triantafyllou A. Pitfalls and procedures in the histopathological diagnosis of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma and a review of the role of pathology in prognosis. *Oral Oncol* 2009;45:361–85. Woolgar JA, Triantafyllou A. Squamous cell carcinoma and precursor lesions: clinical pathology. *Periodontol* 2000;2011(57):51–72.
67. El-Naggar AK, Chan J, Grandis J, Takata T, Slootweg P. WHO classification of head and neck tumours. 4th ed.; 2017. p. 105–111.
68. Rivera C and Venegas B. Histological and molecular aspects of oral squamous cell carcinoma (Review). *Oncol Lett* 2014; 8: 7-11.
69. TCGA. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature* 2015; 517: 576-582.
70. Slaughter DP, Southwi HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*.1953;6(5):963-968.
71. Califano J, van der Riet P, Westra W, Nawroz H, Clayman G, Piantadosi S, Corio R, Lee D, Greenberg B, Koch W, Sidransky D. Genetic progression model for head-and-neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 1996;56:2488 –92.
72. Oliveira LQR, Almangush A, Al-Samadi A, Salo T, Coletta RD. Prognostic markers for oral cancer: An overview of the current status and directions for future research. *J Oral Pathol Med*. 2023 Apr;52(4):288-293. doi: 10.1111/jop.13406. Epub 2023 Feb 1. PMID: 36659864.
73. Koch WM, Lango M, Sewell D, et al. Head and neck cancer in nonsmokers: a distinct clinical and molecular entity. *Laryngoscope*. 1999; 109(10): 1544-1551.
74. Cavallo F, De Giovanni C, Nanni P, Forni G and Lollini PL. 2011: the immune hallmarks of cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 319-326.
75. Curry JM, Sprandio J, Cognetti D, Luginbuhl A, Bar-ad V, Pribitkin E and Tuluc M. Tumor microenvironment in head and neck squamous cell carcinoma. *Semin Oncol* 2014; 41: 217-234.
76. Ferris. RL. Immunology and immunotherapy of the. Head and nek caner. *J. Clin Oncol* 2015;33:3293-304.
77. Woolgar JA, Scott J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor of mouth. *Head Neck*. 1995 Nov-Dec;17(6):463-72.

78. Brown JS, Lowe D, Kalavrezos N, D'Souza J, Magennis P, Woolgar J. Patterns of invasion and routes of tumor entry into the mandible by oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2002 Apr;24(4):370-83.
79. Neville BW., yellowitz JÁ., Horowitz AM., Drury TF., Goodman HS.. Survey of U.S. dentists knowledge and opinions about oral pharyngeal cancer. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 653-661.
80. Bagan J, Sarrion G and Jimenez Y. Oral cancer: clinical features. *Oral Oncol* 2010; 46: 414-417.
81. Farhood Z, Simpson M, Ward GM, Walker RJ, Osazuwa-Peters N. Does anatomic subsite influence oral cavity cancer mortality? A SEER database analysis. *Laryngoscope* 2019;129:1400–6.
82. *Head and Neck Cancer: Current, Perspectives, Advances and Challenges*. Editors James A. Radosevich. Ed Springer, ISBN 978-94-007-5826-1 (Print) 978-94-007-5827-8 (online). Netherlands 2013.
83. Funk GF, et al: Presentation, treatment, and outcome of oral cavity cancer: a National Cancer Data Base report. *Head Neck* 24(2): 165e180, 2002
84. Shah JP, Patel SG, Singh B,Wong RJJatin shah's head and neck surgery and oncology. In: Shah JP (ed.), 5th ed. Elsevier, 2019 Li R, et al: The Effect of tumor subsite on short-term outcomes and costs of care after oral cancer surgery. *Laryngoscope* 123(7): 1652e1659, 2013.
85. Seoane Leston J, Diz Dios P. Diagnostic clinical aids in oral cancer. *Oral Oncol* 2010;46(6):418–22.
86. Cleveland JL, Thornton-Evans G. Total diagnostic delay in oral cancer may be related to advanced disease stage at diagnosis. *J Evid Based Dent Pract* 2012;12 (2):84–6.
87. Walsh T, Liu JL, Brocklehurst P, Glennly AM, Lingen M, Kerr AR, Ogden G, Warnakulasuriya S, Scully C. Clinical assessment to screen for the detection of oral cavity cancer and potentially malignant disorders in apparently healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Nov 21;2013(11):CD010173.
88. Ernani V, Saba NF. Oral cavity cancer: Risk factors, pathology, and management. *Oncol* 2015;89(4):187–95.

89. Fitzhugh VA, Maniar KP, Gurudutt VV, Rivera M, Chen H, Wu M. Fine-Needle Aspiration Biopsy of Granular Cell Tumor of the Tongue: A Technique for the Aspiration of Oral Lesions. *Diagn Cytopathol* 2008;36:245–51.
90. Flach GB, Tenhagen M, de Bree R, Brakenhoff RH, van der Waal I, Bloemena E, et al. Outcome of patients with early stage oral cancer managed by an observation strategy towards the N0 neck using ultrasound guided fine needle aspiration cytology: No survival difference as compared to elective neck dissection. *Oral Oncol* 2013;49(2):157–64.
91. Mehanna H, Wong WL, McConkey CC, Rahman JK, Robinson M, Hartley AG, et al. PET-CT surveillance versus neck dissection in advanced head and neck cancer. *N Engl J Med*. 2016;374:1444.
92. Patel SG, Lydiatt WM. Staging of head and neck cancers: is it time to change the balance between the ideal and the practical? *J Surg Oncol* 2008;97:653–7).
93. Patel SG and Shah JP. TNM staging of cancers of the head and neck: striving for uniformity among diversity. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 242-258; quiz 261-242, 264).
94. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th edition New York: Springer; 2017. Brieleyt JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM classification of malignant tumors, 8th Edition*. Willey Blackwell; 2017, 272p ISBN 978-1-119-26357-9.
95. Almangush A, Makitie AA, Triantafyllou A, et al. Staging and grading of oral squamous cell carcinoma: an update. *Oral Oncol*. 2020;107:104799.
96. Arora A, Husain N, Bansal A, Neyaz A, Jaiswal R, Jain K, et al. Development of a new outcome prediction model in early-stage squamous cell carcinoma of the oral cavity based on histopathologic parameters with multivariate analysis: the aditinuzhat lymph-node prediction score (ANLPS) system. *Am J Surg Pathol* 2017;41:950–60.
97. Elseragy A, Bello IO, Wahab A, et al. Emerging histopathologic markers in early-stage oral tongue cancer: a systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2022;44(6):1481-1491.
98. Lugli A, Zlobec I, Berger MD, Kirsch R, Nagtegaal ID. Tumour budding in solid cancers. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(2):101-115.
99. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, et al. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from

the international Immunooncology biomarkers working group: part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non-small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumors. *Adv Anat Pathol.* 2017;24(6):311-335.

100. Caudell JJ, Gillison ML, Maghami E, Spencer S, Pfister DG, Adkins D, Birkeland AC, Brizel DM, Busse PM, Cmelak AJ, Colevas AD, Eisele DW, Galloway T, Geiger JL, Haddad RI, Hicks WL, Hitchcock YJ, Jimeno A, Leizman D, Mell LK, Mittal BB, Pinto HA, Rocco JW, Rodriguez CP, Savvides PS, Schwartz D, Shah JP, Sher D, St John M, Weber RS, Weinstein G, Worden F, Yang Bruce J, Yom SS, Zhen W, Burns JL, Darlow SD. NCCN Guidelines® Insights: Head and Neck Cancers, Version 1.2022. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022 Mar;20(3):224-234.
101. Gil Z, Fliss DM. Contemporary management of head and neck cancers. *Israel Medical Association Journal.* 2009;11(5):296–300).
102. Mesia R, Iglesias L, Lambea J, Martínez-Trufero J, Soria A, Taberna M, Trigo J, Chaves M, García-Castaño A, Cruz J. SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2020). *Clin Transl Oncol.* 2021 May;23(5):913-921. doi: 10.1007/s12094-020-02533-1. Epub 2021 Feb 26. Erratum in: *Clin Transl Oncol.* 2021 Mar 11;: PMID: 33635468; PMCID: PMC8057973.
103. Caballero M, Grau J, Casellas S, et al. El papel de la quimioterapia en el cáncer de la cavidad oral avanzado. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2009; 60 (4): 260-7.
104. Ferlito A, Robbins T, Shah JP, et al. Proposal for a rational classification of neck dissections. *Head Neck.* 2011;33:445-50.
105. Robbins KT, Shaha AR, Medina JE, Califano JA, Wolf G T, Ferlito A, et al. Consensus statement on classification and terminology of neck dissection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;134:536-8
106. Suen Y, Goepfert H. Standardization of neck dissection. *Head Neck.* 1987;10:75-7.
107. Cadena E. Tratamiento del cuello en cáncer de laringe. *Acta Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello.* 2000;28:86-92.
108. Seethala RR. Current state of neck dissection in the United States. *Head Neck Pathol.* 2009;3:238-45).

109. Rigual NR, Wiseman SM. Neck dissection: current concepts and future directions. *Surg Oncol Clin N Am*. 2004;13:151-66.
110. Carty SE, Cooper DS, Doherty GM, et al. Consensus statement on the terminology and classification of central neck dissection for thyroid cancer. *Thyroid*. 2009;19:1153-8.
111. Deschler DG, Day T, eds. Pocket guide to TNM Staging of Head and Neck Cancer and Neck Dissection Classification. Alexandria (VA): American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Foundation; 2008.
112. Amit M, et al: Clinical nodal stage is a significant predictor of outcome in patients with oral cavity squamous cell carcinoma and pathologically negative neck metastases: results of the international consortium for outcome research. *Ann Surg Oncol* 20(11): 3575e3581, 2013.
113. Kowalski LP, et al: Prognostic, significance of the distribution of neck node metastasis from oral carcinoma. *Head Neck* 22(3): 207e214, 2000.
114. Lindberg R: Distribution of cervical lymph node metastases from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer* 29(6): 1446e1449.
115. Shah JP, Candela FC, Poddar AK: The patterns of cervical lymph node metastases from squamous carcinoma of the oral cavity. *Cancer* 66(1): 109e113, 1990, Shah JP, Strong E, Spiro RH, Vikram B. Neck dissection: current status and future possibilities. *Clin Bull* 1981; 11: 25–33.
116. Woolgar JA: Histological distribution of cervical lymph node metastases from intraoral/oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Br J Oral Maxillofac Surg* 37(3): 175e180, 1999.
117. Woolgar JA: The topography of cervical lymph node metastases revisited: the histological findings in 526 sides of neck dissection from 439 previously untreated patients. *Int J Oral Maxillofac Surg* 36(3): 219e225, 2000.
118. Agarwal SK, Arora SK, Kumar G, Sarin D. Isolated perifacial lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma with clinically node-negative neck. *Laryngoscope*. 2016 Oct;126(10):2252-6.
119. Byers RM, Weber RS, Andrews T, et al. Frequency and therapeutic implications of “skip metastases” in the neck from squamous cell carcinoma of the oral tongue. *Head Neck* 1997; 19: 14-19.

120. Vassiliou LV, Acero J, Gulati A, Hölzle F, Hutchison IL, Prabhu S, Testelin S, Wolff KD, Kalavrezos N. Management of the clinically N<sub>0</sub> neck in early-stage oral squamous cell carcinoma (OSCC). An EACMFS position paper. *J Craniomaxillofac Surg*. 2020 Aug;48(8):711-718.
121. Teichgraeber JF, Clairmont AA. The incidence of occult metastases for cancer of the oral tongue and floor of the mouth: treatment rationale. *Head Neck Surg*. 1984;7:15–21.
122. Sumioka S, Sawai N, Kisbino M, et al. Risk factors for distant metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg* 2013; 71: 1291-1297.
123. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*. 1992; 127:392-399.
124. Cabanas RM: An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977;39(2):456-66.
125. Alex J, Weaver D, Fairbank J, Krag D. Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surgical Oncology* 1993; 2:303-308.
126. Uren RF, Howman-Giles RB, Shaw HM, Thompson JF, McCarthy WH. Lymphoscintigraphy in high-risk melanoma of the trunk: predicting draining node groups, defining lymphatic channels and locating the sentinel node. *J Nucl Med* 1993; 34:1435-1440.
127. Alex JC, Krag DN. The gamma-probe-guided resection of radiolabeled primary lymph nodes. *Surg Oncol Clin North Am* 1996;5:33–41.
128. Morton DL, et al. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg* 1999. 230 (4): 453-63; discussion 463-5.
129. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrada S, Galimberti V. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med*. 2003 Aug 7; 349(6):546-53.
130. Kitagawa Y, Ohgami M, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, et al. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes in gastrointestinal cancer: a novel and minimally invasive approach. *Ann Surg Oncol*. 2001; 8:86S-89S.
131. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Otani Y, Kitajima M. Radio-guided sentinel node detection for gastric cancer. *Br J Surg*. 2002; 89:604-608.

132. Clayman GL et al. Selective neck dissection of anatomically appropriate levels is as efficacious as modified radical neck dissection for elective treatment of the clinically negative neck in patients with squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;124:348-352.
133. Andersen PE, Cambronero E, Shaha AR, Shah JP. The extent of neck disease after regional failure during observation of the N0 neck. *Am J Surg* 1996;172:689-91.
134. Ries, LAG.; Melbert, D.; Krapcho, M., et al., editors. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2005.
135. Vandembrouck C, Sancho-Garnier H, Chassagne D, Saravane D, Cachin Y, Micheau C. Elective versus therapeutic radical neck dissection in epidermoid carcinoma of the oral cavity: results of a randomized clinical trial. *Cancer*. 1980 Jul 15;46(2):386-90. doi: 10.1002/1097-0142(19800715)46:2<386::aid-cnrcr2820460229>3.0.co;2-9. PMID: 6992980.
136. Weiss MH, Harrison LB, Isaacs RS. Use of decision analysis in planning a management strategy for the stage N0 neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1994 Jul;120(7):699-702. doi: 10.1001/archotol.1994.01880310005001. PMID: 8018319.
137. Kligerman J, Lima RA, Soares JR, et al. Supraomohyoid neck dissection in the treatment of T1/T2 squamous cell carcinoma of oral cavity. *Am J Surg* 1994;168:391–392
138. Yuen APW, Wei WI, Wong YM, et al: Elective neck dissection versus observation in the treatment of early oral tongue carcinoma. *Head Neck* 1997; 19:583-588
139. Yuen AP, Ho CM, Chow TL, Tang LC, Cheung WY, Ng RW, Wei WI, Kong CK, Book KS, Yuen WC, Lam AK, Yuen NW, Trendell-Smith NJ, Chan YW, Wong BY, Li GK, Ho AC, Ho WK, Wong SY, Yao TJ. Prospective randomized study of selective neck dissection versus observation for N0 neck of early tongue carcinoma. *Head Neck*. 2009 Jun;31(6):765-72.
140. DeD'Cruz AK, Vaish R, Kapre N, Dandekar M, Gupta S, Hawaldar R, Agarwal JP, Pantvaidya G, Chaukar D, Deshmukh A, Kane S, Arya S, Ghosh-Laskar S, Chaturvedi P, Pai P, Nair S, Nair D, Badwe R; Head and Neck Disease Management Group. Elective versus Therapeutic Neck Dissection in Node-Negative Oral Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Aug 6;373(6):521-9.
141. Radkani P, Mesko TW, Paramo JC. Validation of the sentinel lymph node biopsy technique in head and neck cancers of the oral cavity. *Am Surgeon*. 2013 Dec; 79 (12): 1295-1297.

142. Shoaib T, Soutar DS, Prosser JE, Dunaway DJ, Gray HW, McCurrach GM, Bessent RG, Robertson AG, Oliver R, MacDonald DG. A suggested method for sentinel node biopsy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck*. 1999 Dec;21(8):728-33.
143. Ross GL, Shoaib T, Soutar DS, et al. The First International Conference on Sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer and adoption of a multicenter trial protocol. *Ann Surg Oncol* 2002;9:406–410.
144. Paleri V, Rees G, Arullendran P, et al. Sentinel node biopsy in squamous cell cancer of the oral cavity and oral pharynx: a diagnostic meta-analysis. *Head Neck* 2005;27:739–747.
145. Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG, et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11:690–696.
146. Alkureishi, LWT.; Ross, GL.; Shoaib, T., et al. Sentinel node biopsy in oral/oropharyngeal squamous cell cancer: five year follow-up. Presented at the Annual Meeting of the American Head and Neck Society (AHNS); July 19–23, 2008; San Francisco, CA.).
147. Civantos FJ, Moffat FI, Goodwin WJ. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for 106 head and neck lesions: contrasts between oral cavity and cutaneous malignancy. *Laryngoscope* 2006;16:1–15.
148. Civantos FJ, Sandro J, Stoeckli S.J, Robert P. Takes et al. What is the role of sentinel lymph node biopsy in the management of oral cancer in 2010? *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010;267: 839-844).
149. Civantos F Jr, Zitsch R, Bared A, et al. Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Surg Oncol* 2008;97:683–690).
150. Jefferson GD1, Sollaccio D, Gomez- Fernandez CR, Civantos F Jr. Evaluation of immunohistochemical fine sectioning for sentinel lymph node biopsy in oral squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011(2):216-9
151. Civantos FJ1,Zitsch RP, Schuller DE et al.Sentinel lymph node biopsy accurately stages the regional lymph nodes for T1-T2 oral squamous cell carcinomas: results of a prospective multi- institutional trial.*J Clin Oncol* 2010;28(8):1395-1400).
152. Alvarez Amézaga J, Barbier Herrero L, Pijoan Zubizarreta JI et al. Diagnostic efficacy of sentinel node biopsy in oral squamous cell carcinoma. Cohort study and meta- analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12:E235-43

153. Schilling C, Stoeckli SJ, Haerle SK, Broglie MA, Huber GF, Sorensen JA, Bakholdt V, Krogdahl A, von Buchwald C, Bilde A, Sebbesen LR, Odell E, Gurney B, O'Doherty M, de Bree R, Bloemena E, Flach GB, Villarreal PM, Fresno Forcelledo MF, Junquera Gutiérrez LM, Amézaga JA, Barbier L, Santamaría-Zuazua J, Moreira A, Jacome M, Vigili MG, Rahimi S, Tartaglione G, Lawson G, Nollevaux MC, Grandi C, Donner D, Bragantini E, Dequanter D, Lothaire P, Poli T, Silini EM, Sesenna E, Dolivet G, Mastronicola R, Leroux A, Sassooun I, Sloan P, McGurk M. Sentinel European Node Trial (SENT): 3-year results of sentinel node biopsy in oral cancer. *Eur J Cancer*. 2015 Dec;51(18):2777-84.
154. Pesek, S., Ashikaga, T., Krag, L.E. and Krag, D. (2012), The False-Negative Rate of Sentinel Node Biopsy in Patients with Breast Cancer: A Meta-Analysis. *World J Surg*, 36: 2239-2251 1.
155. Cancer of the upper aerodigestive tract: assessment and management in people aged 16 and over. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2018 Jun.
156. Schilling C, Stoeckli SJ, Vigili MG, de Bree R, Lai SY, Alvarez J, Christensen A, Cognetti DM, D'Cruz AK, Frerich B, Garrel R, Kohno N, Klop WM, Kerawala C, Lawson G, McMahon J, Sassooun I, Shaw RJ, Tvedskov JF, von Buchwald C, McGurk M. Surgical consensus guidelines on sentinel node biopsy (SNB) in patients with oral cancer. *Head Neck*. 2019 Aug;41(8):2655-2664. doi: 10.1002/hed.25739. Epub 2019 Mar 21. PMID: 30896058.
157. King C, Elsherif N, Kirwan R, Schilling C, Hall G, Morgan P, Collins L, Sandison A, Odell E, Thavaraj S. Serial step sections at narrow intervals with immunohistochemistry are required for accurate histological assessment of sentinel lymph node biopsy in oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2021 Oct;43(10):2985-2993.
158. Almhanedi H, McGurk M, Wan S, Schilling C. Novel double injection technique for sentinel lymph node biopsy in oral cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2021 Dec;59(10):1296-1301. doi: 10.1016/j.bjoms.2021.07.008. Epub 2021 Jul 17. PMID: 34742602.
159. Karamchandani S, Wan S, Gnanasegaran G, Dasgupta D, Schilling C, McGurk M. Single-photon emission computed tomography (SPECT/CT) images of sentinel node distribution in oral cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2021 Dec;59(10):1313-1319.
160. Hermanek P, Hutter RV, Sobin LH, Wittekind C. International Union Against Cancer. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999;86: 2668-73. Bell RB, Markiewicz MR, Dierks EJ, Gregoire CE, Rader A. Thin serial step sectioning of

sentinel lymph node biopsy specimen may not be necessary to accurately stage the neck in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg*, 2013; 71:1268-1277.

161. Hamakawa H, Bao Y, Takarada M, Fukuzumi M, Tanioka H. Cytokeratin expression in squamous cell carcinoma of the lung and oral cavity: an immunohistochemical study with possible clinical relevance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:438-43.
162. Van Diest PJ, Torrenge H, Meijer S, Meijer CJ. Pathologic analysis of sentinel lymph nodes. *Semin Surg Oncol* 2001;20:238-45.
163. Schilling C, Shaw R, Schache A, McMahon J, Chegini S, Kerawala C, McGurk M. Sentinel lymph node biopsy for oral squamous cell carcinoma. Where are we now? *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2017 Oct;55(8):757-762.
164. Turner RR, Ollila DW, Krasne DL, Giuliano AE. Histopathologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg*. 1997 Sep; 226(3):271-6; discussion 276-8.
165. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Steinert H, Schmid S. Histopathological features of occult metastasis detected by sentinel lymph node biopsy in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2002; 112: 111-5.
166. Tschopp L, Nuyens M, Stauffer E, Krause T, Zbaren P. The value of frozen section analysis of the sentinel lymph node in clinically N0 squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;132:99-102.
167. Germani RM, Civantos FJ, Elgart G, Roberts B, Franzmann EJ. Molecular markers of micrometastasis in oral cavity carcinomas. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009 Jul;141(1):52-8).
168. Robert L Ferris et al Ferris RL, Seethala RR, Chan J, Desai S, Hoch B, Gooding W, Godfrey TE. Intraoperative qRT-PCR for Detection of Lymph Node Metastasis in Head and Neck Cancer. *Clin Cancer Res*. 2011 Apr 1;17(7):1858-66).
169. Ferris RL, Stefanika P, Gooding W, Seethala RR. Rapid Molecular Detection of metastasis head and neck squamous cell carcinoma as an Intraoperative adjunct to Sentinel Lymph node biopsy. *Laryngoscope* 2012; 122(5): 1020-30.

170. Goda H, Natashiro K, Oka R, Tanaka H, Hato N, Hyodo M, Hamakawa K. One-step nucleic acid amplification for detecting lymph node metastasis of head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* 2012 Oct; 48(10): 958-63).
171. Matsuzuka T et al. Intraoperative Molecular Assessment for Lymph Node Metastasis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Using One-Step Nucleic Acid Amplification.
172. Ferris RL, Si L, Raja S, Hunt JL, Wang J, Gooding WE, Kelly L, Ching J, Luketich JD, Godfrey FE. Molecular Staging of Cervical Lymph Nodes in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Cancer Res* 2005 Mar; 15(6): 2147-56).
173. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, Huang JW, Woodcock-Mitchell J, Sun TT. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: Monoclonal antibody studies. *Cell* 1982;30(2):361-72.
174. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, Sun TT. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *J Cell Biol* 1982;95(2 Pt 1):580-8.
175. Sun T-T, Eichner R, Schermer A, Cooper D, Nelson WG, Weiss RA. Classification, expression and possible mechanisms of evolution of mammalian epithelial keratins: A unifying model. In: Levine A, Topp W, Vande Woude G, Watson JD (eds.). *Cancer cells 1 the transformed phenotype*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 1984.
176. Wu YJ, Rheinwald JG. A new small (40kd) keratin filament protein made by some cultured human squamous cell carcinomas. *Cell* 1981;25:627-35.
177. Whittock NV, Eady RA, McGrath JA. Genomic organization and amplification of the human keratin 15 and keratin 19 genes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;267:462-5.
178. Moll R, Krepler R, Franke WW. Complex cytokeratin polypeptide patterns observed in certain human carcinomas. *Differentiation* 1983;23:256-69. Lindberg K, Rheinwald JG. Suprabasal 40kd keratin (K19) expression as an immunohistologic marker of premalignancy in oral epithelium. *Am J Pathol* 1989;134:89-98.
179. Lindberg K, Rheinwald JG. Suprabasal 40kd keratin (K19) expression as an immunohistologic marker of premalignancy in oral epithelium. *Am J Pathol* 1989;134:89-98.

180. Cooper D, Schermer A, Sun T-T: Biology of disease. Classification of human epithelial and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: Strategies, applications, and limitations. *Lab Invest* 1985, 52:243-256.
181. Garrel R, Dromard M, Costes V, et al. The diagnostic accuracy of reverse transcription-PCR quantification of cytokeratin mRNA in the detection of sentinel lymph node invasion in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison with immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*. 2006;12(8):2498–505.
182. Yamauchi K, Fujioka Y, Kogashiwa Y, Kohno N. Quantitative expression study of four cytokeratins and p63 in squamous cell carcinoma of the tongue: suitability for sentinel node navigation surgery using one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol*. 2011;64(10):875–9.
183. Zhong LP, Chen WT, Zhang CP, Zhang ZY. Increased CK19 expression correlated with pathologic differentiation grade and prognosis in oral squamous cell carcinoma patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;104(3):377–84.
184. Shores CG, Yin X, Funkhouser W, Yarbrough W. Clinical evaluation of a new molecular method for detection of Intraoperative Sentinel Lymph Node Evaluation 4047 micrometastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;130(8):937–42
185. Barrett AW, Morgan M, Nwaeze G, Kramer G, Berkovitz BKB. The differentiation profile of the epithelium of the human lip. *Arch Oral Biol* 2005;50:431-8.
186. Xu et al. Reportaron en 1995 un aumento de expresión de CK19 asociada con carcinogénesis de cabeza y cuello. CK19 se expresó en el 82% de las muestras de pacientes con cáncer de cabeza y cuello.
187. Rajeswari P, Janardhanan M, Suresh R, et al. Expression of CK 19 as a biomarker in early detection of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Pathol* 2020;24:523-529.
188. Tao L, Lefe`vre M, Ricci S, et al. Detection of occult carcinomatous diffusion in lymph nodes from head and neck squamous cell carcinoma using real-time RT-PCR detection of cytokeratin 19 mRNA. *Br J Cancer* 2006; 94:1164–1169.
189. Gatter KC, Alcock C, Heryet A, Pulford KA, Heyderman E, Taylor-Papadimitriou J, Stein H, Mason DY: The differential diagnosis of routinely processed anaplastic tumors using monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 1984, 82:33-43.

190. Visser M, Jiwa M, Horstman A, Brink AA, Pol RP, van Diest P, Snijders PJ, Meijer CJ Intra-operative rapid diagnostic method based on CK19 mRNA expression for the detection of lymph node metastases in breast cancer. *Int J Cancer* 2008;122:2562–7 .
191. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, Kato Y, Tsuda H, Ueda S, Sato K, Tamaki Y, Noguchi S, Kataoka TR, Nakajima H, Komoike Y, Inaji H, Tsugawa K, Suzuki K, Nakamura S, Daitoh M, Otomo Y, Matsuura N (2007). One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*13:4807–4816
192. Tamaki Y, Sato N, Homma K, et al. Routine clinical use of the 1-step nucleic acid amplification assay for detection of sentinel lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter study in Japan. *Cancer* 2012;118:3477–3483.
193. Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T, et al. Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter trial using the 1-step nucleic acid amplification assay. *Clin Cancer Res* 2009;15:2879– 2884
194. Schem C, Maass N, Bauerschlag DO, et al. One-step nucleic acid amplification-a molecular method for the detection of lymph node metastases in breast cancer patients; results of the German study group. *Virchows Arch* 2009;454:203–210.
195. Klingler S, Marchal F, Rauch P, et al. Using one-step nucleic acid amplification (OSNA) for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients avoids second surgery and accelerates initiation of adjuvant therapy. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2305–9.
196. Bernet L, Cano R, Martinez M, Dueñas B, Matias-Guiu X, Morell L, Palacios J, Rezola R, Robles-Frias M, Ruiz I, Velasco A, Vieites B, Sevilla F, Torro J, Medrano J, Ballester B (2011) Diagnosis of the sentinel lymph node in breast cancer: a reproducible molecular method: a multicentric Spanish study. *Histopathology* 58:863–9.
197. Feldman S, Krishnamurthy S, Gillanders W, Gittleman M, Beitsch PD, Young PR, Streck CJ, Whitworth PW, Levine EA, Boolbol S, Han LK, Hermann R, Hoon DS, Giuliano AE, Meric-Bernstam F (2011) A novel automated assay for the rapid identification of metastatic breast carcinoma in sentinel lymph nodes. *Cancer* 117:2599–607.
198. Schem C, Maass N, Bauerschlag DO, Carstensen MH, Löning T, Roder C, Batic O, Jonat W, Tiemann K (2009) One-step nucleic acid amplification-a molecular method for the

detection of lymph node metastases in breast cancer patients; results of the German study group. *Virchows Arch* 454:203–10.

199. Snook KL, Layer GT, Jackson PA, de Vries CS, Shousha S, Sinnett HD, Nigar E, Singhal H, Chia Y, Cunnick G, Kissin MW (2011) Multicenter evaluation of intraoperative molecular analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma. *Br J Surg* 98:527–35.
200. Laia Bernet, Antonio Piñero, María Martínez, Sergi Vidal Sicart, Manel Algara, Eugeni Palomares, Consenso de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria (SESPM) sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) y el manejo axilar en el cáncer de mama (2022), *Revista de Senología y Patología Mamaria*, Volume 35, Issue 4, 2022, Pages 243-259).
201. Parikh RR, Yang Q, Higgins SA, Haffty BG (2008) Outcomes in young women with breast cancer of triple-negative phenotype: the prognostic significance of CK19 expression. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 70:35–42.
202. Suzuki M, Matsuzuka T, Hashimoto Y, Ikeda M, Saijo S, Omori K. Diagnostic potential of 1-step nucleic acid amplification assay in patients with head and neck squamous cell carcinoma based on CK19 expression in a primary lesion. *Head Neck*. 2014;38:E239–45.
203. American Joint Committee on Cancer. *AJCC CANCER STAGING MANUAL Seventh Edition*. Springer, editor. New York Dordrecht Heidelberg London; 2010.
204. Altman, D. G., & Bossuyt, P. M. M. (2005). Estudios de precisión diagnóstica (STARD) y pronóstica (REMARK). *Medicina clinica*, 125(Suppl. 1), 49-55.
205. Liljequist D, Elfving B, Skavberg Roaldsen K. Intraclass correlation - A discussion and demonstration of basic features. *PLoS One*. 2019 Jul 22;14(7):e0219854.
206. Landis J.R., Koch G.G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33:159-174.
205. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. New York, NY: Springer; 2002)
206. Kwon SY, Kim HJ, Woo JS, et al. The usefulness of cytokeratin immunohistochemistry in detection of lymph node micrometastasis in neck dissection specimen. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 131:300-6.
207. Estudios de precisión diagnóstica (STARD) y pronóstica (REMARK) Diagnostic (STARD) and prognostic (REMARK) studies Douglas G Altman, Patrick MM Bossuyt<sup>b</sup>

Vol.125. Núm. S1.páginas 49-55(Diciembre 2005) DOI: 10.1016/S0210-5705(09)71003-9.

208. Croner RS, Schellerer V, Demund H, et al. One step nucleic acid amplification (OSNA) - a new method for lymph node staging in colorectal carcinomas. *J Trans Med.* 2010;8:83.
209. Yamamoto H, Sekimoto M, Oya M, et al. OSNA-based novel molecular testing for lymph node metastases in colorectal cancer patients: results from a multicenter clinical performance study in Japan. *Ann Surg Oncol.* 2011;18(7):1891–8.
210. Kumagai K, Yamamoto N, Miyashiro I, et al. Multicenter study evaluating the clinical performance of the OSNA assay for the molecular detection of lymph node metastases in gastric cancer patients. *Gastric Cancer.* 2014;17(2):273–80.
211. Yaguchi Y, Sugasawa H, Tsujimoto H, et al. One-step nucleic acid amplification (OSNA) for the application of sentinel node concept in gastric cancer. *Ann Surg Oncol.* 2011;18(8):2289–96).
212. Leon X, Sancho FJ, Garcia J, Sanudo JR, Orus C, Quer M. Incidence and significance of clinically unsuspected thyroid tissue in lymph nodes found during neck dissection in head and neck carcinoma patients. *Laryngoscope.* 2005;115(3):470–4.
213. Shinohara M, Harada T, Nakamura S, Oka M, Tashiro H. Heterotopic salivary gland tissue in lymph nodes of the cervical region. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1992;21(3):166–71.
214. Shaw R, Christensen A, Java K, Maddani RE, Liloglou T, Asterios T, von Buchwald C, Wessel I, Kiss K, Kjaer A, Lelkaitis G, Long A, Risk J, Robinson M. Intraoperative Sentinel Lymph Node Evaluation: Implications of Cytokeratin 19 Expression for the Adoption of OSNA in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2016 Nov;23(12):4042-4048).
215. Noorlag R van Es RJJ, de Bree R, Willems SM. Cytokeratin 19 expression in early oral squamous cell carcinoma and their metastasis: Inadequate biomarker for one-step nucleic acid amplification implementation in sentinel lymph node biopsy procedure. *Head Neck.* 2017 Sep;39(9):1864-1868.
216. Rahadiani N, Sarwanti S, Handjari DR, Stephanie M, Krisnuhoni E. Clinical implications of Cytokeratin 19 expression in patients with oral squamous cell carcinoma. *Pathologica.* 2023 Jun;115(3):155-163.

217. Woods RSR, Callanan D, Jawad H, et al. Cytokeratin 7 and 19 expression in oropharyngeal and oral squamous cell carcinoma. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2022;279:1435-1443.
218. Kurosumi M. Immunohistochemical assessment of hormone receptor status using a new scoring system (J-Score) in breast cancer. *Breast Cancer* 2007; 14:189–193.)
219. Nie MH, Zhong L, Zeng GM, Li BQ. The changes of cytokeratin 19 during oral carcinogenesis. *Chin J Stomatol* 2002;37:187-91
220. Vora HH, Shah NG, Patel DD, Trivedi TI, Chikhlikar PR. Prognostic significance of biomarkers in squamous cell carcinoma of the tongue: multivariate analysis. *J Surg Oncol* 2003;82:34-50.
221. Yamauchi K, Fujioka Y, Kogashiwa Y, Kohno N. Quantitative expression study of four cytokeratins and p63 in squamous cell carcinoma of the tongue: suitability for sentinel node navigation surgery using one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol.* 2011;64(10):875–879.)
222. Ernst J, Ikenberg K, Apel B, et al. Expression of CK19 is an independent predictor of negative outcome for patients with squamous cell carcinoma of the tongue. *Oncotarget.* 2016;7:76151-76158.
223. Bombeccari GP, Gianni AB, Spadari F. Immunoexpression of cytokeratin-19 in the oral lichen planus and related oral squamous cell carcinoma. *Ann Stomatol (Roma).* 2017;8:104-149.
224. Babiker AY, Rahmani AH, Abdalaziz MS, et al. Expressional analysis of p16 and cytokeratin 19 protein in the genesis of oral squamous cell carcinoma patients. *Int J Clin Exp Med* 2014;7:1524-1530
225. Menz A, Bauer R, Kluth M, et al. Diagnostic and prognostic impact of cytokeratin 19 expression analysis in human tumors: a tissue microarray study of 13,172 tumors. *Hum Pathol* 2021;115:19-36.
226. Fillies T, Werkmeister R, Packeisen J, et al. Cytokeratin 8/18 expression indicates a poor prognosis in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *BMC Cancer* 2006;6:10-8.
227. Tiernan JP, Verghese ET, Nair A, Pathak S, Kim B, White J, et al. Systematic review and meta-analysis of cytokeratin 19-based one-step nucleic acid amplification versus histopathology for sentinel lymph node assessment in breast cancer. *Br J Surg.* 2014;101(4):298–306.

228. Woolger JA, Beirne JC, Vaughan ED, Lewis-Jones HG, Scott J, Brown JS. Correlation of histopathologic findings with clinical and radiologic assessments of cervical lymph-node metastases in oral cancer. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1995;24:30–7.
229. Ram Prasad VV, Nirmala NR, Kotian MS. Immunohistochemical evaluation of expression of cytokeratin 19 in different histological grades of leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Indian J Dent Res* 2005;16:6-11.
230. Rajeswari P, Janardhanan M, Suresh R, et al. Expression of CK 19 as a biomarker in early detection of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Pathol* 2020;24:523-529.
231. Safadi RA, Musleh AS, Al-Khateeb TH, et al. Analysis of Immunohistochemical Expression of K19 in Oral Epithelial Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma Using Color Deconvolution-Image Analysis Method. *Head Neck Pathol* 2010;4:282-289.



# 8.ANEXO

..... 1er. APELLIDO
..... 2º. APELLIDO
..... NOMBRE
HISTORIA CLINICA
<input type="text"/>

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

D.N.I. del paciente: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nombre del Médico que informa: \_\_\_\_\_

Nº Colegiado: \_\_\_\_\_

### SERVICIO DE CIRUGÍA MAXILOFACIAL. BIOPSIA SELECTIVA DE GANGLIO CENTINELA PARA LA ESTADIFICACION CERVICAL DEL CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE CABEZA Y CUELLO

La mayoría de los tumores de Cabeza y Cuello se diseminan como primer estadio por vía linfática (a través de los ganglios) al cuello. En dichos pacientes, siempre examinamos (Clínica y/o radiológicamente) el cuello en busca de signos de diseminación de la enfermedad (metástasis). Cuando existe esta diseminación se realiza una intervención llamada disección cervical, cuyo objetivo es extirpar los ganglios linfáticos del cuello para su estudio, y es considerado una cirugía mayor. Este tipo de procedimiento conlleva un aumento de la morbilidad (daños asociados) de la cirugía, y puede constituir un sobret ratamiento cuando no se demuestra la diseminación metastásica.

En el momento actual las técnicas de diagnóstico por imagen (TAC, Resonancia Magnética y PET-TC) no permiten detectar con total seguridad la presencia o no de MICRO-metástasis ganglionares cervicales.

La técnica de la biopsia selectiva de los ganglios centinela cervicales, aceptada por la Comunidad Científica Internacional desde hace varios años, trata de confirmar de una forma más certera y menos traumática, la existencia de enfermedad cervical ganglionar en pacientes con tumores pequeños (T1-2). Así, se identifica mediante radiotrazadores la primera estación de drenaje del tumor primario, que generalmente suele ser uno o varios ganglios linfáticos que serán extirpados y analizados en profundidad.

El objetivo de esta técnica es minimizar las indicaciones terapéuticas, siendo sólo los ganglios centinelas reseca dos y sometidos a un estudio histopatológico. Si tras este estudio, existiese enfermedad en los ganglios deberíamos realizarle la disección cervical posteriormente. Si no existe enfermedad en los mismos simplemente deberá seguir revisiones periódicas en nuestro Servicio.

#### INFORMACIÓN SOBRE EL PROCEDIMIENTO DE DETECCIÓN Y BIOPSIA SELECTIVA DE GANGLIO CENTINELA CERVICAL

Es un procedimiento que se ha realizado desde principios de siglo en pacientes con melanoma maligno (un tipo de tumor de piel) y tumores de mama. Ha mostrado ser un excelente método para determinar si existe diseminación del tumor.

La técnica consiste en varias inyecciones (de 2 a 4) el día anterior a la cirugía, bajo anestesia local, de una partícula de pequeño tamaño (Nanocoloidos de Albúmina) marcada con un isótopo radiactivo (<sup>99m</sup>Tc) en las proximidades del tumor o de la cicatriz de la biopsia previa. La dosis de radiactividad recibida es muy pequeña y no requiere precauciones especiales.

Las pequeñas partículas inyectadas en el espacio intersticial (espacio que hay entre las células) se van a incorporar a los canales linfáticos y van a llegar a los ganglios linfáticos contiguos dando van a ser fijadas por las células del sistema inmune que allí existen, persistiendo en estos ganglios de forma estable durante el tiempo del procedimiento.

Posteriormente se realiza una gammagrafía para estudiar la distribución de las partículas administradas (técnica de diagnóstico por imagen en Medicina Nuclear). Una vez realizada la gammagrafía, se localizan los ganglios centinelas y se procede a marcar en la piel con tinta dicha localización. Esta primera parte del procedimiento se realiza en el Servicio de Medicina Nuclear, en conjunto puede durar entre 60 y 90 minutos.

El mismo día de la cirugía se repite únicamente el estudio de imagen en Medicina Nuclear (unos 30 minutos). Posteriormente en quirófano y a través de una incisión cervical se identifican el/los ganglios mediante una sonda que va a medir la radioactividad emitida por las partículas marcadas que han quedado fijadas en los ganglios linfáticos. Este o estos ganglios se extirpan y se procede a su análisis durante la intervención quirúrgica en el Servicio de Anatomía Patológica. Si el/los ganglios contiguos son negativos para células tumorales se asume que no existe afectación cervical ganglionar. Si el/los ganglios son positivos se procede a la extirpación de los ganglios linfáticos cervicales.

#### Falsos negativos:

Se debe asumir que la técnica no está exenta de una tasa de falsos negativos en torno al 5%, es decir, pacientes en los que los ganglios centinelas detectados por gammagrafía y la sonda no presentan células tumorales pero existen otros ganglios infiltrados.

En estos casos será necesaria una segunda intervención para realizar la extirpación de los ganglios cervicales cuando los exámenes diagnósticos a los que se somete al paciente durante el seguimiento clínico demuestren la afectación ganglionar regional.

**Riesgos de la intervención:** Toda intervención quirúrgica lleva implícita una serie de riesgos, ya sea por la propia intervención o por la situación clínica vital de cada paciente (diabetes, cardiopatía, patología respiratoria, hipertensión, edad avanzada, obesidad, etc.).

Las complicaciones Menores específicas de este procedimiento pueden ser:

Infecciones locales, en la mayoría de los casos, se resuelven con tratamiento antibiótico convencional.

1. Hematomas postoperatorios (acumulación de sangre en el lecho quirúrgico).

**04.883**

2. Seromas postoperatorios (acumulación de líquido).
3. Alteraciones secundarias a la cicatriz.
4. Limitación leve de la movilidad cervical. *Continúa al dorso*

De manera prácticamente inhabitual, pueden aparecer las siguientes complicaciones:

1. Reacciones alérgicas a las partículas administradas (extremadamente infrecuente). Hipersensibilidad. Si usted padece de alergia a alguna sustancia, háganoslo saber.
2. Complicaciones asociadas a la inyección de anestésico local: alergia al anestésico o alteraciones sensitivas (inhabitual)
3. Lesiones vasculares o nerviosas (inhabitual).

#### Alternativas

En los pacientes que decidan no someterse a dicha técnica, y se le realice únicamente la extirpación del tumor, se hará un seguimiento clínico y radiológico de su proceso tumoral. De esta manera el paciente asume un control de su enfermedad a nivel cervical menos sensible.

#### OTRAS CONSIDERACIONES:

**Si precisa más información o alguna aclaración, no dude en preguntarnos.**

<b>DECLARACIONES Y FIRMAS</b>	
Declaro que: <ul style="list-style-type: none"> <li>- He sido informado de forma comprensible de la naturaleza y los riesgos del procedimiento mencionado, así como de sus alternativas.</li> <li>- Estoy satisfecho con la información recibida. He podido formular todas las preguntas que he creído convenientes y, me han sido aclaradas todas mis dudas.</li> <li>- En consecuencia, doy mi consentimiento para su realización.</li> <li>- Si surgiera alguna situación urgente, que requiriese algún procedimiento distinto del que he sido informado, autorizo al equipo médico para realizarlo sin previo consentimiento.</li> <li>- Acepto la posibilidad de que el procedimiento sea realizado por médicos residentes tutelados por médicos especialistas del Servicio.</li> <li>- <b>Doy mi consentimiento</b> para que, durante la intervención el cirujano tome las muestras biológicas que considere necesarias para el estudio de mi proceso, a las imágenes precisas para la adecuada documentación del caso.</li> </ul>	
Fecha: .../.../.....	
<i>Firma del paciente,</i>	<i>Firma del médico,</i>
Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente para consentir, ya sea por minoría de edad, incapacidad legal o incompetencia, con indicación del carácter con que interviene (Padre, Madre, Tutor, etc.).	
Nombre: _____	D.N.I.: _____
Fecha: .../.../.....	
En calidad de _____ autorizo la realización del procedimiento mencionado.	
<b>DENEGACION DE CONSENTIMIENTO</b>	
Después de ser informado de la naturaleza y riesgos del procedimiento propuesto, manifiesto de forma libre y consciente mi <b>DENEGACION DE CONSENTIMIENTO</b> para su realización, haciéndome responsable de las consecuencias que pueden derivarse de esta decisión.	
Motivo _____ _____	
<i>Firma paciente,</i>	<i>Firma testigo,</i>
<i>Firma médico,</i>	
Fecha: .../.../.....	
Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente para consentir, ya sea por minoría de edad, incapacidad legal o incompetencia, con indicación del carácter con que interviene (Padre, Madre, Tutor, etc.)	
Nombre: _____	D.N.I.: _____
Fecha: .../.../.....	
En calidad de _____ deniego la autorización para realizar el procedimiento mencionado.	

