



Universidad de Valparaíso  
Facultad de Odontología  
Escuela de Odontología  
Cátedra de Patología Oral

# **Valor pronóstico de la Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne en carcinoma escamocelular de cabeza y cuello**

Trabajo de Investigación  
Requisito para optar al  
Título de Cirujano Dentista

Alumnos: Carolina Carlo Valladares  
Carla Franco Vivanco  
Manuel Gajardo Guineo

Profesor Guía: Dr. Bernardo Venegas

Valparaíso  
2006

## *Agradecimientos*

Agradecemos en primer lugar a nuestros padres y familiares por su permanente apoyo y esfuerzo durante estos años de carrera.

A nuestro docente guía, profesor Dr. Bernardo Venegas, por su entusiasmo y dedicación para poder llevar a cabo esta tesis.

Al personal de Hospital Carlos Van Buren, al servicio de Anatomía Patológica y especialmente a la Srta. Verónica Ríos, por su colaboración y buena disposición durante el periodo de trabajo en este servicio.

A la Dra. Rosa Guerra, profesora de biología de nuestra carrera, por facilitar nuestro acceso al laboratorio de biología para utilizar los microscopios en el periodo de calibración.

...Gracias a todos quienes nos acompañaron

## ***Índice***

<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>Marco Teórico</b>	
<b>Aspectos Generales</b>	<b>3</b>
<b>Pronóstico del Carcinoma Escamocelular de Cabeza y Cuello</b>	<b>7</b>
<b>Factores del Tumor Relacionados con el Pronóstico</b>	<b>7</b>
<b>Clasificación TNM</b>	<b>9</b>
<b>Histopatología del CECCC</b>	<b>15</b>
<b>Evolución Histórica</b>	<b>15</b>
<b>Clasificación Internacional de Tumores</b>	<b>19</b>
<b>Frente de Invasión Tumoral</b>	<b>21</b>
<b>Clasificación de Bryne</b>	<b>23</b>
<b>Reproducibilidad</b>	<b>29</b>
<b>Objetivos</b>	<b>31</b>
<b>Materiales y Métodos</b>	
<b>Muestra</b>	<b>32</b>
<b>Análisis Histopatológico</b>	<b>33</b>
<b>Análisis Estadístico</b>	<b>35</b>
<b>Resultados</b>	<b>37</b>
<b>Reproducibilidad</b>	<b>38</b>
<b>Selección de Variables</b>	<b>39</b>
<b>Asociación con Factores Clínicos-Patológicos</b>	<b>40</b>
<b>Análisis de Supervivencia Univariable</b>	<b>41</b>
<b>Análisis de Supervivencia Multivariable</b>	<b>44</b>

<b>Discusión</b>	<b>45</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>51</b>
<b>Sugerencias</b>	<b>52</b>
<b>Resumen</b>	<b>53</b>
<b>Referencias Bibliográficas</b>	<b>54</b>
<b>Anexos</b>	<b>59</b>

## Introducción

El carcinoma escamocelular de cabeza y cuello (CECCC), una agresiva neoplasia de origen epitelial, ha llegado a posicionarse como el sexto cáncer más común del mundo. Al ritmo actual, se diagnosticarán cerca de 500.000 casos nuevos a nivel mundial, mientras que alrededor de 350.000 personas perderán la vida por esta causa al finalizar el año. La tasa de supervivencia a los 5 años de los pacientes que sufren de CCECC, es de aproximadamente el 50%, tasa que varía de acuerdo al sitio anatómico donde asienta el tumor primario, el compromiso de estructuras vecinas y la presencia de metástasis hacia nódulos linfáticos regionales u órganos a distancia, entre otros factores (Hasina y Lingen, 2004; Sturgis y cols., 2004). Esta pobre expectativa de vida se refiere principalmente a que la mayoría de los casos son diagnosticados en etapas avanzadas de la enfermedad, instancia en la cuál es difícil entregar un tratamiento curativo efectivo.

Si bien, se reconoce la necesidad de un diagnóstico y tratamiento tempranos para mejorar la supervivencia de los pacientes, existe otro problema que desmejora el pronóstico cuando se establece el diagnóstico de cáncer de cabeza y cuello. Con respecto a esto, es necesario previamente mencionar que se han utilizado diferentes criterios cualitativos y cuantitativos para clasificar y etapificar los casos de cáncer con propósitos terapéuticos y pronósticos. De éstos, la valoración del tamaño del tumor primario, el número de linfonodos regionales metastásicos y la presencia de metástasis distantes (Sistema TNM de Estadíaaje Clínico) ha sido el más utilizado para determinar las opciones de tratamiento del paciente (Gosporadowicz y cols, 1998; Mareel y Leroy, 2003). Su utilidad como indicador pronóstico y de respuesta a la terapia también ha sido demostrada (Gosporadowicz y cols., 1998; Dantas y cols., 2003; Gosporadowicz y cols., 2004; Costa y cols., 2005). Sin embargo, y he aquí el problema, en aproximadamente el 30% de los pacientes se observa una supervivencia menor a la esperada, a pesar de que sus neoplasias han sido consideradas de estadio temprano (I o II), siendo entregado un tratamiento acorde a ello (Mareel y Leroy, 2003). La Clasificación TNM no es suficiente para precisar las características del tumor, definir el pronóstico correctamente y entregar un tratamiento apropiado, mejorando la supervivencia de los pacientes (especialmente en este 30%)

Se ha propuesto entonces, hace más de medio siglo, que la combinación de la evaluación de las características histomorfológicas del tumor junto al estadíaaje clínico, podrían entregar información más confiable para predecir el comportamiento de la neoplasia y determinar de mejor forma su tratamiento, no obstante, aún la importancia referida a la histopatología del tumor es escasa.

Muchos de los intentos se han concentrado en refinar la descripción histopatológica, mejorando y objetivizando la clasificación del tumor. La mayoría de los estudios coincide en que la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS (basada en la clasificación de Broders) tiene un pobre valor pronóstico, por lo que su importancia es escasa al momento de establecer la predicción del caso (Kurokawa y cols., 2005). Frente a esto, muchos investigadores han dirigido su atención al *Frente Invasivo del Tumor* (FIT), la zona más profunda de invasión, donde se expresan las características más agresivas de la neoplasia que le permiten diseminarse a través de los tejidos (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols, 1998; Ivkic y cols., 2002). Particularmente, la clasificación de malignidad propuesta por Bryne ha demostrado tener un valor pronóstico adecuado para el uso diagnóstico (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1992; Odell y cols., 1994;

Bryne y cols., 1995; Sawair y cols., 2003; Kurokawa y cols., 2005), similar al que se obtiene con la clasificación TNM, por lo que su uso conjunto podría permitir establecer con mayor precisión el pronóstico y el tratamiento para cada paciente.

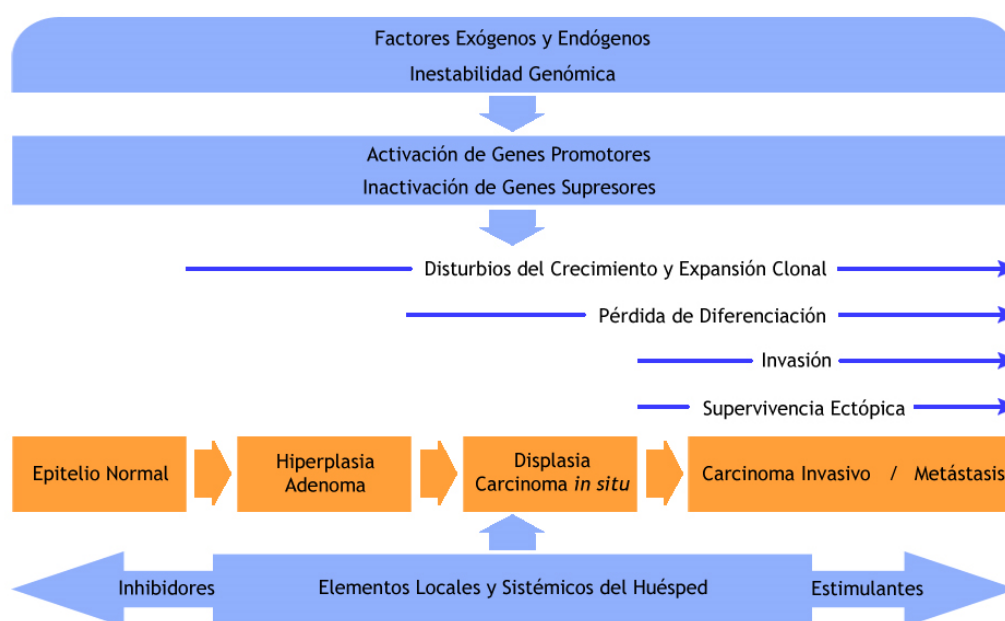
El presente estudio pretende valorar la relación entre la clasificación histopatológica de las diferentes características del Frente de Invasión Tumoral según Bryne, y el pronóstico de los pacientes con CECCC medido en términos de supervivencia. Adicionalmente, se medirá el grado de reproducibilidad de esta clasificación para conocer su confiabilidad diagnóstica y significancia clínica.

## Marco Teórico

### Aspectos Generales

Del total de casos de cáncer a nivel mundial, los casos de Cáncer de Cabeza y Cuello corresponden entre el 3% al 5%, donde aproximadamente el 90% se presenta como *Carcinoma Escamocelular*, una agresiva malignización epitelial, que alcanza el sexto lugar entre las neoplasias más comunes del mundo (Hasina y Lingen, 2004).

Como la mayoría de los cánceres, el carcinoma escamocelular de cabeza y cuello (CECCC) se desarrolla a través de un proceso secuencial de activación de oncogenes e inactivación de antioncogenes en el mismo clon de células, proceso que produce un cambio fenotípico en las células tumorales que les permiten sobrevivir y expandirse (Sturgis y Wei, 2002; Mareel y Leroy, 2003; Hasina y Lingen, 2004), expresándose clínicamente como una masa tumoral con dolor, sangramiento y disturbios funcionales debido a la presión y reemplazo de los tejidos normales (Mareel y Leroy, 2003) (Figura 1).



**Figura 1. Desarrollo del Cáncer.** Representación esquemática de los aspectos genéticos, epigenéticos y fenotípicos del desarrollo del cáncer (tomado de Mareel y Leroy, 2003)

La edad media para el diagnóstico de CECCC es de aproximadamente 60 años (Silverman, 2001; Miller y cols., 2003; Ochsenius y cols., 2003; Sawair y cols., 2003; Sturgis y cols., 2004), no obstante, la incidencia de este tipo de cáncer en adultos jóvenes menores de 40 años ha ido en aumento, particularmente aquellos localizados en la lengua (Pitman y cols., 2000; citado en Silverman, 2001; Schantz y Yu, 2002; citado en Sturgis y cols., 2004). Se ha reportado que afecta mayormente a hombres, en una proporción cercana a 2:1 respecto de las mujeres (Silverman, 1988; Silverman, 2001; Miller y cols., 2003; Ochsenius y cols., 2003). A nivel mundial, el cáncer de cabeza y cuello es el tercer cáncer más prevalente después del cáncer de mamas y colorectal, correspondiendo al 7% de los 22,4 millones de individuos con diagnóstico de cáncer, excluyendo el cáncer de piel sin origen melánico (Parkin y cols., 2001; citado en Sturgis y cols., 2004). De los aproximadamente 1,6 millones de individuos con diagnóstico de cáncer de cabeza y cuello, 707.100 poseen diagnóstico de cáncer de cavidad oral, 458.100 diagnóstico de cáncer laríngeo, 248.800 de cáncer oro/hipofaríngeo y 171.500 tienen diagnóstico de cáncer nasofaríngeo (Sturgis y cols., 2004). El pronóstico para muchos pacientes es devastador, entre un 40% y 50% de los pacientes morirán dentro de los 5 años siguientes al diagnóstico (Bànkfalvi y Piffkò, 2000). Las tasas de mortalidad del CECCC no han cambiado significativamente desde los últimos 30 años (Miller y cols., 2003), representando la causa de muerte en cerca de 350.000 casos anualmente a nivel mundial (Parkin y cols., 2001; citado en Sturgis y cols., 2004).

Causalmente, la mayoría de los casos de CECCC se relacionan principalmente con el hábito del tabaco, en varias de sus presentaciones y con una historia de consumo crónico y excesivo de alcohol, (Silverman, 1988; Sciubba, 2001; Silverman, 2001; Miller y cols., 2003; Hasina y Lingen, 2004; Sturgis y cols., 2004), siendo considerados como los factores de riesgo preponderantes en el desarrollo del cáncer. No obstante lo anterior, existe un número creciente de casos que no involucran estos hábitos (asociados al aumento de casos en menores de 40 años), por lo que todos los pacientes deben considerarse en riesgo durante el examen clínico (Sciubba, 2001). Otros factores de riesgo potenciales son la exposición a ciertos virus (papiloma humano y Epstein-Barr), consumo de marihuana, reflujo gastroesofágico, hábitos dietarios, ocupación, exposición a ciertas radiaciones (especialmente la radiación UV) y susceptibilidad genética (Sciubba, 2001; Silverman, 2001; Sturgis y cols., 2004).

El CECCC puede presentarse en el interior de la cavidad oral o en labio inferior, laríngeo, oro/hipofaríngeo, nasofaríngeo, senos maxilares y piel facial o cervical (Sawyer y Wood, 1992; Wood y Goaz, 1999; Regezzi y Sciubba, 2000). Intrabucalmente, el carcinoma se presenta con mayor frecuencia en las caras lateral y ventral de la lengua y en el piso de boca. Luego en menor grado se observa en el paladar blando, región retromolar y pilares amigdalinos, surco gingivoalveolar, mucosa bucal y paladar duro (Sawyer y Wood, 1992; Wood y Goaz, 1999; Regezzi y Sciubba, 2000).

El CECCC tiene una amplia diversidad de alteraciones clínicas detectables al examen, que pueden variar desde un temprano y sutil cambio de la textura, color o elasticidad superficial de la mucosa o piel, hasta una lesión mucho más obvia (Sciubba, 2001). La mayoría de los cánceres orales de estadio temprano parecen ser alteraciones benignas, a menudo asintomáticas, en formas de cambios de color local (rojo, blanco o mixto), cambios de la textura de la mucosa (erosión, queratosis, granularidad o fisurado) o ambos, e inclusive presentarse en forma exofítica en

alrededor del 55% de los casos de carcinoma escamocelular de lengua. Con la progresión clínica de un cáncer escamoso temprano hacia una enfermedad intermedia o tardía, otros signos clínicos se vuelven evidentes, incluyendo ulceración, induración/fijación, sangramiento, alteraciones en la sensibilidad, disfagia, invasión ósea, movilidad dentaria y dolor (Sawyer y Wood, 1992; Lynch y cols., 1996; Wood y Goaz, 1999; Sciubba, 2001). La extensión locoregional hacia los linfonodos locales generalmente ocurre en estadios tardíos de la enfermedad como resultado de la infiltración de los vasos linfáticos por el tumor, determinando un peor pronóstico (Sciubba, 2001). El cáncer de cabeza y cuello produce la muerte del paciente principalmente por la invasión local y las metástasis hacia los linfonodos locoregionales (Mareel y Leroy, 2003).

Histopatológicamente, se observa una invasión de células epiteliales atípicas con diferentes grados de diferenciación, que traspasan la membrana basal hacia el conjuntivo y tejidos vecinos (Lynch y cols., 1996; Wood y Goaz, 1999). Con frecuencia se evidencian perlas de queratina o queratinización de células individuales. Por lo general, las células cancerosas invaden tejidos y estructuras adyacentes, en forma de pequeños nidos de células hiper cromáticas. Su extensión al interior de los conductos excretores salivales, se considera un signo microscópico de alto riesgo para una posible recurrencia. Hay variaciones considerables entre distintos tumores y dentro del mismo tumor, en relación al número de mitosis, polimorfismo nuclear y cantidad de queratinización (Anneroth y cols., 1987; Bryne y cols., 1991; Wood y Goaz, 1999). Casi siempre se observa alrededor de los nidos de las células del tumor invasor, una reacción inflamatoria importante por parte del huésped (Lynch y cols., 1996; Regezi y Sciubba, 2000). Existen ciertas variantes particulares del carcinoma escamocelular: el carcinoma de células fusiformes o sarcomatoide (con células en forma de huso como las observadas en los sarcomas), el carcinoma verrucoso (con células epiteliales muy bien diferenciadas de aspecto hiperplásico) y el carcinoma basaloide escamoso (las células tumorales presentan un patrón basaloide con diferenciación escamosa) (Regezi y Sciubba, 2000).

El diagnóstico del CECCC debe basarse en una correcta evaluación de la historia médica del paciente, junto a un riguroso examen clínico en busca de síntomas y signos que sugieran la presencia de una neoplasia (Silverman, 1988; Regezi y Sciubba, 2000; Sciubba, 2001). Idealmente, cualquier alteración de la mucosa debe estudiarse mediante biopsia, siendo remitida a un patólogo oral y maxilofacial para su evaluación. Cuando se observa una alteración de la superficie más amplia, el clínico puede considerar el uso de la tinción vital con azul de toluidina para ayudar al juicio clínico en la identificación de áreas que podrían presentar con mayor seguridad displasia o cáncer, requiriendo de biopsia (Silverman, 1988; Regezi y Sciubba, 2000; Sciubba, 2001). Las pruebas imagenológicas que incluyen radiografías convencionales, tomografía computarizada, resonancia magnética y ultrasonido, pueden proporcionar pruebas de invasión ósea y de la extensión de algunas lesiones en los tejidos blandos (Regezi y Sciubba, 2000).

Una vez establecido el diagnóstico de carcinoma escamocelular, se etapifica regularmente según la clasificación clínica TNM (definida por la Unión Internacional Contra el Cáncer). Este sistema ha sido ampliamente utilizado por más de 50 años para definir la extensión del tumor y determinar las opciones de tratamiento para pacientes con OSCC (Sawair y cols., 2003). Este sistema se basa en la evaluación del tamaño de la lesión primaria, el número de linfonodos regionales comprometidos y la presencia de metástasis a distancia. El comité de Unión

Americana sobre el Cáncer (AJCC), ha establecido varios estadios para los cánceres de cabeza y cuello según la clasificación TNM que permiten establecer la gravedad de la lesión. El tratamiento es entonces escogido según estas características y otros factores, tales como, la presencia de invasión ósea, capacidad de lograr márgenes quirúrgicos adecuados, posibilidad de preservar el habla y la deglución, estado físico y mental del paciente, valoración de las complicaciones, experiencia de los cirujanos, preferencia personal y cooperación del paciente (Regezi y Sciubba, 2000; Ord y Blanchaert, 2001).

Los carcinomas escamocelulares de estadio temprano (I y II) pueden ser tratados sólo con cirugía o sólo con radiación. La supervivencia a los cinco años es similar para ambas modalidades de tratamiento. Desafortunadamente, la mayoría de los casos de cáncer oral se presentan en etapas tardías (III y IV), donde la terapia es más compleja y el pronóstico es peor. En estadios avanzados de carcinoma escamocelular, una combinación de cirugía y radioterapia provee la mejor expectativa de vida, a pesar de que esto incrementa las complicaciones y la morbilidad, lo que se traduce en un detrimento de la calidad de vida del paciente (Wood y Goaz, 1999; Regezi y Sciubba, 2000; Ord y Blanchaert, 2001; Silverman, 2001). El rol de la quimioterapia no ha sido bien definido en los casos de carcinoma escamocelular (Ord y Blanchaert, 2001).

Este acercamiento está enfocado al control locoregional de la enfermedad (esto es el sitio primario del tumor y los linfonodos cervicales). No obstante, pacientes con enfermedad avanzada, actualmente viven lo suficiente para desarrollar metástasis distantes y los pacientes con enfermedad temprana, sobreviven para desarrollar segundos primarios. Debido a esto, el concepto tradicional del cáncer oral como una enfermedad exclusiva de la región de cabeza y cuello, ha evolucionado al concepto de enfermedad sistémica. Por esta razón, la terapia inicial y las visitas de control se han vuelto críticas (Ord y Blanchaert, 2001).

## ***Pronóstico del Carcinoma Escamocelular de Cabeza y Cuello***

El momento más crítico durante la fase de planificación es la elección del tratamiento del paciente. Esta decisión se toma en base a las características del caso en particular, de acuerdo al diagnóstico y pronóstico establecido para éste, según diferentes factores clínicos e histopatológicos (Wood y Goaz, 1999). Otros factores más inespecíficos que pueden modificar el curso clínico de la enfermedad incluyen edad, sexo, salud general, estado inmunológico y actitud mental (Wood y Goaz, 1999). En la actualidad, las piedras angulares de la toma de decisiones terapéuticas, es decir, la clasificación TNM suplementada con el análisis histopatológico del tumor, han demostrado ser predictores imperfectos del curso de la enfermedad (Bánkfalvi y Piffkò, 2000). Además, la mayoría de los clínicos tiende a basarse exclusivamente en la clasificación TNM para establecer el pronóstico del paciente (Bryne y cols., 1991c), entregándole una escasa importancia a las características histopatológicas del tumor.

Por otro lado, a pesar de los avances en oncología y otras áreas de la biología, el comportamiento del tumor sigue siendo algo difícil de predecir debido a que es extremadamente variable y dependiente de una compleja interrelación entre el individuo y el tumor, aún no esclarecida totalmente. La búsqueda de un predictor certero del comportamiento en el tiempo del tumor, es de gran importancia en el esfuerzo por determinar el pronóstico del paciente, de forma de poder escoger el tratamiento más apropiado para cada caso (Bánkfalvi y Piffkò, 2000), ya que hasta el día de hoy, ninguno de los factores pronósticos establecidos, individualmente o en combinación, son capaces de predecir el comportamiento biológico único de un tumor en particular (Bánkfalvi y Piffkò, 2000; Hasina y Lingen, 2004; Kurokawa y cols., 2005).

### **Factores del Tumor Relacionados con el Pronóstico**

Varios factores de la enfermedad se han estudiado para establecer su relación con el pronóstico del CECCC. Dentro de los que han demostrado estar asociados en alguna medida con el comportamiento del tumor, están, el sitio del tumor primario, la presencia de segundos primarios, la histología, la clasificación TNM, y más recientemente, la expresión de ciertos marcadores moleculares.

Se ha evidenciado a través de diferentes estudios, que el sitio donde asienta el tumor primario tiene cierta incidencia en el pronóstico del caso. Puede entenderse que, en líneas generales, el sitio del tumor se relaciona con la prontitud del diagnóstico, es decir, aquellas regiones más accesibles a la examinación, producirán una consulta inmediata por el paciente, a pesar de que no existan otros síntomas a excepción de un cambio en la morfología de la región (Miller y cols., 2003). De esta forma, es común encontrar casos de labio y lengua en estadios precoces al momento del diagnóstico, mientras que casos de zonas profundas de orofaringe, laringe e incluso piso de boca, se encuentran por lo general en etapas avanzadas de la enfermedad, lo que es asociado a un pronóstico negativo y una baja supervivencia.

También relacionado con el sitio del tumor se encuentra el patrón de drenaje linfático de la región, que facilita o dificulta el compromiso de los nódulos linfáticos, el cuál es enormemente variable entre diferentes sitios anatómicos (Odell y cols., 1994; Costa y cols., 2005), e incluso

entre diferentes pacientes. Los vasos linfáticos de la cabeza y el cuello, se encuentran localizados en seis áreas definidas en adición a la región parotídea. Debido a que estas áreas se encuentran altamente vascularizadas y contienen una abundante red de canales linfáticos que se entrecruzan, con drenajes colaterales y áreas de vaciamiento, los patrones de drenaje son absolutamente variables y difíciles de predecir (Balkissoon y cols., 2004). Es por esto que la ubicación del tumor primario determinará en cierta medida la mayor o menor posibilidad de encontrar nódulos linfáticos comprometidos. El riesgo de metástasis locoregionales aumenta a medida que el tumor se encuentre en una zona más posterior de la vía aéreo-digestiva superior: en labio, el riesgo es de un 10%, en lengua un 25%, en encías un 30%, en piso de boca un 40%, en orofaringe es de un 55% y en hipofaringe de un 65% (Byers y cols., 1997; Woolgar, 1999).

No obstante la validez de lo anterior, también se ha evidenciado que existe heterogeneidad en el comportamiento tumoral entre sitios cercanos anatómicamente, pero diferentes biológicamente (Odell y cols., 1994). En la cavidad oral por ejemplo, tumores situados anteriormente, tienden a ser mejor diferenciados histológicamente y más fáciles de tratar, mientras que aquellos situados posteriormente en la boca, son por lo general de peor pronóstico histológico y más difíciles de extraer (Odell y cols., 1994). Esto también puede observarse dentro de regiones tan específicas como la lengua: aquellos tumores que se encuentran en el dorso lingual tienden a infiltrar profundamente en un estadio relativamente temprano, mientras que aquellos que se encuentran en los bordes laterales o en la cara ventral de la lengua/piso de boca, invaden lateral y superficialmente en etapas tempranas (Odell y cols., 1994).

A pesar de que existe cierta controversia en cuanto a que la presencia de un segundo primario signifique un factor pronóstico desfavorable, ningún estudio permite establecer conclusiones definitivas al respecto (Jones, 1994). Según algunos autores la ocurrencia de un segundo primario, impide un tratamiento exitoso del tumor original. Se ha determinado que la presencia de múltiples tumores primarios reducen la supervivencia a los 5 años en aproximadamente un 10% (Jones, 1994).

Por último, es importante mencionar que gracias a los avances en el campo de la Biología Molecular del cáncer, en el futuro se utilizarán diferentes marcadores biológicos, para establecer el diagnóstico y pronóstico del CECCC. Algunos investigadores, han intentado buscar en el campo de la citogenética la presencia de alteraciones cromosómicas (Hasina y Lingen, 2004), debido a que el pronóstico de las lesiones malignas está en muchos casos correlacionado con aberraciones estructurales y cuantitativas del contenido genético de la célula (Bánkfalvi y Piffkò, 2000). También, se ha investigado la utilidad de caracterizar diferentes genes/proteínas o productos celulares para conformar un grupo de biomarcadores, utilizables en la determinación del pronóstico (Veneroni y cols., 1997; Hasina y Lingen, 2004). Varios productos celulares, también han sido objeto de estudio como posibles marcadores del pronóstico. Dentro de este campo, la búsqueda se encuentra concentrada en el frente de invasión tumoral, en donde se producen interacciones moleculares cruciales para la progresión del cáncer. Diferentes marcadores de proliferación celular como el recuento mitótico, recuento de regiones organizadoras nucleolares (NOR's), fracción de fase S o índice de KI67 se han investigado como posibles indicadores pronósticos (Piffkò y cols., 1996; Piffkò y cols., 1997; Xie y cols., 1997; Bánkfalvi y Piffkò, 2000; Pich y cols., 2004). La expresión o función de diferentes moléculas de adhesión han sido implicadas en la patología tumoral, dado que jugarían un papel en el desarrollo

del cáncer, diferenciación, invasión y metástasis. Del mismo modo, diferentes antígenos de superficie, como carbohidratos asociados a los antígenos de los grupos sanguíneos, carbohidratos del tipo mucina o citoqueratinas, se han correlacionado con el pronóstico del CECCC (Bryne y cols., 1990; Bryne y cols., 1991a; Bryne y cols., 1991b; Heyden y cols., 1992; Bànkfalvi y Piffkò, 2000).

No obstante esta gran cantidad de información, aún no es posible utilizar estos marcadores de forma rutinaria debido a que no existen métodos apropiados para evaluar la proliferación de forma diagnóstica. Los métodos actualmente utilizados consumen mayor tiempo y recursos, con resultados hasta el momento imprecisos, puesto que ninguno de los marcadores biológicos mencionados ha logrado un valor pronóstico absoluto en los casos de CECCC. Por ello, la necesidad de realizar un buen diagnóstico y clasificación clínica e histopatológica de los casos de CECCC, se torna fundamental para determinar el tratamiento del paciente y su pronóstico.

### **Clasificación TNM**

Como fue mencionado anteriormente, la clasificación TNM fue definida hace más de 50 años en base a los criterios establecidos por la Unión Internacional Contra el Cáncer (IUAC), siendo actualizada y redefinida regularmente, adecuándose al progreso de los conocimientos sobre el cáncer (Gospodarowicz y cols., 1998; Gospodarowicz y cols., 2004). El propósito principal de la clasificación TNM, y de cualquier otro tipo de clasificación, incluyendo las histopatológicas, es tratar de reunir los diferentes casos en grupos de similar curso clínico y características tumorales, de manera que la elección del tratamiento pueda realizarse de la forma más objetiva y exacta posible para cada paciente (Bryne y cols. 1992; Iro y Waldfahrer, 1998; Sawair y cols., 2003; Gospodarowicz y cols., 1998; Gospodarowicz y cols., 2004). Los tumores en esta clasificación se identifican según el volumen del tumor primario y la profundidad de su invasión (T), el número y volumen de los linfonodos comprometidos así como la invasión a través de su cápsula (N), y la presencia de metástasis distantes (M)(Mareel y Leroy, 2003). La clasificación TNM (particularmente su estadio T y N) varía según la región anatómica que sea comprometida por la neoplasia (Snehal y cols., 2005) (Tablas I a V). Adicionalmente, el comité de Unión Americana sobre el Cáncer (AJCC) ha establecido varios estadios para los cánceres de cabeza y cuello según la clasificación TNM, que permite establecer la gravedad de la lesión, agrupando en uno de un total de cuatro estadios las diferentes combinaciones de la clasificación TNM (Snehal y cols., 2005) (Tabla VI).

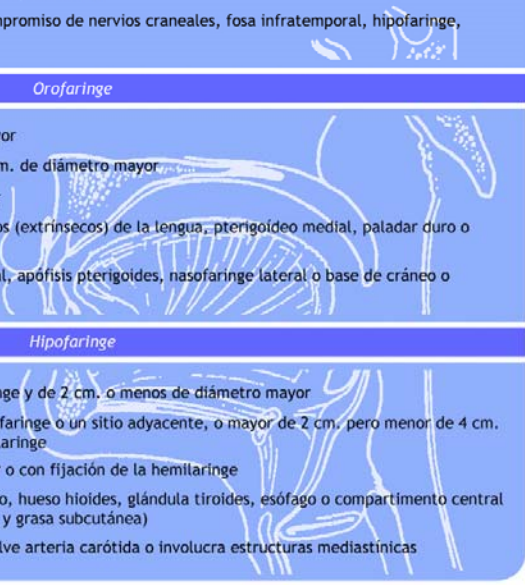
La clasificación TNM, es una referencia a nivel mundial en los casos de cáncer, ya que además de definir las características clínicas del tumor, es un factor importante en la determinación del pronóstico de los pacientes (Gospodarowicz y cols., 1998; Dantas y cols., 2003; Gosporadowicz y cols., 2004; Costa y cols., 2005).

Estadio T para Tumores de Cavidad Oral y Labio	
Tx	Tumor primario no puede ser evaluado
T0	No hay evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor de 2 cm. o menos de diámetro mayor
T2	Tumor mayor a 2 cm. pero menor a 4 cm. de diámetro mayor
T3	Tumor de más de 4 cm. de diámetro mayor
<b>T4a</b>	
Labio	Tumor invade a través del hueso cortical, nervio dentario inferior, piso de boca, o piel facial
Cavidad Oral	Tumor invade a través del hueso cortical hacia los músculos profundos (extrínsecos) de la lengua (geniogloso, hipogloso, palatogloso y estilogloso), seno maxilar o piel facial
<b>T4b</b>	
	Tumor envuelve el espacio masticatorio, apófisis pterigoides, o base de cráneo y/o envuelve la arteria carótida interna



**Tabla I. Estadio T para tumores de Cavidad Oral y Labio**, según la Quinta Edición (2002) de la clasificación TNM del AJCC (tomado de Snehla y cols., 2005).

Estadio T para Tumores de Faringe	
Tx	Tumor primario no puede ser evaluado
T0	No hay evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
<b>Nasofaringe</b>	
T1	Tumor confinado a la nasofaringe
T2	Tumor se extiende hacia tejidos blandos
T2a	Tumor se extiende hacia la orofaringe y/o cavidad nasal sin extensión parafaríngea
T2b	Cualquier tumor con extensión parafaríngea
T3	Tumor envuelve estructuras óseas y/o senos paranasales
T4	Tumor con extensión intracraneal y/o compromiso de nervios craneales, fosa infratemporal, hipofaringe, órbita o espacio masticatorio
<b>Orofaringe</b>	
T1	Tumor de 2 cm. o menos de diámetro mayor
T2	Tumor mayor de 2 cm. pero menor de 4 cm. de diámetro mayor
T3	Tumor mayor de 4 cm. de diámetro mayor
T4a	Tumor invade laringe, músculos profundos (extrínsecos) de la lengua, pterigoideo medial, paladar duro o maxilar inferior
T4b	Tumor invade músculo pterigoideo lateral, apófisis pterigoides, nasofaringe lateral o base de cráneo o envuelve arteria carótida
<b>Hipofaringe</b>	
T1	Tumor limitado a 1 subsitio de la hipofaringe y de 2 cm. o menos de diámetro mayor
T2	Tumor invade más de 1 subsitio de la hipofaringe o un sitio adyacente, o mayor de 2 cm. pero menor de 4 cm. de diámetro mayor, sin fijación a la hemilaringe
T3	Tumor mayor de 4 cm. de diámetro mayor o con fijación de la hemilaringe
T4a	Tumor invade cartilago cricoideo/tiroideo, hueso hioides, glándula tiroidea, esófago o compartimento central de tejido blando (músculos prelaríngeos y grasa subcutánea)
T4b	Tumor invade fascia prevertebral, envuelve arteria carótida o involucra estructuras mediastínicas



**Tabla II. Estadio T para tumores de Faringe**, según la Quinta Edición (2002) de la clasificación TNM del AJCC (tomado de Snehla y cols., 2005).

Estadio T para Tumores de Laringe	
Tx	Tumor primario no puede ser evaluado
T0	No hay evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
Supraglottis	
T1	Tumor limitado a un subsitio de supraglottis con cuerdas vocales de movilidad normal
T2	Tumor invade mucosa de más de un subsitio adyacente de supraglottis o glotis o región fuera de la supraglottis (como base de lengua, vallecula, pared medial de seno piriforme) sin fijación de la laringe
T3	Tumor limitado a la laringe con fijación de cuerdas vocales y/o invadiendo cualquiera de las siguientes: área postcricoidea, tejidos preepiglóticos, espacio paraglótico y/o erosión menor del cartilago tiroideo
T4a	Tumor invade a través del cartilago tiroideo y/o invade tejidos más allá de la laringe (como tráquea, tejidos blandos del cuello incluyendo músculos extrínsecos de la lengua, tiroides o esófago)
T4b	Tumor invade espacio prevertebral, envuelve arteria carótida o invade estructuras mediastínicas
Glottis	
T1	Tumor limitado a las cuerdas vocales (podría envolver la comisura anterior o posterior) con movilidad normal
T1a	Tumor limitado a una cuerda vocal
T1b	Tumor limitado a ambas cuerdas vocales
T2	Tumor se extiende hacia supraglottis y/o subglottis, o con movilidad anormal de las cuerdas vocales
T3	Tumor limitado a la laringe con fijación de las cuerdas vocales
T4a	Tumor invade cartilago cricoideo o tiroideo y/o invade tejidos más allá de la laringe (como tráquea, tejidos blandos del cuello incluyendo músculos extrínsecos de la lengua, tiroides o esófago)
T4b	Tumor invade espacio prevertebral, envuelve arteria carótida o invade estructuras mediastínicas
Subglottis	
T1	Tumor limitado a subglottis
T2	Tumor se extiende hacia una o ambas cuerdas vocales con o sin movilidad alterada
T3	Tumor limitado a la laringe con fijación de las cuerdas vocales
T4a	Tumor invade cartilago cricoideo/tiroideo, hueso hioides, glándula tiroides, esófago o compartimento central de tejido blando (músculos prelaríngeos y grasa subcutánea)
T4b	Tumor invade fascia prevertebral, envuelve arteria carótida o involucra estructuras mediastínicas

**Tabla III. Estadio T para tumores de Laringe,** según la Sexta Edición (2002) de la clasificación TNM del AJCC (tomado de Snehal y cols., 2005).

Estadio N para Tumores de Cabeza y Cuello	
Nx	Linfonodos regionales no pueden ser evaluados
N0	Sin metástasis en linfonodos regionales
N1	Metástasis en un linfonodo ipsilateral, de 3 cm. o menos de diámetro mayor
N2	Metástasis en un linfonodo ipsilateral, mayor de 3 cm. pero menor de 6 cm. de diámetro mayor; o en múltiples linfonodos ipsilaterales ninguno mayor a 6 cm. de diámetro mayor; o en linfonodos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor a 6 cm. de diámetro mayor
N2a	Metástasis en un linfonodo ipsilateral, mayor de 3 cm. pero menor de 6 cm. de diámetro mayor
N2b	Metástasis en múltiples linfonodos ipsilaterales ninguno mayor de 6 cm. de diámetro mayor
N2c	Metástasis en linfonodos bilaterales o contralaterales ninguno mayor de 6 cm. de diámetro mayor
N3	Metástasis en un linfonodo mayor de 6 cm. de diámetro mayor

**Tabla IV. Estadio N para tumores de Cabeza y Cuello** (excepto nasofaringe y tiroides), según la Sexta Edición (2002) de la clasificación TNM del AJCC (tomado de Snehal y cols., 2005).

Estadio M para Tumores de Cabeza y Cuello	
Mx	Metástasis distantes no pueden ser evaluadas
M0	Sin metástasis distantes
M1	Metástasis distantes

**Tabla V. Estadio M para tumores de Cabeza y Cuello**, según la Sexta Edición (2002) de la clasificación TNM del AJCC (tomado de Snehali y cols., 2005).

Etapificación de Tumores de Cabeza y Cuello			
Etapa	Estadio T	Estadio N	Estadio M
0	Tis	N0	M0
1	T1	N0	M0
2	T2	N0	M0
3	T3	N0	M0
IVA	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
IVB	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
	T4b	Cualquier N	M0
IVC	Cualquier T	N3	M0
	Cualquier T	Cualquier N	M1

**Tabla VI. Etapificación de Todos los Tumores de Cabeza y Cuello** a excepción de nasofaringe y tiroides, según la Sexta Edición (2002) de la clasificación TNM del AJCC (tomado de Snehali y cols., 2005).

El valor pronóstico de la clasificación TNM ha sido demostrado en varios estudios. Conforme la etapa clínica avanza de I a IV, el pronóstico empeora (Woolgar y cols., 1998; Wood y Goaz, 1999). La tasa global de supervivencia a 5 años para el CECCC es alrededor de 45% a 50%. Si la neoplasia es pequeña y localizada, la tasa de curación puede elevarse hasta un 60% o 70%, mostrando una mayor expectativa de supervivencia a los 5 años (de 80% a 90%) en las lesiones de labio inferior. Sin embargo, cuando existen metástasis regionales hacia nódulos linfáticos en el momento del diagnóstico, las cifras de supervivencia disminuyen drásticamente a casi un 25% (Wood y Goaz, 1999).

En un estudio llevado a cabo por Wen-Liang Lo y cols (2003) se observó que los pacientes que padecen carcinoma escamocelular de cavidad oral en etapa I tienen una supervivencia a los 5 años de un 75%, aquellos en etapa II de un 65,6%, en etapa III un 49% y en etapa IV un 30%. Esta clara disminución de la supervivencia a medida que aumenta el estadiaje del cáncer, también se observa en las diferentes subdivisiones de la etapa IV, que se han adoptado desde la

quinta edición del sistema TNM: en el estadio IVA se observa una sobrevida de aproximadamente un 32,2%, en el IVB cerca de un 28,8% y en el IVC de un 22,2% (Iro y Waldfahrer, 1998).

Del mismo modo, cada uno de los componentes de la clasificación, se ha relacionado independientemente con la sobrevida de los pacientes.

#### *A. Volumen del Tumor Primario*

Existe controversia en cuanto a la influencia del tamaño del tumor primario sobre el pronóstico de los pacientes. El problema relacionado con el aumento del tamaño es la mayor posibilidad de invasión de estructuras vecinas y compromiso de nódulos linfáticos (Tytor y Olofsson, 1992; Woolgar y cols., 1995; Woolgar y cols., 1999).

Algunos autores sin embargo, sugieren que el tamaño del tumor no es una característica confiable para predecir el comportamiento tumoral. Moore estableció que un tamaño mayor a 2 cms. no es un factor adecuado sobre el cual basar el pronóstico, puesto que es una característica de predicción inestable en la conducta del tumor (Moore y cols., 1986). Por el contrario, Spiro en el mismo año encontró un 12% de afectación de nódulos linfáticos locoregionales en tumores menores a 2 cm., en comparación con un 47% cuando el tamaño era igual o superior a los 2 cm. (Spiro y cols., 1986). Kurokawa y cols. reportaron una diferencia similar cuando el tumor era menor (2,9%) o mayor o igual (37,5%) a 4 cm. (Kurokawa y cols., 2002). Con esto último, no es incorrecto pensar que a medida que el tamaño del tumor aumenta, las posibilidades de que se produzcan metástasis regionales también se elevan.

Por otro lado, y al igual que con las metástasis regionales, el aumento del volumen de la masa tumoral aumentará el posible compromiso de las estructuras vecinas al cáncer. Se ha observado que esto empeora el pronóstico: la sobrevida a los 5 años con un tumor T1 alcanza un 66,2%, con un tumor T2 un 57,9%, con T3 un 43% y con un tumor T4 en donde existe amplio compromiso de las estructuras adyacentes, la sobrevida baja drásticamente a un 22,2% (Wen-Liang y cols., 2003).

#### *B. Compromiso de Nódulos Linfáticos*

Se ha determinado que uno de los factores más importantes en el pronóstico del CECCC es la condición de los linfonodos regionales al momento del diagnóstico (Tytor y Olofsson, 1992; Woolgar y cols., 1995; Prince y Bailey, 1999; citado en Hayashi y cols., 2003). En los casos donde existen nódulos positivos, la tasa de curación de la enfermedad decrece aproximadamente a la mitad (Jones, 1994; Wen-Liang y cols., 2003; Balkissoon y cols., 2004; Kurokawa y cols., 2005). Cuando existe una condición N0, la sobrevida a los 5 años alcanza un porcentaje de 65,8%, con N1 un 38%, N2 un 40% y con N3 la supervivencia baja hasta un 20% (Wen-Liang y cols., 2003).

En relación a la cantidad de nódulos linfáticos involucrados, Shingaki y cols. (2003) encontraron que existía una sobrevida del 81% cuando sólo se encontraba un único nódulo comprometido, decreciendo a un 58% cuando estos eran múltiples. Del mismo modo, la

existencia de nódulos bilaterales comprometidos al momento del diagnóstico son indicativos de un mal pronóstico.

La extensión extracapsular de nódulos linfáticos también empeora el pronóstico de los pacientes, disminuyendo su supervivencia (Woolgar y cols., 1995; Woolgar y cols., 1998; Shingaki y cols., 2003; Woolgar y cols., 2003). Esta decrece desde un 80% en ausencia de extensión extracapsular, hasta un 50% cuando existe evidencia de ella (Shingaki y cols., 2003).

El problema con el compromiso de los nódulos linfáticos, es que hasta el día de hoy no existe una técnica certera para determinar la presencia de metástasis en ellos. El examen clínico junto a diversas técnicas imagenológicas como la tomografía computarizada, resonancia magnética y tomografía de emisión de positrones son incapaces de identificar micrometástasis en cuellos clínicamente negativos. De hecho, la mejor alternativa para precisar la condición de un cuello clínicamente negativo, es la cirugía de disección electiva de las cadenas nodulares del cuello, para luego realizar una examinación microscópica de ellas. En aproximadamente un 20% a 34% de aquellos pacientes sin compromiso nodular clínico se encuentran micrometástasis, por lo que un 66% a 80% estaría recibiendo una cirugía innecesaria (Balkissoon y cols., 2004). La investigación se concentra en buscar métodos que permitan determinar cuando se presentan estas micrometástasis.

### *C. Metástasis a Distancia*

La presencia de metástasis a distancia es determinante en las posibilidades de tratamiento de los pacientes y en sus expectativas de vida. El pronóstico es devastador cuando la condición es positiva ya que existe casi un 100% de posibilidades de morir dentro de los 5 años siguientes al diagnóstico (Wen-Liang y cols., 2003).

El lugar de presentación más común para las metástasis es el pulmón (cerca de un 80% de los casos), y luego le siguen el hígado y los huesos.

Como puede observarse, la descripción clínica del tumor en base a la clasificación TNM es una herramienta indispensable en el diagnóstico y planificación del tratamiento del CECCC. Sin embargo, no debe ser utilizado como el único factor predictor del comportamiento tumoral, debido a que se ha demostrado que cerca de un 30% de los pacientes no responden adecuadamente al tratamiento que teóricamente debería funcionar según la clasificación TNM. El problema radica principalmente en la incapacidad de demostrar la existencia de micrometástasis en los linfonodos regionales (Mareel y Leroy, 2003), sin llegar a la disección cervical quirúrgica, y en la ausencia de marcadores pronósticos certeros que permitan explicar el comportamiento de cada tumor en el tiempo. Es por esta razón que la histopatología tumoral se transforma en uno de los pilares más accesibles en la toma de decisiones de los casos de CECCC, siendo desarrollados variados esquemas de clasificación y análisis de las muestras histológicas que se han relacionado en mayor o menor medida con el pronóstico de los pacientes.

## Histopatología del CECCC

El diagnóstico histopatológico es fundamental en el estudio de muchas enfermedades, particularmente en el caso de los tumores. Además del procedimiento diagnóstico rutinario que provee la histopatología, la examinación microscópica de las muestras permite conocer características biológicas indicativas del comportamiento del tumor (Ivkic y cols., 2002; Mareel y Leroy, 2003).

Se han desarrollado diferentes clasificaciones histológicas del carcinoma escamocelular, dando lugar al concepto de *graduación histológica*, que en otras palabras, corresponde a la expresión numérica de la diferenciación de la población celular cancerosa, la cual se relaciona con el pronóstico del paciente (Ivkic y cols., 2002).

Un sistema de clasificación o graduación, normalmente entrega una única etiqueta o categoría al tejido observado, la cual puede ser alfabética o numérica. Si es valor numérico, debe reconocerse el significado del número respectivo. En la mayoría de los casos, el número es sólo una categoría ordinal más que un número real. Esto significa que la categoría permite asignar el caso a un grupo particular, el cual tiene una posición específica en relación a otros grupos, determinando el grado que posee dicho grupo según las características que se estén observando. Por otro lado, la mayoría de los sistemas de clasificación combinan la evaluación de varias características en un valor total que entrega el grado, en el caso de los tumores, de agresividad o invasividad histológica del cáncer (Ivkic y cols., 2002).

La graduación histológica, se ha utilizado durante muchos años en un intento por predecir el comportamiento clínico del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. El valor pronóstico, reportado por diversos estudios, varía desde ninguna a una alta significancia para diferentes clasificaciones (Bryne y cols., 1989).

## Evolución Histórica

El primero en establecer una clasificación o graduaje de los tumores, fue Broders, quien empezó a categorizar el cáncer de una manera cuantitativa, basándose en el grado de diferenciación del carcinoma, es decir, en el porcentaje del tejido neoplásico que presenta diferenciación incompleta (Tabla VII) (Ivkic y cols., 2002; Anneroth y cols., 1987). Este sistema de clasificación se ha utilizado por muchos años, e incluso en la actualidad, en los casos de CECCC, con algunas modificaciones; sin embargo, continúan existiendo problemas de confiabilidad, ya que existe muy poca correlación entre este sistema de clasificación y el pronóstico de la enfermedad, lo cual se explica por que el carcinoma está compuesto por una heterogénea población celular, con diferente capacidad de invasión y metástasis entre una subpoblación y otra (Anneroth y cols., 1987; Bryne y cols., 1989; Kurokawa y cols., 2005)

<i>Clasificación de Broders</i>	
<i>CATEGORÍA</i>	<i>DEFINICIÓN</i>
<i>Bien Diferenciado</i>	Menos de 25% cél. indiferenciadas
<i>Moderadamente Diferenciado</i>	Menos de 50% cél. indiferenciadas
<i>Poco Diferenciado</i>	Menos de 75% cél. indiferenciadas
<i>Indiferenciado</i>	Más de 75% cél. indiferenciadas

**Tabla VII. Clasificación Histopatológica de Broders** (tomado de Anneroth y cols., 1987).

Con posterioridad a la clasificación propuesta por Broders, otros autores desarrollaron nuevos sistemas, pero sin conseguir una total aceptación. Es así, como en un intento por mejorar el pobre valor pronóstico de la clasificación de Broders, Jacobsson y cols., en el año 1976, proponen un sistema de clasificación multifactorial, mucho más complejo, y basado en ocho características tumorales (cada una valorada con un puntaje de 1 a 4), concentrándose en las áreas menos diferenciadas del carcinoma (Tabla VIII) (Anneroth y cols., 1987; Bryne y cols., 1989; Jones, 1994). Este considera la relación existente entre las características histológicas de la neoplasia y el tejido normal que rodea a la misma, es decir, que no sólo incluía el análisis de la población celular del carcinoma en cuanto a parámetros morfológicos como estructura, tendencia a la queratinización, aberraciones nucleares y número de mitosis, sino que además incluía una evaluación de la relación “tumor/huésped”, según lo estimado por los parámetros modo y etapa de invasión, invasión vascular y el grado de infiltración linfoplasmocitaria (Anneroth y cols., 1987).

Varios estudios posteriores, comprobaron que este sistema de clasificación otorgaba una mejor visión del comportamiento del tumor, en comparación a la clasificación de Broders, a pesar de lo cual, aún no se obtenía una correlación adecuada con el pronóstico de los pacientes (Anneroth y cols., 1987; Jones, 1994; Odell y cols., 1994). Por otro lado, el sistema propuesto por Jacobsson era muy complejo en la práctica, por lo que otros autores desarrollaron nuevos métodos de clasificación, basados en modificaciones de este sistema, obteniendo un éxito parcial en cuanto a su valor pronóstico (Anneroth y cols., 1987; Odell y cols., 1994).

Unificando muchas de las clasificaciones publicadas hasta el momento, Anneroth y cols., en 1987, proponen un nuevo sistema de clasificación, basado en tres características morfológicas de las células tumorales, junto a tres características histológicas que definen la relación entre las células tumorales y el tejido conectivo que las rodea. Estas 6 variables son: grado de queratinización, polimorfismo nuclear, número de mitosis, patrón de invasión, etapa de invasión e infiltración linfoplasmocitaria, las cuales, siguiendo el ejemplo de la clasificación de Jacobsson, se analizan en las áreas menos diferenciadas del tumor (Tabla IX) (Anneroth y cols., 1987; Bryne y cols., 1989; Odell y cols., 1994).

Sistema de Clasificación Multifactorial de Jacobsson y cols.				
Grado de Malignidad Histológica basada en la Población de Células Tumorales				
Población Células Tumorales	Puntaje 1	Puntaje 2	Puntaje 3	Puntaje 4
Estructura	Papilar y Sólida	Cordones	Pequeños cordones y grupos de células	Marcada disociación celular
Diferenciación	Alta; Queratinizado	Moderada; Algo de queratina	Pobre; Mínima queratinización	Pobre; No queratinizado
Polimorfismo Nuclear	Pocos núcleos anormales	Moderados núcleos anormales	Numerosos núcleos irregulares	Núcleos anaplásicos e irregulares
Mitosis	Única	Número Moderado	Gran Cantidad	Numerosas
Grado de Malignidad Histológica basada en la Relación Tumor-Huésped				
Relación Tumor-Huésped	Puntaje 1	Puntaje 2	Puntaje 3	Puntaje 4
Modo de Invasión	Bordes bien definidos	Cordones, bordes menos marcados	Grupos de células sin delimitación	Crecimiento Difuso
Etapas de Invasión	Posible	Microcarcinoma (pocos cordones)	Nodular en el tejido conectivo	Masivo
Invasión Vascular	Ninguna	Posible	Poca	Numerosa
Respuesta Celular (Infiltración Linfo-Plasmocitaria)	Marcada	Moderada	Leve	Ninguna

**Tabla VIII. Sistema de Clasificación Histopatológica de Jacobsson y cols.**  
(tomado de Anneroth y cols., 1987).

Sistema de Clasificación Multifactorial de Anneroth y cols.				
Grado de Malignidad Histológica de la Población de Células Tumorales				
Parámetro Morfológico	Puntaje 1	Puntaje 2	Puntaje 3	Puntaje 4
Grado de Queratinización	Altamente queratinizado (>50% de células)	Moderadamente queratinizado (20-50% de células)	Mínima queratinización (5-20% de células)	No queratinizado (0-5% de células)
Polimorfismo Nuclear	Poco Polimorfismo Nuclear (>75% céls. maduras)	Moderadamente Abundante (50-75%)	Abundante Polimorfismo (20-50%)	Extremo Polimorfismo (0-25%)
Número de Mitosis (Alto Poder)	0 - 1	2 - 3	4 - 5	Más de 5
Grado de Malignidad Histológica de la Relación Tumor-Huésped				
Parámetro Morfológico	Puntaje 1	Puntaje 2	Puntaje 3	Puntaje 4
Patrón de Invasión	Presionando, bordes infiltrativos bien delineados	Infiltrando en bandas y/o cordones sólidos	Pequeños grupos o cordones de céls. (n>15)	Marcada y amplia disociación de céls. (n<15)
Etapas de Invasión (Profundidad)	Carcinoma in situ y/o invasión cuestionable	Invasivo, pero sólo involucra lámina propia	Invasión bajo lámina propia adyacente a músculos, glándulas salivales y periostio	Invasión profunda y extensa, reemplazando tejidos e infiltrando tejido óseo
Infiltración Linfoplasmocitaria	Marcada	Moderada	Leve	Ninguna

**Tabla IX. Sistema de Clasificación Histopatológica de Anneroth y cols.**  
(tomado de Anneroth y cols., 1987).

El sistema propuesto por Anneroth ha demostrado tener un buen valor pronóstico, siendo validado en estudios de CECCC, probando también una adecuada capacidad de reproducción entre observadores independientes (Odell y cols., 1994; Kurokawa y cols., 2005).

A pesar de poseer un buen valor pronóstico, el sistema de Anneroth sigue siendo un sistema de clasificación complejo, debido a sus múltiples variables y a que debe observarse la muestra en su totalidad, para evaluar las características morfológicas de las células tumorales más indiferenciadas, además de considerar la forma en que la neoplasia invade los tejidos circundantes. Es por esta razón que desde hace algunos años, los investigadores han concentrado la observación del examen histológico en las partes menos diferenciadas del tumor, áreas que corresponden al *frente de invasión tumoral*, en donde presumiblemente se encuentran las células más agresivas y que confieren la capacidad de invasión al tumor (Bryne y cols., 1989; Sawair y cols., 2003). Mediante su estudio, se pudo reconocer que la morfología de las partes más invasivas del carcinoma, era diferente de las áreas central y superficial, mostrando frecuentemente un menor grado de diferenciación y una mayor disociación celular (Ivkic y cols., 2002).

La aplicación del sistema de clasificación de Anneroth a las partes menos diferenciadas del tumor, ha mostrado un mejorado valor pronóstico (Odell y cols., 1994). Sin embargo, y al igual que el método de Jacobsson, continúa siendo un examen demasiado exhaustivo y en el cual algunas características son difíciles de definir. Con el objetivo de solucionar estos inconvenientes, Bryne y cols. (1989) proponen un sistema de clasificación tumoral nuevo, basado en la clasificación de Anneroth. Este sistema se concentra únicamente en el frente de invasión tumoral, por lo que la evaluación de una muestra toma menos tiempo, en comparación a los métodos propuestos por Jacobsson y Anneroth, debido a que es posible descartar grandes áreas de la muestra en observación. En este sistema, se evalúan cinco características histológicas de las células neoplásicas en el frente de invasión: grado de queratinización, polimorfismo nuclear, número de mitosis, patrón de invasión y respuesta del individuo (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1992; Sawair y cols., 2003; Kurokawa y cols., 2005) (Tabla X)

Sistema de Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne y cols.				
Parámetro Morfológico	Puntaje			
	1	2	3	4
Grado de Queratinización	Altamente queratinizado (>50% de células)	Moderadamente queratinizado (20-50% de células)	Mínima queratinización (5-20% de células)	No queratinizado (0-5% de células)
Polimorfismo Nuclear	Poco Polimorfismo Nuclear (>75% céls. maduras)	Moderadamente Abundante (50-75%)	Abundante Polimorfismo (20-50%)	Extremo Polimorfismo (0-25%)
Número de Mitosis (Campos de Alto Poder)	0 - 1	2 - 3	4 - 5	Más de 5
Patrón de Invasión	Presionando, bordes infiltrativos bien delineados	Infiltrando en bandas y/o cordones sólidos	Pequeños grupos o cordones de céls. infiltrativos (n>15)	Marcada y amplia disociación en pequeños grupos y/o células aisladas (n<15)
Respuesta del Huésped	Marcada	Moderada	Leve	Ninguna

**Tabla X. Sistema de Clasificación Histopatológica de Bryne y cols.**  
(tomado de Bryne y cols., 1989).

Hasta el día de hoy, el sistema de clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne ha demostrado tener la mejor correlación con la sobrevida de los pacientes, no obstante no llega a ser la óptima. Por esto, se continúan realizando modificaciones sobre este sistema, para obtener mejores resultados en cuanto a pronóstico y reproducibilidad. Dentro de ellas, la omisión del recuento mitótico, debido a la dificultad para estandarizar la observación, ha sido uno de los últimos cambios realizados a la clasificación, mejorando la reproducibilidad sin comprometer el valor pronóstico (Odell y cols., 1994; Bryne y cols., 1998; Kurokawa y cols., 2005).

## Clasificación Internacional de Tumores

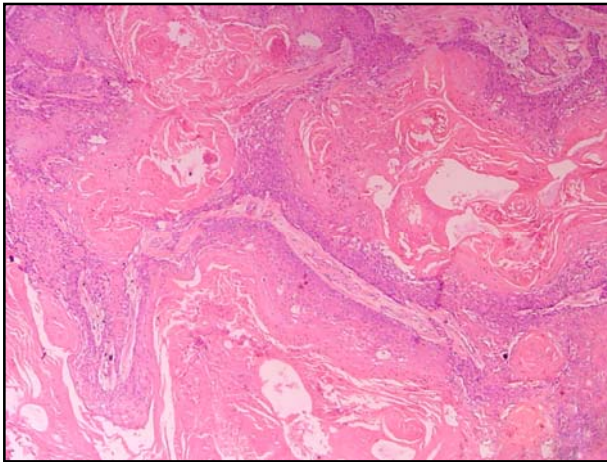
En la mayoría de los tumores malignos, la relación entre el comportamiento biológico y el grado de diferenciación, es conocida por más de un siglo (Ivkic y cols., 2002). Se reconoce que el potencial de invasión de un tumor, esta relacionado en alguna medida con la apariencia histológica que presenta la población de células neoplásicas. Broders propuso entonces un sistema de clasificación, en el que los tumores eran agrupados en cuatro categorías de acuerdo a su grado de diferenciación, desde el más al menos diferenciado.

Posteriormente, y debido a algunas dificultades para determinar si un tumor pertenecía a una categoría determinada, se pensó en eliminar la categoría de pobre diferenciación, para así trabajar con un sistema más simple de sólo tres grados. De esta forma, la Organización Mundial de la Salud en 1997 propone la clasificación de los CECCC en sólo tres categorías: bien diferenciados, moderadamente diferenciados e indiferenciados (Tabla XI).

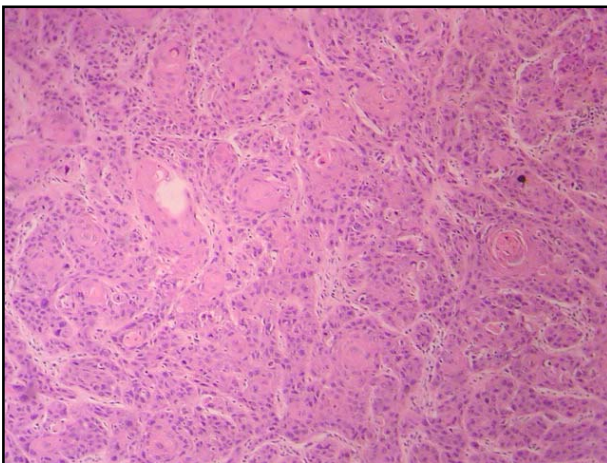
Clasificación Internacional de Tumores de la OMS	
CATEGORÍA	
	Grado I o Bien Diferenciado
	Grado II o Moderadamente Diferenciado
	Grado III o Indiferenciado

**Tabla XI. Clasificación Histopatológica de Tumores de la OMS** (tomado de Sapp y cols., 1998).

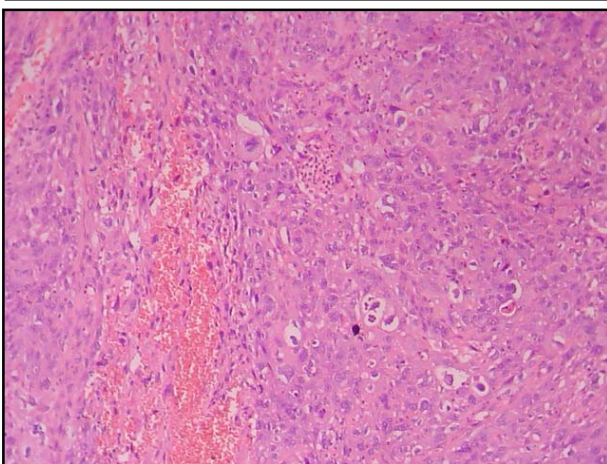
Aquellos tumores que producen una cantidad importante de queratina, ya sea en forma de queratinización individual o perlas de queratina, y que presentan cierto grado de maduración de sus células basales a queratina, se consideran bien diferenciados. Los tumores que producen una cantidad escasa o nula de queratina, pero en los cuales el epitelio aún es reconocible como epitelio plano estratificado, a pesar de su evidente anormalidad, se consideran moderadamente diferenciados. Por último, aquellos que presentan una ausencia absoluta de queratina, con células muy anaplásicas con una falta de estructura y cohesión celular que asemejen al tejido epitelial, deben ser clasificados como indiferenciados (Figuras 2 a 4) (Sapp y cols., 1998).



**Figura 2. Tumor Bien Diferenciado**, según la Clasificación de la OMS. Nótese la abundante cantidad de queratina de la muestra y la homogénea morfología de las células neoplásicas. (Tinción H-E, 10x)



**Figura 3. Tumor Moderadamente Diferenciado**, según la Clasificación de la OMS. Es posible observar la disminución de la cantidad de queratina y un aumento del polimorfismo nuclear, aunque manteniendo cierta semejanza al epitelio de origen. (Tinción H-E, 10x)



**Figura 4. Tumor Indiferenciado**, según la Clasificación de la OMS. En este caso es evidente la transformación anaplásica de las células, con pérdida de estructura y ausencia casi total de queratina en la muestra. (Tinción H-E, 10x)

La metodología de observación de esta clasificación es un tanto extenuante, debido a que debe observarse la muestra en su totalidad bajo el microscopio para determinar su grado de diferenciación. Por otro lado, es indudable que es una clasificación sencilla de aplicar y reproducible entre observadores, pero su debilidad radica, en que, según un gran volumen de estudios, no presenta una relación apropiada con el pronóstico y el comportamiento del tumor (Kurokawa y cols., 2005).

Clínicos y patólogos que prefieren esta sencilla clasificación, podrían argumentar que no tiene sentido definir más categorías que las opciones de tratamiento de los pacientes. Sin embargo, dentro de aquel argumento, se esconde un problema importante, debido a que si se observa que la respuesta a un mismo tratamiento es variable dentro de un mismo factor, como en este caso la diferenciación, deberían definirse tantos grados de diferenciación posibles en orden a determinar la relación precisa entre la clasificación y el pronóstico (Ivkic y cols., 2002)

A pesar de que esta clasificación se sigue utilizando hasta el día de hoy, como una referencia al momento de definir el diagnóstico y pronóstico del paciente, es innegable que su falta de correlación con el pronóstico le resta relevancia frente a la clasificación TNM. Es por esta razón que se han realizados esfuerzos por desarrollar un método de análisis que se relacione de mejor forma con la sobrevida, esfuerzos que derivan en el estudio y graduación del frente de invasión tumoral.

## **Frente de Invasión Tumoral**

En las últimas tres décadas, la atención del análisis histológico se ha concentrado en las características estructurales y funcionales de las partes más avanzadas del carcinoma, el *frente de invasión tumoral*, el cual determina teóricamente la agresividad biológica del tumor (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1998; Ivkic y cols., 2002). Esto explicaría la conducta clínica de los carcinomas (en donde pacientes con neoplasias de etapas similares tienen diferentes cursos clínicos), ya que, en esta área se evidencian alteraciones de los mecanismos que controlan la diferenciación celular, migración, renovación y muerte celular, así como también alteraciones de la interacción normal epitelio-mesénquima en la interfase tumor-hospedero (Bánkfalvi y Piffkò, 2000).

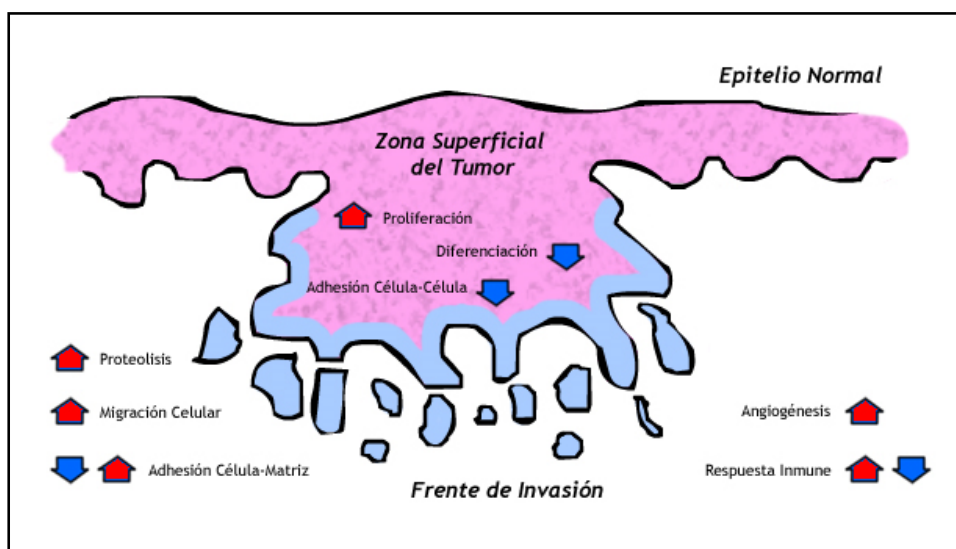
Como fue mencionado con anterioridad, actualmente ninguno de los factores pronósticos propuestos, solos o en combinación, predicen el comportamiento biológico de un tumor individual, debido a la heterogeneidad de variables clínicas y biológicas que modifican el curso del CECCC. Dentro de este contexto, se ha observado que los carcinomas están compuestos por diversas poblaciones celulares que son heterogéneas para una gran cantidad de características (Bryne y cols., 1989; Ivkic y cols., 2002; Kurokawa y cols., 2005). De este grupo, algunas células neoplásicas dentro de la masa tumoral tienen la habilidad de metastatizar, probablemente las menos diferenciadas, por lo que se espera que cambios en las subpoblaciones de células metastáticas determinen una de las características biológicas más importantes del cáncer, la capacidad de invadir tejidos y generar metástasis. Sin embargo, no ha sido posible identificar con precisión la presencia de esta subpoblación de células metastáticas (Bryne y cols., 1989), a pesar de lo cual, se sugiere que en el frente de invasión se ubican estas células, de comportamiento más

agresivo y con la habilidad de invadir estructuras tisulares circundantes, incluyendo vasos y dando lugar a posteriores metástasis regionales y a distancia (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1998; Bãnkfalvi y Piffkò, 2000; Ivkic y cols., 2002).

Todo esto explicaría porque las características del frente de invasión tienen mayor significancia pronóstica, no sólo en carcinomas escamocelulares de cabeza y cuello, sino también de otros sitios anatómicos (Bryne y cols., 1998; Bãnkfalvi y Piffkò, 2000; Kurokawa y cols., 2005).

Con el desarrollo de nuevas técnicas de análisis de las muestras, se ha puesto de manifiesto la importancia de las características tumorales en el frente de invasión.

Además de los eventos moleculares que se observan dentro y entre las células tumorales, distintas interacciones entre el hospedero y el tumor son consideradas cruciales para la propagación de la enfermedad (Bryne y cols., 1998; Bãnkfalvi y Piffkò, 2000; Mareel y Leroy, 2003) (Figura 5). La producción de diferentes enzimas proteolíticas y la expresión de sus receptores son necesarios para la invasión celular y diseminación a través de los tejidos del huésped (Kawasaki y cols., 2002), los que son activados por células estromales adyacentes y/o por células que se introducen dentro del tumor. Los estudios demuestran que éstas moléculas están sobreexpresadas en el frente de invasión, en comparación con otras áreas del tumor (Bryne y cols., 1998).



**Figura 5. Eventos Celulares en la zona del Frente de Invasión.** Representación esquemática de varios de los eventos más importantes que ocurren en el frente de invasión tumoral (zona de color celeste) (tomado de Bryne y cols., 1998).

Varios procesos de adhesión célula-matriz y de pérdida de adhesión célula-célula se consideran requisito para la progresión del tumor. Diversos estudios han demostrado cambios en la biosíntesis de moléculas de adhesión como caderinas, integrinas, CD44, lamininas, y oligosacáridos en el frente invasivo. También se ha observado pérdida de expresión del grupo sanguíneo antígeno H (un oligosacárido de superficie) específicamente en el frente de invasión, en un grupo importante de casos de carcinoma oral de células escamosas, lo cual ha sido asociado a un pobre pronóstico. Por otro lado, cuando el antígeno H fue registrado en el interior de la masa tumoral, no se obtuvo significancia pronóstica (Bryne y cols., 1990; Bryne y cols., 1998; Bãnkfalvi y Piffkò, 2000).

También ha sido observado que el recuento de AgNOR (proteínas asociadas a las regiones organizadoras nucleolares) en el núcleo de las células tumorales, los cuales se sabe que reflejan la actividad metabólica de la célula, es significativamente mayor en el frente de invasión, comparado con partes centrales de casos de carcinoma escamocelulares de cavidad oral, demostrando también una alta correlación con el pronóstico (Piffkò y cols., 1997; Xie y cols., 1997; Bryne y cols., 1998; Bãnkfalvi y Piffkò, 2000).

Además se han observado signos moleculares de inicio de angiogénesis, crecimiento celular y migración en la zona de invasión (Bãnkfalvi y Piffkò, 2000). Por último, se ha reconocido que importantes interacciones entre las células tumorales y las células inmunes del hospedero, toman lugar en el frente de invasión. Suzuki y cols. demostraron que la expresión de moléculas de adhesión endotelial (E-selectina, P-selectina e ICAM-1), importantes para el paso de leucocitos hacia zonas de inflamación, es mayor en vasos cercanos al frente invasivo comparado con vasos dentro del tumor (Suzuki y cols., 1995; citado en Bryne y cols., 1998).

## **Clasificación de Bryne**

Debido a la creciente importancia adquirida por el frente de invasión, reflejo teórico de la capacidad invasiva del cáncer, y en un intento por mejorar la validez del análisis histopatológico, Bryne y colaboradores, en 1989, resumen y simplifican las características de la interfase tumor-hospedero, en un nuevo sistema histopatológico multifactorial para graduar la malignidad del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1998; Ivkic y cols., 2002). Los cambios morfológicos observados en el frente invasivo, probablemente representan la importancia de los eventos biológicos dentro de las células tumorales y el micro medio ambiente en el que se encuentra el carcinoma (Bryne y cols., 1998).

El sistema de graduación de Bryne surge como una modificación del sistema propuesto por Anneroth, concentrándose exclusivamente en las zonas más anaplásicas del frente invasivo tumoral (Bryne y cols., 1989). Básicamente, sigue los mismos criterios de clasificación que Anneroth, a excepción del parámetro morfológico de etapa de invasión, el cual fue excluido debido a la imposibilidad de registrar esta característica en las muestras que contienen una cantidad demasiado escasa de tejido. Es así como el análisis de la parte más invasiva del tumor estaba basado originalmente, en 5 parámetros histomorfológicos: grado de queratinización, polimorfismo nuclear, número de mitosis, patrón de invasión y respuesta inflamatoria (Bryne y cols., 1989; Ivkic y cols., 2002). Posteriormente, y a sugerencia de los mismos autores, debido a

la dificultad para establecer correctamente el recuento mitótico, esta variable fue omitida, mejorando así la reproducibilidad (Bryne y cols., 1992; Bryne y cols., 1998). A cada uno de estos parámetros se le asigna un valor de 1 a 4, en donde el valor 4 es el peor grado, para después sumar los cuatro valores en un puntaje total de malignidad para cada tumor. Un alto puntaje de malignidad sugiere un tumor pobremente diferenciado y de pronóstico desfavorable (Bryne y cols., 1989).

En la Tabla XII se pueden apreciar las características de cada parámetro morfológico y el valor asignado de la clasificación de Bryne actualmente utilizada:

Sistema de Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne y cols.				
Parámetro Morfológico	Puntaje			
	1	2	3	4
Grado de Queratinización	Altamente queratinizado (>50% de células)	Moderadamente queratinizado (20-50% de células)	Mínima queratinización (5-20% de células)	No queratinizado (0-5% de células)
Polimorfismo Nuclear	Poco Polimorfismo Nuclear (>75% céls. maduras)	Moderadamente Abundante (50-75%)	Abundante Polimorfismo (20-50%)	Extremo Polimorfismo (0-25%)
Patrón de Invasión	Presionando, bordes infiltrativos bien delineados	Infiltrando en bandas y/o cordones sólidos	Pequeños grupos o cordones de céls. infiltrativos (n>15)	Marcada y amplia disociación en pequeños grupos y/o células aisladas (n<15)
Respuesta del Huésped	Marcada	Moderada	Leve	Ninguna

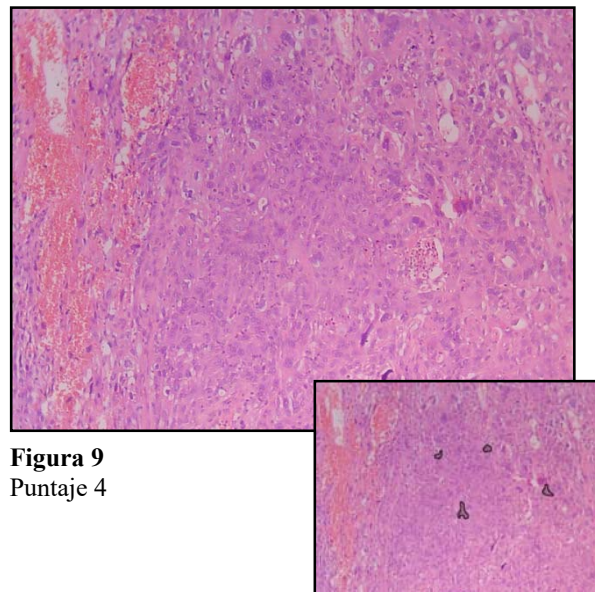
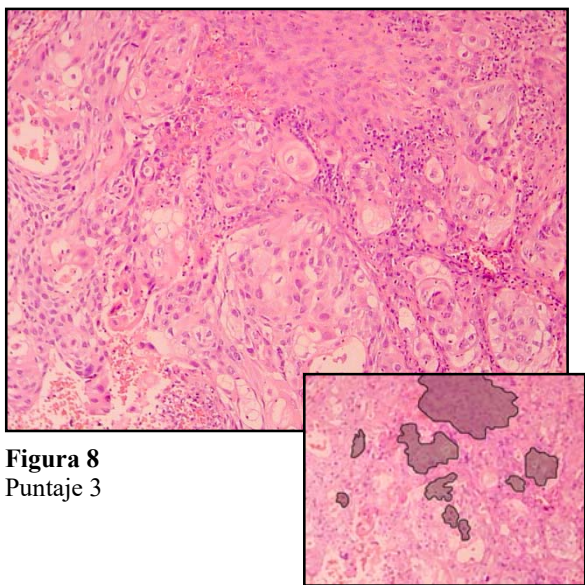
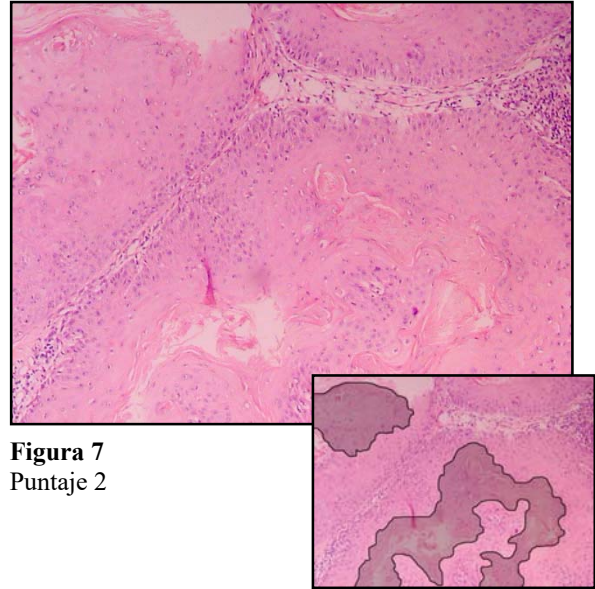
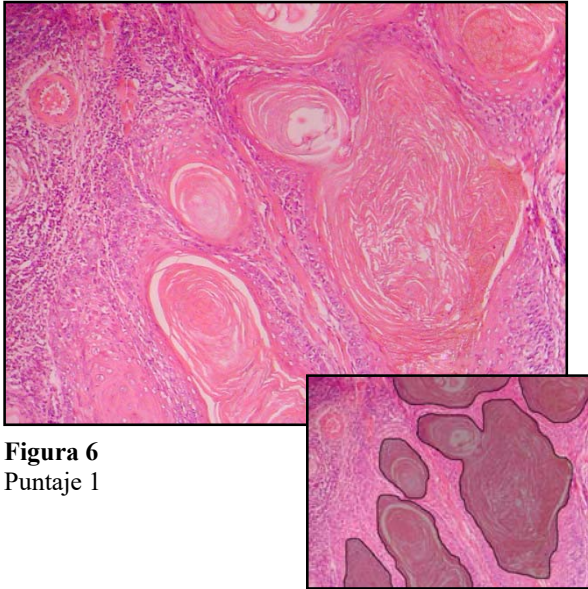
**Tabla XII. Sistema de Clasificación Histopatológica de Bryne y cols.,** excluyendo el recuento mitótico del análisis. (tomado de Bryne y cols., 1998).

En el *grado de queratinización*, se debe observar la presencia de queratina, tanto en forma de queratinización individual de las células neoplásicas o conformando perlas de queratina (Figuras 6 a 9).

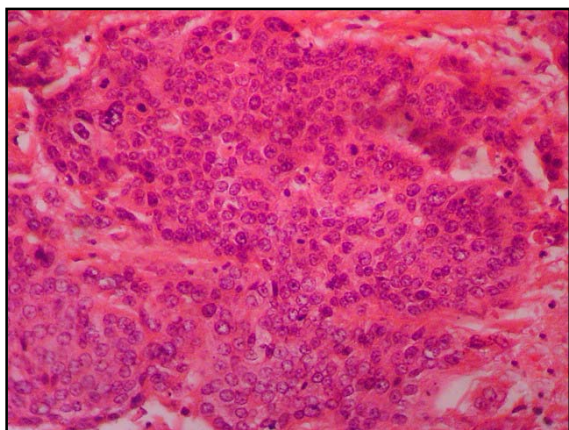
El *polimorfismo nuclear* incluye variaciones en el número, tamaño y forma de los núcleos inmaduros de las células neoplásicas, aumento de la proporción núcleo-citoplasma y la presencia de multinucleación e hiper cromatismo (Figuras 10 a 13).

El *patrón de invasión*, permite expresar las características infiltrativas del tumor en el conjunto, en cuanto a su morfología. Se describe desde un patrón de invasión bien delimitado con células cohesionadas, hasta un patrón de franca disociación celular (Figuras 14 a 17).

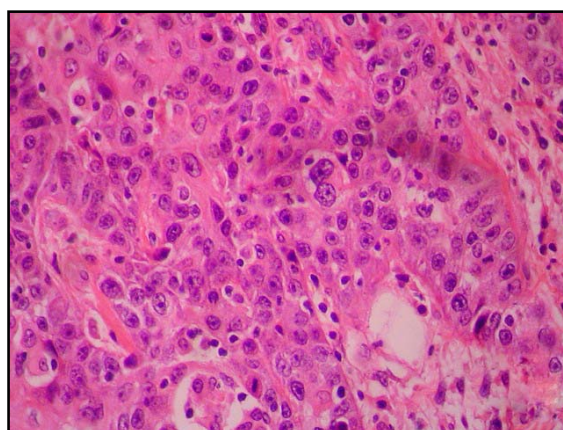
El parámetro *respuesta inflamatoria*, refleja la reacción inmunológica del individuo contra la neoplasia. No obstante, el infiltrado inflamatorio podría corresponder a una expresión morfológica de una reacción inflamatoria producida en la mayoría de los casos por ulceración de la superficie del tumor. Muchos casos de neoplasias de estadios tempranos sin ulceración, no presentan dificultad en la evaluación de esta variable, pero en casos más avanzados con ulceración extensa, la dificultad es obvia. En estos casos, la valoración de este parámetro debería ser realizada lo más lejos posible de la zona ulcerada (Anneroth y cols., 1987) (Figuras 18 a 21).



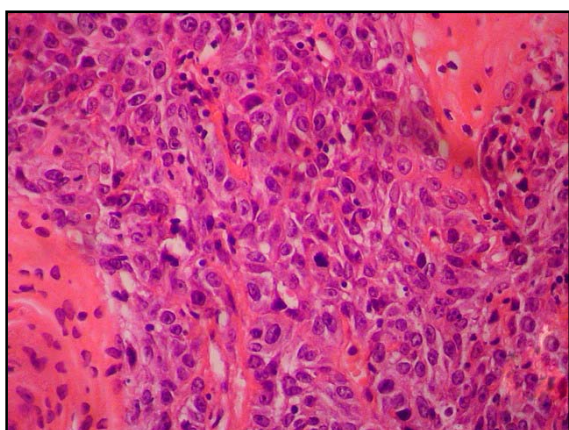
**Figuras 6 a 9. Grado de Queratinización de la Clasificación de Bryne.** Nótese la disminución paulatina de la cantidad de queratina (tanto en forma de perlas como de queratinización individual) presente en las muestras (Tinción H-E, 10x).



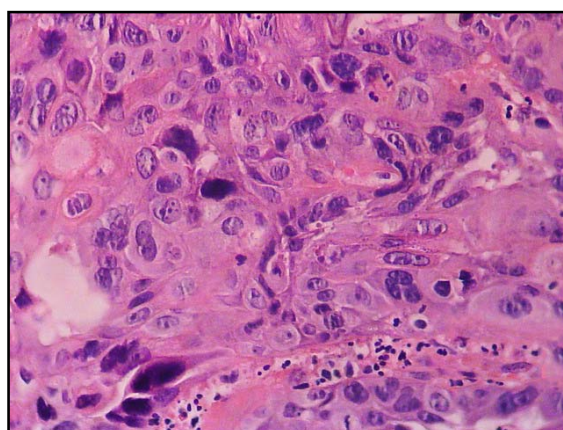
**Figura 10**  
Puntaje 1



**Figura 11**  
Puntaje 2



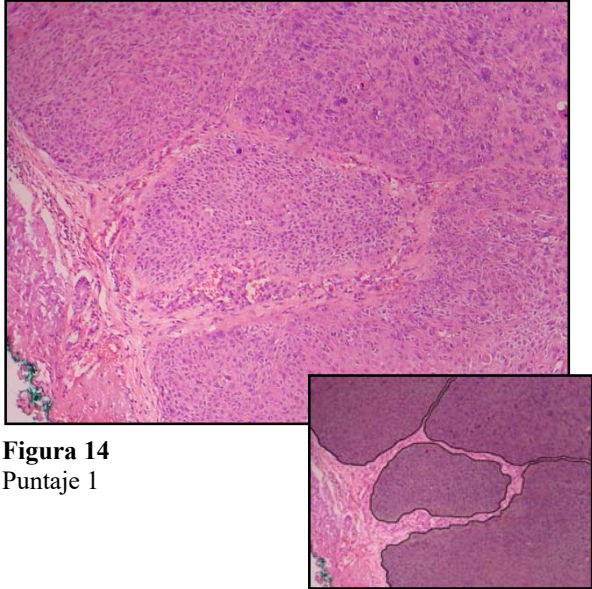
**Figura 12**  
Puntaje 3.



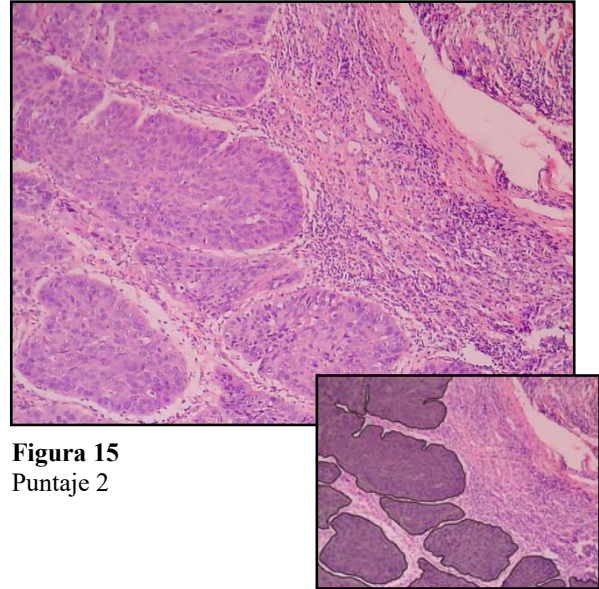
**Figura 13**  
Puntaje 4

---

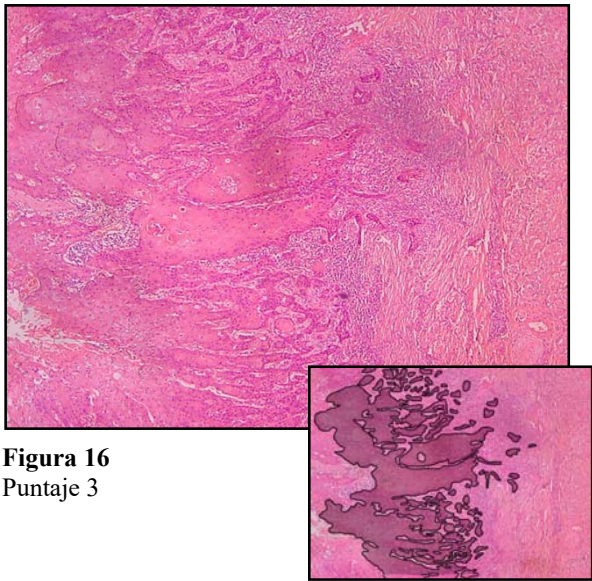
**Figuras 10 a 13. Polimorfismo Nuclear de la Clasificación de Bryne.** En esta secuencia de imágenes histopatológicas, es posible observar el aumento progresivo del polimorfismo nuclear, desde un puntaje 1 hasta el puntaje 4. (Tinción H-E, 10x).



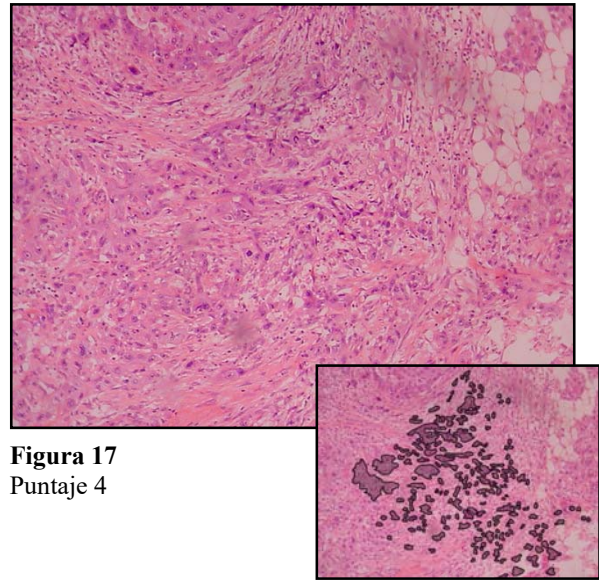
**Figura 14**  
Puntaje 1



**Figura 15**  
Puntaje 2

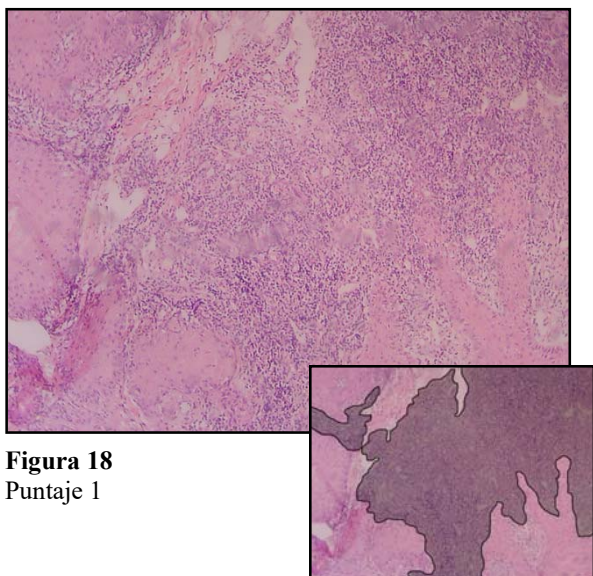


**Figura 16**  
Puntaje 3

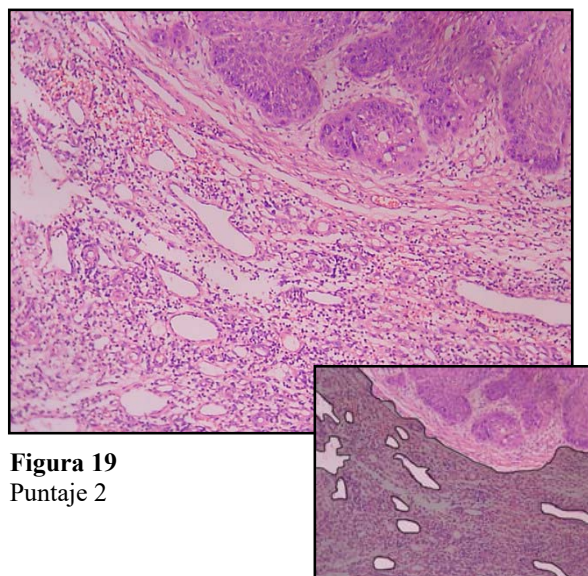


**Figura 17**  
Puntaje 4

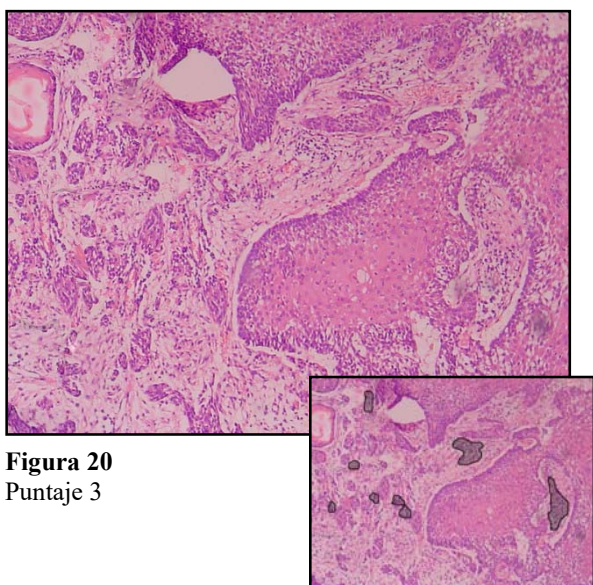
**Figuras 14 a 17. Patrón de Invasión de la Clasificación de Bryne.** Nótese el cambio de morfología en cuanto a la forma de invadir el conjuntivo, desde un tumor bien definido en sus límites (puntaje 1) hasta una disociación celular evidente (puntaje 4) (Tinción H-E, 10x).



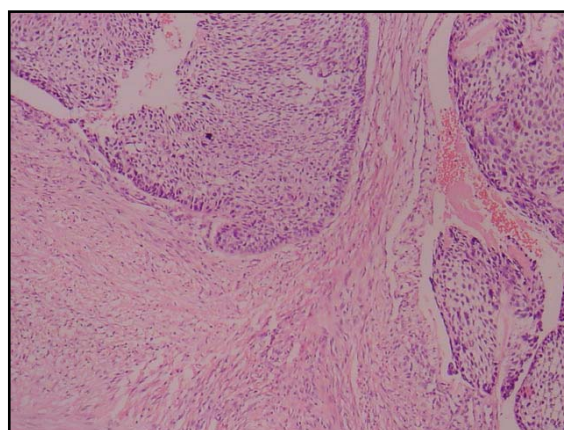
**Figura 18**  
Puntaje 1



**Figura 19**  
Puntaje 2



**Figura 20**  
Puntaje 3



**Figura 21**  
Puntaje 4

**Figuras 18 a 21. Respuesta del Huésped de la Clasificación de Bryne.** En esta secuencia es posible evidenciar la disminución progresiva de la respuesta linfoplasmocitaria en la zona del frente de invasión (Tinción H-E, 10x).

Muchos estudios concuerdan en establecer que esta clasificación, y cada uno de sus parámetros en mayor o menor medida, tienen una relación significativa con la supervivencia de los pacientes comprometidos por CECCC (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1992; Odell y cols., 1994; Bryne y cols., 1995; Sawair y cols., 2003; Kurokawa y cols., 2005). El valor pronóstico del grado del frente invasivo de Bryne, ha sido comparado con el sistema de Broders o similares sistemas de graduación, y se concluyó que este es superior a la tradicional valoración histopatológica en la mayoría de los casos (Bryne y cols., 1989; Sawair y cols., 2003). Este sistema también muestra tener una aceptable reproducibilidad después de la calibración, por lo que puede ser utilizado en la planificación del tratamiento del paciente (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1991c; Bryne y cols., 1998; Sawair y cols., 2003).

### ***Reproducibilidad***

Los sistemas de clasificación y graduación histomorfológicos usados en patología, deben ser idealmente de significancia biológica y al menos ser reproducibles de un observador a otro (Svanholm y cols., 1989). Sin embargo, el mayor problema con las clasificaciones basadas en características histológicas, es la frecuente pérdida de la concordancia entre observadores, lo cual limita el valor clínico de las clasificaciones histológicas debido a su inherente subjetividad (Bryne y cols., 1991c; Karabulut y cols., 1995).

La reproducibilidad se define como la concordancia entre observaciones repetidas de una misma muestra, en el caso del análisis histopatológico. La estadística kappa sirve para evaluar reproducibilidad para diversos observadores usando categorías nominales u ordinales. El valor de kappa indica cuanto mejor están los observadores comparados con el azar, y entrega el valor real de la concordancia encontrada. (Svanholm y cols., 1989; Bryne y cols., 1991c).

La concordancia debe ser calculada tanto intraobservador como interobservador, calculando asociaciones entre diferentes categorías y diferentes observadores. La concordancia interobservador es la igualdad que obtienen dos o más observadores examinando el mismo objetivo, mientras que concordancia intraobservador es la igualdad obtenida cuando el mismo observador examina las muestras en dos o más ocasiones. En ambos casos, para obtener la reproducibilidad, debe sustraerse la concordancia que se debe al azar (Svanholm y cols., 1989).

El grado de concordancia es afectado por muchos factores, tanto de la técnica de análisis, como del conocimiento y entrenamiento de los observadores, por lo que deben controlarse la mayor cantidad de estas variables para obtener un resultado significativo (Svanholm y cols., 1989).

Al analizar la estadística kappa, se debe reconocer que cuando el valor es igual a 1 la concordancia es absoluta, mientras que cuando es 0, la concordancia puede ser explicada solamente por azar (Svanholm y cols., 1989; Bryne y cols., 1991c); si el valor obtenido es menor a 0, se habla de que la concordancia observada es menor que la esperada por azar (Svanholm y cols., 1989). Valores de kappa de 0.40 – 0.75 pueden ser tomados como representantes adecuados de buena concordancia (De Vet y cols., 1995). Altman (Altman, D.G., citado en Sawair y cols.,

2003) recomienda la siguiente categorización para los valores de kappa: un valor de k menor de 0,20 es igual a una *mala coincidencia*, un k entre 0,21 y 0,40 es tomado como *poca coincidencia*, un k entre 0,41 y 0,60 como *moderada coincidencia*, un k entre 0,61 y 0,80 como una *buena coincidencia*, y un k mayor a 0,81 como una *muy buena coincidencia*.

El primer objetivo de estudios de reproducibilidad es evaluar el criterio diagnóstico, y ver si éstos están bien definidos. Si no se obtiene una buena reproducibilidad, esto quiere decir que se necesita definir mejor los criterios diagnósticos (Svanholm y cols., 1989).

En el análisis histopatológico, existen diversos problemas metodológicos al evaluar la reproducibilidad de los diagnósticos. Debe prestarse especial atención al número de patólogos que participan en el estudio, la variación en las muestras y los métodos de distribución de éstas, el número de placas por caso y el uso de diferentes guías de diagnóstico (Svanholm y cols., 1989).

La estadística kappa, provee a los investigadores de una buena medida de reproducibilidad de diferentes criterios de diagnóstico histopatológico, pertenecientes tanto a una escala nominal como ordinal (Svanholm y cols., 1989).

Dentro de las medidas para aumentar la reproducibilidad de las clasificaciones histopatológicas, y en este caso específico las del cáncer de cabeza y cuello, está el decrecer la complejidad en los sistemas de clasificación (Svanholm y cols., 1989). Bryne y cols. sugieren la simplificación y definición estricta de los criterios de graduación histomorfológicos en los casos de CECCC (Bryne y cols., 1991c).

Encontrar un consenso teórico y práctico entre patólogos sobre el método de graduación, parece útil para mejorar la concordancia entre observadores, sin embargo, el grado de mejora puede variar con la experiencia de los patólogos (De Vet y cols., 1995; Karabulut y cols., 1995). Generalmente, es aceptado que la concordancia en el diagnóstico aumente después de la calibración, lo que aumentaría el valor clínico del sistema de graduación (Bryne y cols., 1991c).

En el caso de la clasificación histopatológica de Bryne, se ha sugerido la omisión del recuento de mitosis del sistema original o la reordenación de las categorías, en dos grupos pronósticos (1 o 2 y 3 o 4) para así mejorar la reproducibilidad (Bryne y cols., 1998; Sawair y cols., 2003).

En base al conocimiento teórico y experimental acumulado durante varios años, respecto de la utilidad del análisis del frente de invasión tumoral, para establecer el comportamiento del cáncer de acuerdo al pronóstico, y particularmente el uso de la clasificación histopatológica, nuestro trabajo se basa en la hipótesis de que las características morfológicas de las células en las zonas más profundas de infiltración en el conjuntivo, valoradas a través de la clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne, se correlacionan con la supervivencia de los pacientes, es decir que a mayor puntaje en la clasificación de Bryne (de los valores individuales y del valor total) la supervivencia del paciente será menor.

## **OBJETIVOS**

### ***Objetivo General***

- Establecer la confiabilidad diagnóstica y el valor pronóstico de la clasificación histopatológica del Frente de Invasión Tumoral de Bryne, en pacientes con diagnóstico de Carcinoma Escamocelular de Cabeza y Cuello, tratados en el Hospital Carlos Van Buren entre los años 1995 y 2003.

### ***Objetivos Específicos***

- Comparar la confiabilidad diagnóstica, en relación a la reproducibilidad, de la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS y la clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne.
- Comparar y establecer la relación entre la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS y la Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne con el pronóstico de los pacientes, en relación a su sobrevida.
- Establecer asociaciones entre diferentes factores clinico-patológicos y la clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne.

## ***Materiales y Métodos***

### **1. Muestra**

Debido a que este trabajo surge como un estudio de tipo analítico retrospectivo, se revisaron los registros de biopsias disponibles del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Carlos Van Buren, entre los años 1995 y 2003, para seleccionar todos los casos con diagnóstico de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello atendidos en este hospital. Se obtuvo una muestra de 473 registros, de los cuales se registró el nombre del paciente, el número de la historia clínica y de las biopsias del caso. En esta instancia, si era posible reconocer la zona desde donde se obtuvo la biopsia, fueron excluidos los casos de carcinoma de esófago ( $n=14$ ) y los de piel cervico-facial ( $n=67$ ). El resto de los casos ( $n=392$ ) pasaron a la siguiente etapa de selección.

Con el número de la historia clínica y el nombre del paciente, se rescataron las fichas de cada uno de los casos desde la sección de Archivos del hospital. En esta ocasión se registraron los datos concernientes a: la fecha de ingreso del paciente al Servicio de Oncología, la edad al momento del diagnóstico, género, sitio de localización del tumor primario, clasificación clínica TNM, clasificación histopatológica internacional de tumores, historia de consumo de alcohol y tabaco, tratamiento primario realizado y fecha de defunción si se consignaba en la ficha. Del mismo modo, los criterios de exclusión utilizados en esta etapa fueron historias clínicas no disponibles ( $n=47$ ), historias clínicas con datos insuficientes ( $n=29$ ), casos de piel ( $n=44$ ), de esófago ( $n=1$ ) u otras localizaciones fuera de cabeza y cuello ( $n=2$ ), pacientes que rehusaron o abandonaron el tratamiento propuesto ( $n=6$ ) o aquellos en los cuales el comité oncológico decidió realizar sólo un tratamiento paliativo debido a la extensión y gravedad del cáncer ( $n=33$ ), casos con metástasis distantes al momento de diagnóstico ( $n=5$ ), pacientes que fallecieron antes de recibir tratamiento ( $n=3$ ), casos con primarios desconocidos ( $n=2$ ), casos con primarios múltiples ( $n=3$ ) y 2 casos de xeroderma pigmentosa. Con esto, se obtuvo una muestra más homogénea en cuanto a las historias clínicas de los pacientes ( $n=215$ ) y con la cuál se llevó a cabo la tercera y última etapa de selección de casos.

Con el número de biopsias obtenido anteriormente, se procedió a la búsqueda de los cortes histológicos de los casos aceptados luego de la revisión de las historias clínicas. En esta oportunidad, fueron excluidos los casos en los cuales no se pudieron recuperar las placas de biopsia ( $n=37$ ). Debido a que muchos casos contaban con una gran cantidad de cortes histológicos, se decidió que el observador más experimentado (B.V.), seleccionara el corte más representativo en donde pudiera observarse el frente de invasión tumoral para estos casos. También fueron excluidos los casos de carcinomas de variedades histológicas poco comunes (2 sarcomatoides, 1 verrucoso) y las placas que contenían una muestra muy pequeña para la observación o, en las que no se observaba el frente de invasión tumoral ( $n=21$ ). Por otro lado, se intentó disponer, en la mayoría de los casos, de las biopsias obtenidas luego de la cirugía excisional del tumor, debido a que teóricamente, según lo reportado por algunos autores, existiría cierta diferencia en las características histopatológicas entre las biopsias incisionales y aquellas obtenidas de la pieza quirúrgica. Es importante mencionar que fueron excluidas las placas de biopsia en los casos en que según la historia clínica del paciente se realizó RT/QT previo a la excisión quirúrgica del tumor, dado que este procedimiento modifica el curso biológico del

tumor, alterando la observación microscópica ( $n=7$ ). Cuando no fue posible recuperar la biopsia excisional, debido a que el corte no se encontraba disponible, o la biopsia excisional fue excluida porque el caso recibió RT previa a la cirugía o porque sencillamente el caso sólo contaba con la biopsia incisional, se decidió ingresar los casos con estas últimas siempre y cuando tuvieran una calidad suficiente para realizar el análisis histopatológico (corresponden a 67 casos del total de la muestra).

Para completar los datos necesarios y poder realizar los diferentes análisis estadísticos del estudio, se solicitó acceso al Registro Civil de la V Región, para conocer la condición actual de los pacientes que hasta el momento constituían la muestra en estudio ( $n=147$ ), es decir, si al día 31 de Julio del 2006, fecha en que concluyó la recolección de datos, permanecían vivos. Fueron eliminados algunos casos ( $n=3$ ) en los cuales se constataba que el fallecimiento del paciente se produjo por causas ajenas al cáncer.

Es así, como finalmente, se obtuvo una muestra de trabajo de 144 placas histopatológicas, correspondientes a las biopsias de 144 pacientes con diagnóstico de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello que formó la base para este estudio.

## 2. Análisis Histopatológico

La observación microscópica de las placas de biopsia, en cada uno de los casos de la muestra definitiva, se realizó aplicando tanto la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS como la clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne.

Previo al análisis de los cortes histológicos de la muestra, los cuatro observadores que participaron del estudio fueron sometidos a un período de calibración, tanto teórico como práctico, para aunar criterios en cuanto a las definiciones y metodología de observación de ambas clasificaciones utilizadas en el estudio. Las sesiones de calibración consistían en la observación grupal de biopsias, diferentes a las que formaron parte de la muestra de trabajo, en las que se discutía el diagnóstico del caso y la forma de clasificación, según la definición de los parámetros en cuestión, ya que tres de los cuatro observadores (C.C., C.F. y M.G.) no contaban con la experiencia suficiente para la observación histopatológica y por supuesto no estaban familiarizados con estas clasificaciones. Una segunda etapa de la calibración consistió en la evaluación independiente por estos tres observadores, de un nuevo grupo de biopsias (seleccionadas por el observador más experimentado), diferentes a las usadas en las sesiones de calibración previas y diferentes de la muestra de estudio, sobre las que se aplicaron ambas clasificaciones para después realizar sesiones en donde se discutían los criterios utilizados en el graduaje de las muestras. El observador con la mayor trayectoria en análisis histopatológico (B.V.), Magíster en Patología Oral, dirigió las reuniones de calibración y guió a los demás observadores según su propia experiencia en la aplicación de ambas clasificaciones.

El análisis propiamente tal, se llevó a cabo en dos partes. Primero se realizó la observación de las 144 placas por los cuatro participantes, de forma independiente, en un periodo de dos meses y según las facilidades para acceder a ellas que otorgó el Servicio de Anatomía Patológica. Las placas fueron observadas siguiendo una secuencia aleatoria, pero cada uno de los

participantes realizó el análisis en la misma secuencia. En esta oportunidad los observadores aplicaron la clasificación internacional de tumores y la clasificación de Bryne a cada una de las muestras, desconociendo las características clínicas y el resultado del caso (sobrevida). Con el registro de estos datos se realizó el análisis de reproducibilidad interobservador y posteriormente, según las condiciones que se explicarán más adelante, se confeccionaron las curvas de supervivencia y se realizó la asociación entre las variables clínico-histológicas.

Luego, y con un mes de diferencia, se realizó una selección aleatoria de 30 placas de la muestra original, sobre la que se realizó el análisis de reproducibilidad intraobservador. Cada participante volvió a aplicar ambas clasificaciones en estas placas de biopsia, igualmente de forma independiente, sin conocer el resultado del caso y sin conocer la graduación otorgada durante la primera observación.

En relación a los materiales y métodos de observación, las placas utilizadas en este estudio correspondían a cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina, las que fueron graduadas con el uso de dos microscopios ópticos (Ernst-Leitz Wetzlar, Alemania; Nikon Alphaphot-2, YS2-H). La metodología de análisis y los criterios de graduación para cada una de las clasificaciones se explica a continuación.

### 2.1 Clasificación Internacional de Tumores de la OMS

La clasificación histopatológica de la OMS (Edición 2005) corresponde a una modificación de la clasificación de Broders, reúne los casos de CECCC en tres grupos de acuerdo a la proporción de tejido neoplásico que aún conserva ciertas características de diferenciación, en relación al total de la muestra observada en la placa. Es así como los casos pueden ser considerados como *Bien diferenciados*, *Moderadamente diferenciados*, e *Indiferenciados*. Los dos parámetros más importantes a la hora de definir el grado de diferenciación del tumor son el nivel de queratinización y el polimorfismo celular que presenta la muestra.

Para realizar el análisis, la muestra debió ser recorrida en su totalidad para observar el grado de diferenciación de la población celular, considerando la presencia de perlas de queratina o queratinización celular individual y el nivel de polimorfismo celular, con los diferentes aumentos disponibles en el microscopio.

### 2.2 Clasificación del Frente de Invasión de Bryne

Para realizar el análisis del frente invasivo tumoral, debe dirigirse la observación a los márgenes de invasión más profundos que infiltran el tejido conjuntivo, lugar que corresponde a las últimas 3 a 6 capas celulares del frente de avance del tumor. En esta zona, se evalúan independientemente cuatro parámetros morfológicos de las células neoplásicas: *Grado de queratinización*, *Polimorfismo nuclear*, *Patrón de Invasión* y *Respuesta del Individuo* (grado de respuesta inflamatoria). El número de mitosis ha sido excluido del análisis según recomendación de los autores. La clasificación se realiza en base a la observación de un promedio de cuatro campos (rango de 2 a 6), con el aumento mayor del microscopio (100X de magnificación). A cada uno de estos parámetros se le otorga un valor de 1 a 4 de acuerdo a los criterios descritos por

Bryne y cols., mencionados anteriormente. El valor de cada parámetro se suma para entregar el valor total de malignidad del frente de invasión (VTFIT).

### 3. Análisis Estadístico

Todos los datos obtenidos en el estudio, tanto de la revisión de historias clínicas como de la observación de placas de biopsia, fueron ingresados y analizados mediante el programa SPSS para Windows, versión 14.0, de la compañía del mismo nombre.

Primero se realizó el análisis de reproducibilidad inter e intraobservador de ambas clasificaciones mediante el uso de la *Estadística Kappa (k)*. Para el caso del análisis interobservador, se utilizó el total de la muestra (n=144), mientras que para el análisis intraobservado, se utilizó una selección aleatoria de la muestra de sólo 30 casos. Esta herramienta se aplicó inicialmente a cada uno de los cuatro parámetros morfológicos de la clasificación. Luego, para mejorar el grado de concordancia en esta clasificación, cada variable original de cuatro categorías, así como el VTFIT, fueron reagrupados en una clasificación de sólo dos categorías, a las que se les otorgó una nueva etiqueta (valores 1 y 2 vs. 3 y 4) (Tabla XIII). Esta recategorización de los parámetros originales, también fue utilizada con las herramientas estadísticas que se mencionan a continuación.

Modificación del Sistema de Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne y cols.				
Categorías Originales	Puntaje			
	1	2	3	4
Recategorización	1		2	

**Tabla XIII.** Modificación de la Clasificación de Bryne, recategorizando los puntajes de cada parámetro.

La valoración de los resultados de la estadística kappa, se realizó según lo expresado por Altman (Altman, D.G., citado en Sawair y cols., 2003) quien considera las siguientes categorías: k menor de 0,20, *mala coincidencia*; k entre 0,21 y 0,40, *poca coincidencia*; k entre 0,41 y 0,60, *moderada coincidencia*; k entre 0,61 y 0,80, *buena coincidencia*; y k mayor a 0,81, *muy buena coincidencia*.

Debido a que el valor total de malignidad del FIT es una variable numérica continua, la correlación inter e intraobservador fue valorada utilizando el *Coficiente de Correlación de Rangos de Spearman (r<sub>s</sub>)*. No obstante, también se utilizó la estadística kappa como medida alternativa de correlación al convertir los valores continuos del VTFIT en variables categóricas utilizando la mediana de la muestra como punto de corte, determinando dos categorías para el análisis. La correlación general para ambas estadísticas se consiguió a través de un promedio

simple entre los diferentes valores obtenidos tras la comparación cada dos observadores. Para ambas herramientas estadísticas, se utilizó el total de casos de la muestra ( $n=144$ ).

Posteriormente, para realizar los siguientes análisis estadísticos, la muestra total fue dividida en diversos grupos de trabajo de acuerdo a la localización del tumor primario, según los criterios de la clasificación de la OMS para tumores malignos de cabeza y cuello (Edición 2005). Se conformaron dos grupos, el de Cavidad Oral/Orofaringe y el de Laringe/Hipofaringe, excluyéndose de estos análisis los casos de carcinomas de Nasofaringe y Senos Paranasales. De esta forma se pretende obtener una muestra de estudio más homogénea, según lo recomendado por diversos autores, lo que confiere mayor fuerza a los resultados estadísticos.

Para establecer posibles asociaciones entre diferentes factores clínico-patológicos y los componentes del sistema de clasificación de Bryne, se utilizó la *Prueba de Chi Cuadrada* ( $\chi^2$ ). Se utilizaron sólo los casos en los que el acuerdo fue total entre los cuatro observadores, tanto para la clasificación original, como para las variables recategorizadas. Alternativamente, también se obtuvieron los valores de la *Prueba Exacta de Fisher* (P), en caso de que la cantidad de casos con acuerdo total fuese muy pequeña (lo que determina que las frecuencias esperadas en la prueba de Chi cuadrada sean muy pequeñas).

El valor pronóstico de los sistemas de clasificación se realizó a través de un análisis de supervivencia univariable, que se realizó a través del *Método de Producto Limitado de Kaplan-Meier*, tanto para la clasificación de la OMS, como para la clasificación de Bryne, para así obtener la significancia pronóstica. El tiempo de supervivencia se calculó en meses desde el ingreso del paciente al Servicio de Oncología con diagnóstico de CECCC, hasta su fallecimiento. Los pacientes que aún permanecían vivos al momento de cierre del registro de datos (31 de Julio del 2006) fueron censurados del análisis. Del mismo modo, sólo los casos en donde se consiguió un acuerdo total entre los observadores, fueron utilizados para calcular las curvas de supervivencia. El grado de significancia de las curvas obtenidas a través del método de Kaplan-Meier fue obtenido con la *Prueba de Logaritmos de Rangos*.

El *Modelo de Peligro Proporcional de Cox* fue utilizado en los análisis multivariados, en el cuál cada uno de los parámetros morfológicos y el promedio del VTFIT (cuando existió acuerdo total entre todos los observadores) fueron utilizados para establecer su contribución a la supervivencia de los pacientes, junto a otros factores clínico-patológicos.

El nivel de significancia estadística seleccionado para todas las pruebas realizadas en el estudio fue del 5% ( $p < 0,05$ ).

## Resultados

La descripción epidemiológica y las características clínicas de la muestra en estudio se presentan en la Tabla XIV. Se constató que el 19,4% (n=28) de los casos de CECCC se presentaba en mujeres, mientras que un 80,5% (n=116) lo hacía en hombres, existiendo una proporción hombre:mujer de 4:1. La edad de los pacientes fluctuaba entre los 29 y 93 años, siendo el promedio general de 63,7. El promedio de edad de los hombres corresponde a 64,11 años, mientras que la edad promedio de las mujeres fue de 61,96 años. La mayor parte de la muestra se encontraba en el grupo de entre 60 y 69 años representado con un 34,26%, porcentaje que iba disminuyendo de manera similar hacia ambos extremos.

Características de los Pacientes de la Muestra en Estudio					
Factor	Número	Porcentaje	Factor	Número	Porcentaje
<b>Género</b>			<b>Estapificación TNM (n=131)</b>		
Masculino	116	80,6	Estadio I	14	10,7
Femenino	28	19,4	Estadio II	13	9,9
<b>Localización Anatómica</b>			Estadio III	30	22,9
Cavidad Oral/Orofaringe	69	47,9	Estadio IV	74	56,5
Laringe/Hipofaringe	63	43,8	<b>Consumo de Tabaco (n=137)</b>		
Nasofaringe	4	2,8	No	32	23,4
Senos Paranasales	7	4,9	Si	105	76,6
Otros	1	0,7	<b>Consumo de Alcohol (n=131)</b>		
<b>Estadio T (n=131)</b>			No	48	36,6
T1	19	14,5	Si	83	63,4
T2	23	17,6	<b>Tratamiento Primario (n=142)</b>		
T3	27	20,6	Cirugía	27	19,0
T4	62	47,3	RT	17	12,0
<b>Estadio N (n=131)</b>			RT-QT	40	28,2
N0	69	52,7	Cirugía, RT	50	35,2
Nx	1	0,8	Cirugía, RT-QT	3	2,1
N1	27	20,6	RT, Cirugía	5	3,5
N2	28	21,4			
N3	6	4,6			

**Tabla XIV.** Distribución epidemiológica y características clínico-patológicas de los casos seleccionados como muestra de estudio.

## Reproducibilidad

Los resultados de la estadística kappa se presentan en la Tabla XV. El acuerdo específico interobservador e intraobservador se presentan en los anexos.

El acuerdo interobservador fue obtenido a través del cálculo de la estadística kappa aplicada a la primera observación de los cuatro participantes para la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS, la clasificación original del Frente de Invasión Tumoral de Bryne y la clasificación modificada de la misma. El valor de kappa para la clasificación de la OMS fue de 0,601 (min. 0,411; máx. 0,848), lo cual corresponde al límite superior de una concordancia moderada. El valor de k para la clasificación de Bryne con sus parámetros originales varió entre 0,405 (min. 0,152; máx. 0,740) para el grado de queratinización y 0,612 (min. 0,427; máx. 0,790) para la respuesta del individuo, lo que puede ser considerado como una concordancia moderada, mientras que para los parámetros recategorizados, la concordancia menor se observó en el grado de queratinización con un valor k de 0,549 (min. 0,318; máx. 0,769) y la mayor en el patrón de invasión con k de 0,741 (min. 0,536; máx. 0,966), lo que significa que la concordancia varió desde moderada a buena. En general, los valores de k para los parámetros recategorizados en dos grupos fueron mayores que los valores de los parámetros originales, aumentando el grado de reproducibilidad.

En el caso de la concordancia intraobservador, el valor de k para la clasificación de la OMS fue de 0,536 (min. 0,418; máx. 0,604), considerándose al igual que en el acuerdo interobservador como moderado. Para los parámetros originales de la clasificación de Bryne, el rango de k fue desde 0,168 (min. 0,041; máx. 0,295) para polimorfismo nuclear hasta 0,537 (min. 0,164; máx. 0,758) para respuesta del individuo, mientras que para los recategorizados, los valores fueron desde 0,239 (min. 0,033; máx. 0,403) para polimorfismo nuclear hasta 0,609 (min. 0,262; máx. 0,842) para respuesta del individuo.

Resultados de la Estadística Kappa para el Análisis de Reproducibilidad				
Parámetro	Interobservador		Intraobservador	
	Original	Recategorizado	Original	Recategorizado
Clasificación de la OMS	0,601		0,536	
Grado de Queratinización	0,405	0,549	0,295	0,383
Polimorfismo Nuclear	0,435	0,557	0,168	0,239
Patrón Invasión	0,593	0,741	0,389	0,591
Respuesta del Huésped	0,612	0,693	0,537	0,609
Valor Total FIT	$r_s = 0,511 - 0,880$	$k = 0,593$	$r_s = 0,423 - 0,613$	$k = 0,513$

**Tabla XV.** Resultados de la estadística kappa para las observaciones interobservador e intraobservador de la Clasificación Internacional de la OMS y la Clasificación del FIT de Bryne con parámetros originales y recategorizados.

Se observó una correlación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) en la comparación interobservador e intraobservador del valor total de FIT. Los valores de la correlación de rangos de Spearman para la comparación interobservador variaron entre  $r=0,511$  ( $p < 0,001$ ) y  $r=0,880$  ( $p < 0,001$ ), los cuales demostraron una correlación de gran fuerza estadística, mientras que para la comparación intraobservador, los valores se ubicaron entre  $r=0,423$  ( $p < 0,028$ ) y  $r=0,613$  ( $p < 0,001$ ), en algunos casos ligeramente menores que la comparación interobservador, pero aún significativos. Del mismo modo, al dividir el VTFIT en dos grupos utilizando la mediana de las observaciones como punto de corte (grupo 1  $<11$  y grupo 2  $\geq 11$ ) y aplicando la estadística kappa, se observó una concordancia moderada tanto en la evaluación interobservador ( $k=0,593$ ) como en la evaluación intraobservador ( $k=0,513$ ).

### Selección de Variables

Para los siguientes análisis, se decidió dividir la muestra total ( $n=144$ ) según la ubicación del tumor primario y trabajar con los dos grupos que contenían la mayor cantidad de casos, es decir, Cavidad Oral/Orofaringe ( $n=69$ ) y Laringe/Hipofaringe ( $n=63$ ). De esta forma, se homogeniza aún más la muestra, mejorando la validez de los resultados.

Sólo fueron utilizados los casos con acuerdo total entre los observadores. Respecto a esto, y en vista de que la cantidad de casos con acuerdo total en la Clasificación de Bryne original era muy reducida para realizar el análisis, sólo se testeó el valor pronóstico de la clasificación modificada. La distribución obtenida de los casos fue la siguiente (Tablas XVI y XVII):

Distribución de los Casos para los Parámetros Recategorizados en Cavidad Oral/Orofaringe				
Parámetro Morfológico	Categoría	Puntaje	n	%
Grado de Queratinización	Acuerdo Alta Queratinización	1 o 2	13	18,8
	Acuerdo Baja Queratinización	3 o 4	38	55,1
	Desacuerdo		18	26,1
Polimorfismo Nuclear	Acuerdo Alto Polimorfismo	1 o 2	23	33,3
	Acuerdo Bajo Polimorfismo	3 o 4	18	26,1
	Desacuerdo		28	40,6
Patrón de Invasión	Acuerdo Baja Invasividad	1 o 2	13	19,0
	Acuerdo Alta Invasividad	3 o 4	43	62,0
	Desacuerdo		13	19,0
Respuesta del Huésped	Acuerdo Alta Respuesta	1 o 2	23	33,0
	Acuerdo Baja Respuesta	3 o 4	27	39,0
	Desacuerdo		19	28,0
Valor Total del FIT	Acuerdo Bajo Valor FIT	$< 11$	16	23,2
	Acuerdo Alto Valor FIT	$\geq 11$	22	31,8
	Desacuerdo		31	45,0

**Tabla XVI.** Distribución obtenida de los casos del grupo Cavidad Oral/Orofaringe.

Distribución de los Casos para los Parámetros Recategorizados en Laringe/Hipofaringe				
Parámetro Morfológico	Categoría	Puntaje	n	%
Grado de Queratinización	Acuerdo Alta Queratinización	1 o 2	5	8,0
	Acuerdo Baja Queratinización	3 o 4	30	47,6
	Desacuerdo		28	44,4
Polimorfismo Nuclear	Acuerdo Alto Polimorfismo	1 o 2	22	35,0
	Acuerdo Bajo Polimorfismo	3 o 4	14	22,2
	Desacuerdo		27	42,8
Patrón de Invasión	Acuerdo Baja Invasividad	1 o 2	16	25,4
	Acuerdo Alta Invasividad	3 o 4	30	47,6
	Desacuerdo		17	27,0
Respuesta del Huésped	Acuerdo Alta Respuesta	1 o 2	14	22,2
	Acuerdo Baja Respuesta	3 o 4	30	47,6
	Desacuerdo		19	30,2
Valor Total del FIT	Acuerdo Bajo Valor FIT	< 11	22	34,9
	Acuerdo Alto Valor FIT	≥ 11	19	30,2
	Desacuerdo		22	34,9

**Tabla XVII.** Distribución obtenida de los casos del grupo Laringe/Hipofaringe.

### Asociación con Factores Clínicos-Patológicos

Para la clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne, cada uno de los parámetros recategorizados en los que se observó un acuerdo total (Tablas XVI y XVII), fueron asociados con otros factores clínico-patológicos para observar si existía algún tipo de relación.

En los casos de Cavidad Oral/Orofaringe, se observó que existía una relación estadísticamente significativa entre un alto grado de queratinización con historia de consumo de tabaco ( $\chi^2= 4,019$ ,  $gl=1$ ,  $p=0,045$ ) y con un mayor estadio T ( $\chi^2= 8,785$ ,  $gl=3$ ,  $p=0,032$ ;  $P=8,722$ ,  $p=0,020$ ). Un polimorfismo nuclear alto también se relacionó de la misma forma con el estadio T ( $\chi^2= 7,952$ ,  $gl=3$ ,  $p=0,047$ ;  $P=7,695$ ,  $p=0,054$ ). Por último, se observó una asociación entre una elevada respuesta inflamatoria del individuo y el consumo de tabaco ( $\chi^2= 5,389$ ,  $gl=1$ ,  $p=0,020$ ).

Respecto del grupo de casos de Laringe/Hipofaringe, se observó una asociación entre un polimorfismo nuclear bajo y un menor compromiso de linfonodos o estadio N ( $\chi^2= 7,142$ ,  $gl=2$ ,  $p=0,028$ ;  $P=6,975$ ,  $p=0,038$ ).

## Análisis de Supervivencia Univariable

El valor pronóstico de cada clasificación fue medido en términos de sobrevida de los pacientes, lapso en meses comprendido desde el ingreso al Servicio de Oncología del hospital, con diagnóstico de CECCC, hasta el fallecimiento.

Como se mencionó anteriormente, la Prueba de Kaplan-Meier sólo fue aplicada a los parámetros recategorizados de la Clasificación de Bryne (Tablas XVI y XVII), debido a la poca cantidad de casos disponibles con acuerdo total en la clasificación original. La significancia estadística de cada una de las curvas obtenidas fue probada con la Prueba de Logaritmo de Rangos.

Según las curvas de supervivencia del análisis de Kaplan-Meier y la Prueba de Logaritmo de Rangos, la clasificación de la OMS no se relacionó con la sobrevida de los pacientes en ninguno de los dos grupos (Gráficos 1 y 2).

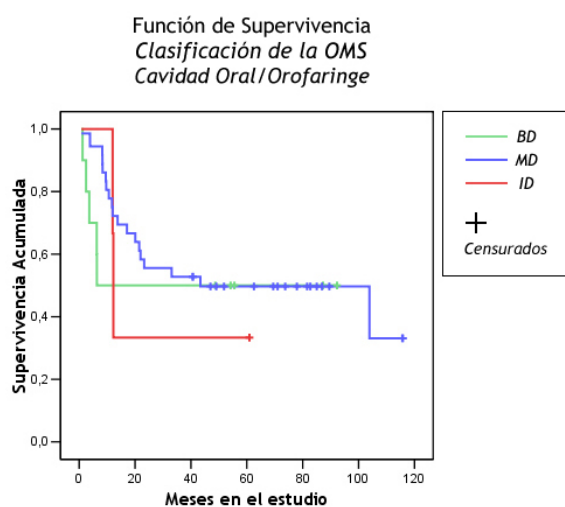


Gráfico 1

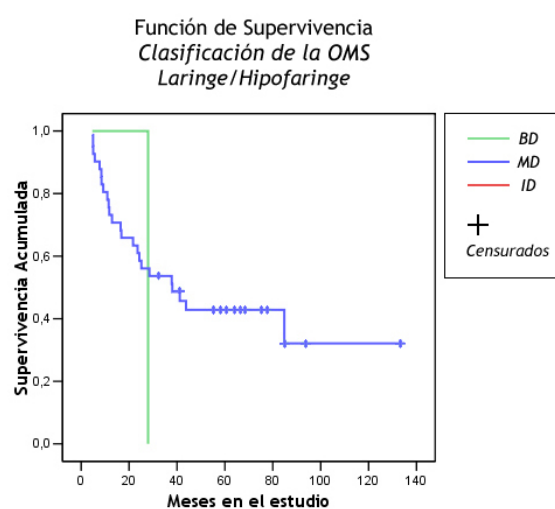


Gráfico 2

Gráficos 1 y 2. Curvas de Supervivencia para la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS en los casos de Cavidad Oral/Orofaringe (Gráfico 1) y Laringe/Hipofaringe (Gráfico 2).

En los casos del grupo de Cavity Oral/Orofaringe, las curvas de supervivencia obtenidas para cada uno de los parámetros de la clasificación fueron las siguientes (Gráficos 3 a 6):

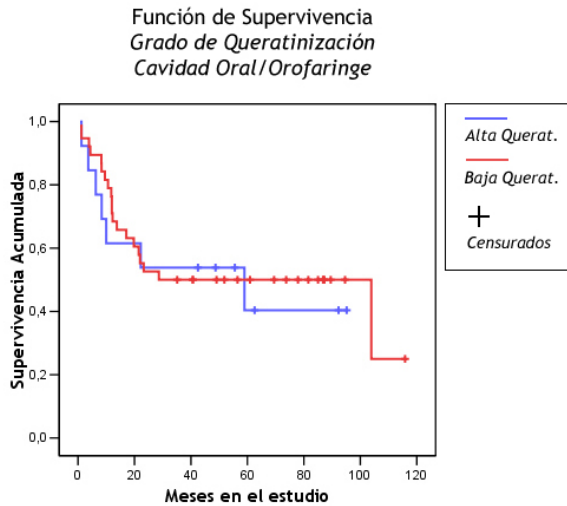


Gráfico 3

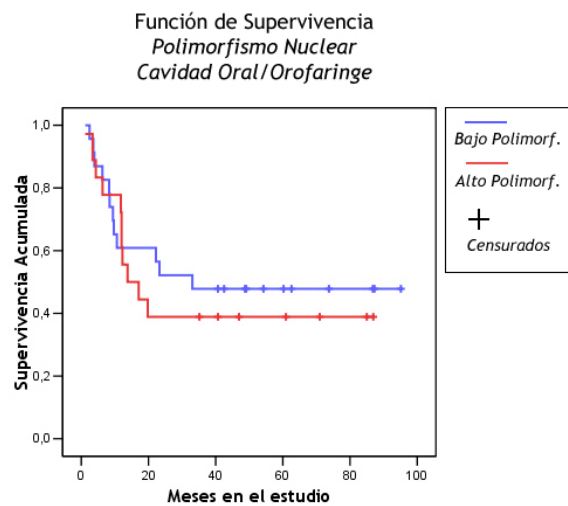


Gráfico 4

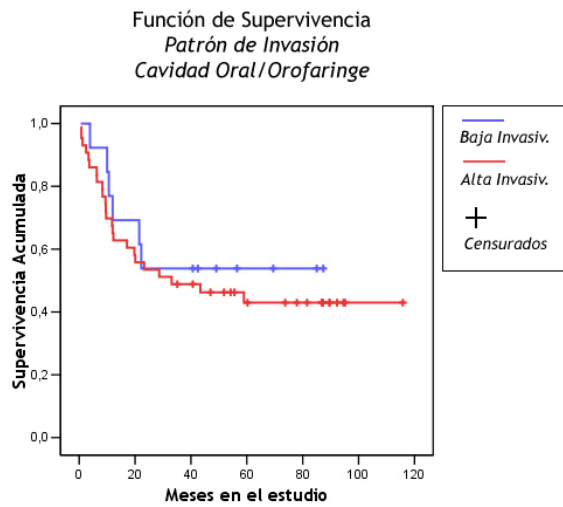


Gráfico 5

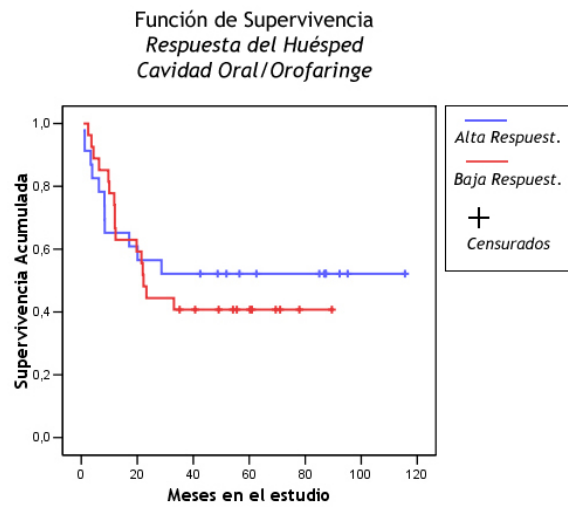


Gráfico 6

**Gráficos 3 a 6.** Curvas de Supervivencia para cada uno de los parámetros de la Clasificación Modificada de Bryne en los casos de Cavity Oral/Orofaringe.

A pesar de que podría sugerirse cierta relación con el pronóstico en algunos casos y con el paso del tiempo (a partir de los 2 años aproximadamente), la prueba de logaritmos de rangos resultó no ser significativa para ninguno de los parámetros recategorizados de la clasificación modificada en los casos de carcinoma escamocelular de Cavity Oral/Orofaringe.

Respecto del grupo de casos de Laringe/Hipofaringe, las curvas de supervivencia para cada uno de los parámetros se trazaron como sigue (Gráficos 7 a10):

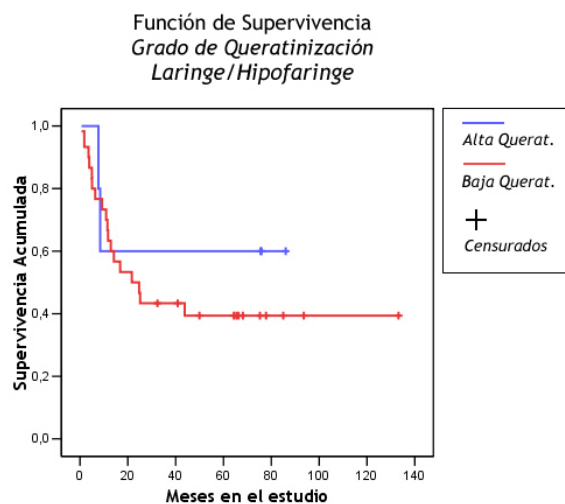


Gráfico 7

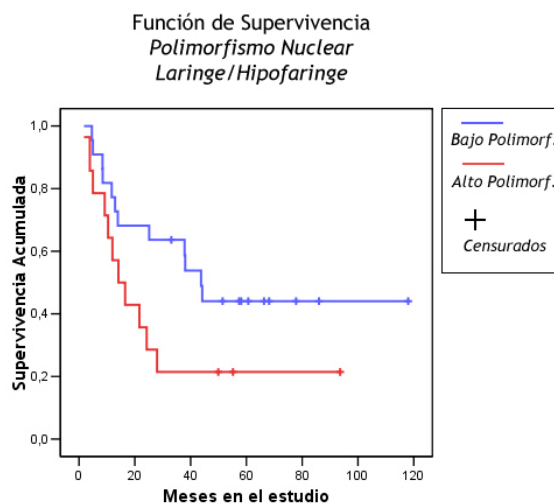


Gráfico 8

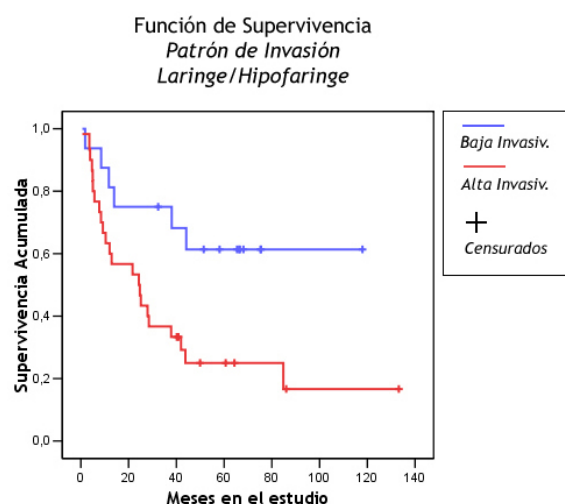


Gráfico 9

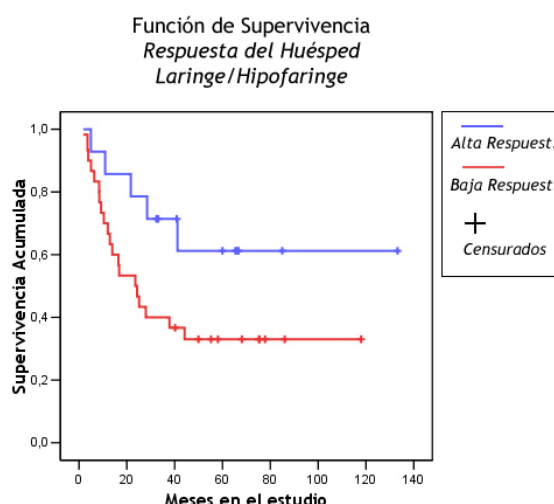


Gráfico 10

**Gráficos 7 a 10.** Curvas de Supervivencia para cada uno de los parámetros de la Clasificación Modificada de Bryne en los casos de Laringe/Hipofaringe.

Para las curvas del grupo Laringe/Hipofaringe, y como se puede observar claramente en el gráfico, el patrón de invasión resultó tener la mayor relación con el pronóstico de los pacientes ( $p=0,0156$ ). El polimorfismo nuclear y la respuesta del individuo también parecen poseer una relación con el pronóstico, a pesar de que el grado de significancia se eleve ligeramente por sobre el valor 0,05 ( $p=0,0762$  y  $p=0,0602$ , respectivamente). El grado de queratinización no se relacionó significativamente con la supervivencia ( $p=0,5094$ ).

El análisis de supervivencia para el valor total de malignidad del FIT para los dos grupos de trabajo se muestra a continuación (Gráficos 11 y 12). El punto de corte según los resultados de la clasificación del FIT de Bryne fue ajustado sobre la mediana de la muestra (11 puntos), determinando los dos grupos a los cuales se aplicó el análisis (grupo 1  $<11$  o bajo valor FIT y grupo 2  $\geq 11$  o alto valor FIT):

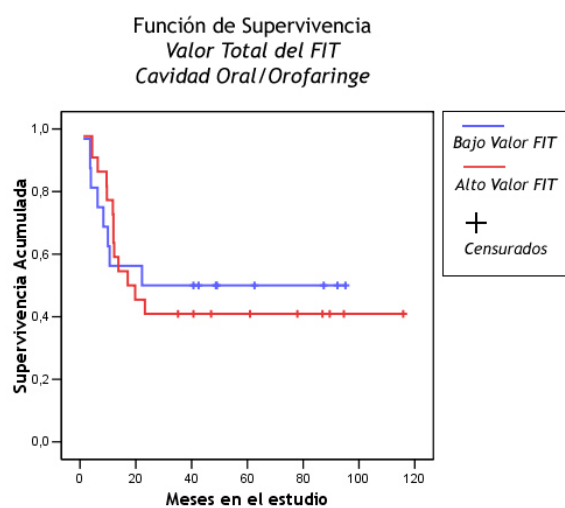


Gráfico 11

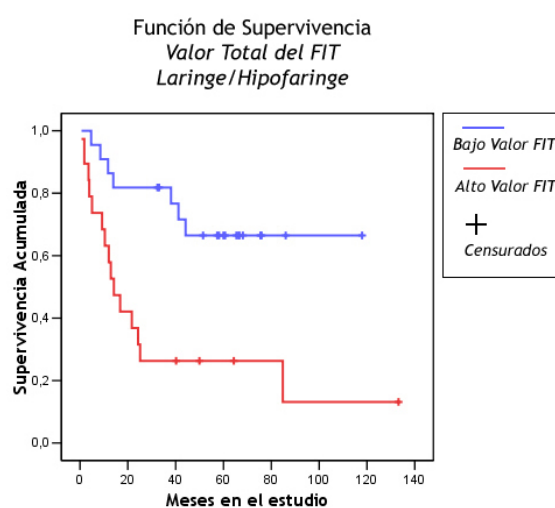


Gráfico 12

**Gráficos 11 a 12.** Curvas de Supervivencia para el valor total de malignidad del FIT de la Clasificación Modificada de Bryne en los grupos de Cavidad Oral/Orofaringe (Gráfico 11) y Laringe/Hipofaringe (Gráfico 12).

Al igual que lo observado en las curvas de los parámetros individuales, los casos de Cavidad Oral/Orofaringe parecen mostrar una aparente tendencia a relacionarse con la supervivencia más allá de los 2 años. Sin embargo, no se pudo establecer una relación estadísticamente significativa. Por su parte, en los casos de Laringe/Hipofaringe, el VTFIT sí demostró tener una fuerte relación con el pronóstico de los pacientes, con un valor de  $p=0,0016$ .

### Análisis de Supervivencia Multivariable

Para la aplicación del modelo de Cox, cada uno de los parámetros recategorizados según las Tablas XVI y XVII fueron ingresados al cálculo junto a otras variables clínico patológicas.

En este caso, el único factor que se relacionó significativamente con la supervivencia de los pacientes en el modelo de Cox fue el estadio T ( $p=0,009$ ). Cabe mencionar, que a pesar de que fue excluido en el modelo, el patrón de invasión tuvo una significancia muy cercana al 0,05, por lo que sería interesante realizar otros trabajos enfocados en este factor.

## Discusión

Los estudios que valoran la significancia pronóstica de las clasificaciones histológicas deben reducir la mayor cantidad de factores posibles relacionados a los casos, concentrándose, en lo posible, exclusivamente en la variable que se está investigando, es decir, la misma clasificación histológica (Anneroth y cols., 1987). Dicho de otra forma, la muestra en estudio debe ser lo más *homogénea* posible en cuanto a las variables diferentes a la clasificación histológica (Odell y cols., 1994). Con esto, los resultados del estudio tendrán un mayor valor en cuanto el pronóstico de los pacientes que estará determinado, en teoría, sólo por la clasificación histológica.

Existen una infinidad de factores que deben ser homogeneizados en orden a concentrar la investigación en el análisis histológico. Estos pueden ser divididos básicamente en dos grandes grupos: los *requerimientos clínicos* y los *requerimientos histológicos* (Anneroth y cols., 1987). Dentro de los primeros, deben considerarse el sitio donde asienta el tumor primario, su tamaño (estadio T), el compromiso de linfonódulos (estadio N), el estadiaje clínico del tumor (TNM) y la modalidad de tratamiento primario (Anneroth y cols., 1987; Odell y cols., 1994). En el segundo grupo, se cuentan la calidad y dirección de los cortes histológicos de las muestras, la calidad de la tinción, la metodología de análisis (Anneroth y cols., 1987), y en el caso de este estudio, la presencia del frente de invasión tumoral en la muestra.

La mayoría de los trabajos presentes en la literatura son heterogéneos en cuanto a la metodología de estudio: cada grupo de investigadores ha considerado diferentes características en la homogenización de la muestra (Anneroth y cols., 1987; Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1992; Odell y cols., 1994; Bryne y cols., 1995; Piffkò y cols., 1997; Spiro y cols., 1999; Sawair y cols., 2003; Kurokawa y cols., 2005). Esto, además de dificultar la comparación de resultados entre diferentes trabajos, produce un problema más importante aún, la reducción de la validez de los resultados obtenidos.

Por otro lado, la necesidad de homogenizar la muestra trae consigo la disminución de los casos disponibles para el estudio (Odell y cols., 1994), lo que también puede ser determinante en la validez de los resultados obtenidos.

En este estudio, se intentó controlar la mayor cantidad de factores relacionados con el pronóstico y que tienen influencia en la sobrevida de los pacientes. Es así como se evidencia en los métodos utilizados, que fueron excluidos aquellos casos de cáncer avanzado en los que el tratamiento fue sólo paliativo o en los que no se pudo entregar tratamiento alguno, casos con metástasis distantes al momento del diagnóstico, primarios múltiples, variedades histológicas poco frecuentes o ausencia del frente de invasión tumoral en las muestras.

A pesar del esfuerzo realizado, existieron ciertos factores que no fue posible homogenizar debido a que la muestra se reducía en demasía, haciendo imposible la aplicación de las diferentes estadísticas contempladas en la metodología de trabajo. Resultó impracticable conformar una muestra en la que se incluyeran sólo aquellos casos con ausencia de metástasis regionales en linfonodos al momento del diagnóstico, similar estadiaje clínico, con una única modalidad de

tratamiento del primario (idealmente casos tratados sólo con cirugía) y con biopsias excisionales de la pieza quirúrgica (que reflejarían de mejor forma las características del tumor, a diferencia de las muestras incisionales que podrían mostrar una graduación más baja). La utilización de estos criterios en la conformación de la muestra determinaba la exclusión de la mayoría de los casos. También, y a pesar de que se intentó agrupar los casos según regiones anatómicas similares para realizar los análisis, se obtuvo una muestra demasiado heterogénea en cuanto a sitio, particularmente en el grupo de Cavidad Oral/Orofaringe, lo que redundó finalmente en los resultados del valor pronóstico observados en este grupo.

Otro hecho importante, que influyó probablemente los resultados de reproducibilidad, fue la utilización de dos microscopios para el análisis de las muestras. Esto se decidió así debido a las ventajas prácticas y de tiempo que involucraba el uso de ambos microscopios. Sin embargo, es innegable que esto también determina en cierta medida la calidad de los resultados obtenidos en el análisis de concordancia, debido a las diferencias técnicas de los instrumentos de medición.

No obstante lo comentado anteriormente, los resultados obtenidos en este estudio son similares a los reportados por otros autores que han trabajado con la clasificación del frente de invasión tumoral en casos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello. A continuación discutiremos los más importantes.

Es clara la importancia de la reproducibilidad de una clasificación entre diferentes observadores, debido a que el desacuerdo en ella puede traer consecuencias terapéuticas para el paciente (Bryne y cols., 1991c). También es cierto que un acuerdo total entre observaciones es improbable en la interpretación histopatológica debido a su inherente subjetividad (Sawair y cols., 2003). Sin embargo, deberían utilizarse clasificaciones en las que se aprecie una concordancia adecuada según diferentes estudios llevados al respecto (Bryne y cols., 1998).

La reproducibilidad nos indica cuanta concordancia hay entre los observadores. Si este valor es significativo indica que la clasificación usada es de gran valor clínico, y nos guiará en forma universal a como manejar en cuanto a tratamiento a cada paciente, influyendo esto en su supervivencia. Por esta razón es importante que los patólogos establezcan pautas teóricas bien definidas de clasificación, con el fin de que después de internalizados estos conocimientos, los observadores se reúnan y lleguen a consenso práctico, lo que aumentaría la concordancia entre los observadores.

Una prueba que ha demostrado validez para evaluar la concordancia entre observaciones es la llamada estadística kappa (Svanholm y cols., 1989). A pesar de que existe cierta discusión en cuanto a qué valor de kappa es adecuado para que una clasificación tenga una buena confiabilidad diagnóstica en su uso clínico, se considera en la práctica que un valor de kappa superior a 0,40 constituye un acuerdo razonable (Fleming, 1996; citado en Sawair y cols., 2003).

Los resultados de la estadística kappa en este estudio son optimistas en cuanto a la confiabilidad diagnóstica de la Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne. Como se esperaba, la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS obtuvo valores de kappa sobre el límite superior de una concordancia moderada tanto en el análisis interobservador ( $k=0,601$ )

como intraobservador ( $k=536$ ). Estos valores hacen de la clasificación de la OMS un factor aceptable para el uso clínico, debido a su elevada reproducibilidad y a la simplicidad de sus definiciones.

Por otro lado, la Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne, con sus parámetros originales, entregó valores de kappa que representan un acuerdo moderado en el análisis interobservador, y un acuerdo que va de poca (grado de queratinización, polimorfismo nuclear y patrón de invasión) a moderada concordancia (respuesta del huésped) en el análisis intraobservador. Los parámetros menos reproducibles fueron en ambos casos el grado de queratinización y el polimorfismo nuclear, y los más reproducibles el patrón de invasión y la respuesta del huésped. Esto podría explicarse porque los dos primeros parámetros involucran una evaluación porcentual de la muestra, lo que dificultaría al observador la categorización del tumor, a diferencia del patrón de invasión, que es una característica morfológica, y de la respuesta del huésped, que posee definiciones más simples de sus diferentes categorías o puntajes, haciendo más sencilla la categorización. Algunos estudios concuerdan en que el patrón de invasión es el parámetro más reproducible (Bryne y cols., 1991c), mientras que otros han reportado que este posee una menor reproducibilidad comparado a los otros parámetros (Sawair y cols, 2003). Un dato contradictorio es que los valores del análisis intraobservador fueron en general más bajos que los observados en el análisis interobservador, lo que está en desacuerdo con lo expresado en la literatura (Bryne y cols., 1998; Sawair y cols., 2003). Todas estas diferencias evidencian la subjetividad de la clasificación histopatológica y la diferencia en las metodologías de estudio

Al recategorizar los puntajes de los diferentes parámetros y colapsarlos en sólo dos categorías, se observó, como era esperado, que los valores de la estadística kappa aumentarían respecto de los resultados para los parámetros originales. Esto se explicaría por el hecho de que se simplifican las definiciones de los diferentes parámetros, disminuyendo a su vez las opciones en las cuales categorizarlos, y mejorando la reproducibilidad. Del mismo modo, los parámetros menos reproducibles fueron el grado de queratinización y el polimorfismo nuclear, y los más reproducibles el patrón de invasión y la respuesta del huésped, lo que confirma lo expresado con anterioridad al respecto. En el análisis interobservador, los resultados para el grado de queratinización y el polimorfismo nuclear se mantuvieron en un acuerdo moderado, mientras que para el patrón de invasión y la respuesta del huésped los valores se ubicaron en una buena concordancia. En el caso del análisis interobservador, los valores del grado de queratinización y el polimorfismo nuclear se mantuvieron en poca concordancia, y el patrón de invasión y la respuesta del huésped se ubicaron en una respuesta moderada.

En la literatura se reporta que el grado de concordancia puede ser afectado por varios factores, tanto de la técnica de análisis como del conocimiento y entrenamiento de los observadores, por lo que deben controlarse la mayor cantidad de estas variables para obtener un resultado significativo (Svanholm y cols, 1989; Sawair y cols., 2003). En nuestro trabajo se realizó una calibración previa de los observadores en cuanto a teoría y posteriormente se llegó a un acuerdo práctico frente al microscopio en cuanto a los parámetros histológicos, lo que influiría de manera positiva en los resultados de concordancia, mejorando la reproducibilidad entre las observaciones (Bryne y cols, 1989; Bryne y cols, 1991; Bryne y cols, 1998). Otro factor que influyó en la mejora de los valores de kappa y que también ha sido realizado en otros estudios fue la recategorización de los parámetros, (Bryne y cols, 1998; Sawair y cols, 2003) y la omisión del

recuento de mitosis del sistema original. (Bryne y cols, 1998; Sawair y cols, 2003; Odell y cols, 1994; Kurokawa y cols, 2005).

El valor total de malignidad del FIT para la clasificación original resultó tener una alta correlación interobservador ( $p < 0,001$ ) e intraobservador ( $p < 0,05$ ), y del mismo modo, también demostró una alta reproducibilidad según la estadística kappa (interobservador 0,593 e intraobservador 0,513), valores que confirman su cercanía a la reproducibilidad alcanzada con la Clasificación de Tumores de la OMS.

Todos estos resultados confirman la hipótesis de que la Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne posee una reproducibilidad adecuada para ser utilizada clínicamente, acercándose en algunos parámetros a la Clasificación Internacional de la OMS que ha demostrado una buena reproducibilidad, no sólo en este estudio, sino que a través de un siglo de uso.

Respecto a la asociación con diversos factores clínico-patológicos, se observó que en los casos de Cavidad Oral/Orofaringe existió una relación significativa entre el grado de queratinización del tumor y el consumo de tabaco. Esta relación resultó sorprendente, y podría explicarse por el estímulo físico provocado por el consumo de tabaco, principalmente en forma de cigarrillos (la presentación de mayor consumo en nuestro país), que induciría la producción de mayor cantidad de queratina como una medida de protección frente a la agresión física, previa a la transformación maligna de las células. Otra razón podría encontrarse en las alteraciones genéticas producidas por el consumo de tabaco, las que serían diferentes a las observadas por la acción de otros factores etiológicos, determinando diferencias en la expresión fenotípica de las células neoplásicas. También se observó un mayor grado de queratinización y un mayor estadio T. Respecto a esto, es evidente que los pacientes comprometidos por CECCC consultan muy tarde, cuando el tumor ya ha abarcado gran cantidad de estructuras y se encuentra en una etapa clínica avanzada. Es posible que los mismos pacientes fumadores sean los que consultan de forma más tardía en busca de tratamiento, presentándose con tumores de gran extensión con un alto estadio T. La región anatómica sobre la que asienta el tumor primario también determina en cierta forma la velocidad con que la masa tumoral invade estructuras vecinas: en este caso, aquellos tumores de la zona posterior de la cavidad oral y aquellos de orofaringe tienen mayor probabilidad de alcanzar grandes tamaños debido a la anatomía de la región y a la tardía detección del cáncer. El polimorfismo nuclear y un mayor estadio T tienen una relación un poco más evidente, puesto que se espera que aquellos casos en los que la diferenciación de las células tumorales es menor, posean características de mayor invasividad, por lo que alcanzarían un estadio T mayor en menor tiempo. Finalmente, la relación entre una elevada respuesta inflamatoria y consumo de tabaco también nos causó cierta confusión; sin embargo, podría pensarse que debido a que el consumo de tabaco determina probablemente un crecimiento acelerado del tumor, el organismo se ve en la necesidad de montar una respuesta inflamatoria agresiva para controlar el crecimiento de la neoplasia. Tampoco podría descartarse una probable mayor respuesta sistémica, además de local, en estos pacientes.

En los casos de Laringe/Hipofaringe, sólo fue posible evidenciar una relación significativa entre un polimorfismo nuclear bajo y un menor compromiso de linfonódulos regionales (estadio N). Esto, al igual que la relación entre polimorfismo y estadio T en Cavidad Oral/Orofaringe, se explicaría porque las células neoplásicas con menor polimorfismo tienen un comportamiento biológico menos agresivo, con menor tendencia a producir metástasis regionales.

En los análisis de supervivencia se puede evidenciar, tal como es mencionado en la literatura (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1992; Piffkø y cols., 1997; Kurokawa y cols., 2005), que la Clasificación Internacional de Tumores de la OMS carece de valor pronóstico en ambos grupos de pacientes, por lo que su utilidad en la planificación del tratamiento y pronóstico del caso es casi nula. Es por esta razón que esta clasificación debiera ser reemplazada por alguna con una relación significativa con la sobrevida de los pacientes.

En las curvas para los parámetros morfológicos recategorizados y el VTFIT de Cavidad Oral/Orofaringe no se pudo establecer una significancia pronóstica en relación a la sobrevida de los pacientes. Esto se explica principalmente por la heterogeneidad del grupo de estudio en cuanto a la localización anatómica del tumor primario, debido a que se incluyeron en un mismo conglomerado a tumores de sitios anatómicos cercanos pero de diferente comportamiento biológico. No obstante lo anterior, y basados en los resultados de estudios similares conducidos al respecto (Bryne y cols., 1989; Bryne y cols., 1992; Odell y cols., 1994; Bryne y cols., 1995; Sawair y cols., 2003; Kurokawa y cols., 2005), no sería erróneo pensar según la distribución de las curvas, que podría existir alguna relación con el pronóstico entre ambos grados de cada variable a medida que avanza el tiempo, puesto que aproximadamente a los dos años luego del diagnóstico, se observa sin excepción que aquellos casos con un grado más bajo en cada parámetro poseen una sobrevida levemente mayor a aquellos con un grado mayor. Esto podría ser confirmado si se obtiene una muestra de estudio más homogénea.

Por el contrario, en el caso de las curvas de los parámetros recategorizados y el VTFIT del grupo Laringe/Hipofaringe se observó casi siempre (a excepción del grado de queratinización que mostró una distribución similar a las curvas de Cavidad Oral/Orofaringe), una relación significativa con el pronóstico de los pacientes, tal como se reporta en la literatura (Bryne y cols., 1995). Los pacientes con un grado más bajo poseen una sobrevida significativamente mayor a los pacientes con un grado histológico más alto. Esto una vez más se explicaría por la homogeneidad de la muestra en este grupo de casos. Dentro de los parámetros que mostraron una mayor relación con la sobrevida, están el patrón de invasión y el valor total de malignidad del FIT, resultados similares a los expresados por otros investigadores (Odell y cols., 1994; Bryne y cols., 1995; Woolgar y cols., 1995; Bryne y cols., 1998; Sawair y cols., 2003).

Todos estos resultados confirman que la clasificación histopatológica de Bryne es un importante indicador de pronóstico de los pacientes con carcinoma escamocelular. (Bryne y cols., 1989; Odell y cols., 1994; Bryne y cols., 1998; Kurokawa y cols., 2005).

Por último, el estadio T resultó estar estrechamente relacionado con la sobrevida de los pacientes según el análisis de supervivencia multivariable. Esto se confirma en otros estudios que reportan una asociación significativa entre el tamaño del tumor y la sobrevida de los pacientes (Moore y cols., 1986; Spiro y cols., 1986; Kurokawa y cols., 2002; Sawair y cols., 2003; Wen-Liang y cols., 2003).

## Conclusiones

La utilización por años de una clasificación clínica para diagnosticar cáncer y relacionarla con el pronóstico y sobrevida de los pacientes no es suficiente a la hora de planear un tratamiento, es por esto que debe ser complementada con clasificaciones basadas en la histopatología de la enfermedad. Es así como se desarrolló, ya hace más de un siglo, una clasificación del grado de diferenciación histológica, la clasificación de Broders, posteriormente modificada por la OMS, que evalúa la muestra tumoral completa en busca de características que indiquen una mayor o menor agresividad tumoral. Sin embargo, esta clasificación demostró tener un bajo valor pronóstico. Posteriormente, con la atención concentrada en la zona de más profunda infiltración en el conjuntivo, se desarrolló un sistema de clasificación multifactorial basado en las características histomorfológicas del frente de invasión, la clasificación de Bryne, la cual ha demostrado con los años que esta nueva forma de clasificar la enfermedad es la que presenta un mayor valor pronóstico y una alta reproducibilidad.

Una clasificación histopatológica ideal debe ser reproducible de un observador a otro, para lograr una estandarización a nivel mundial con respecto al manejo de cada paciente en particular, en conjunto con otras características, principalmente con el estadiaje clínico entregado por la clasificación TNM. En nuestro estudio obtuvimos un aceptable nivel de concordancia inter e intraobservador, tanto para la Clasificación de la OMS como para la Clasificación de Bryne. Esta concordancia es importante, ya que indica que la clasificación histopatológica de Bryne tiene un gran valor clínico. Este razonable nivel de concordancia se cumple a través de la unificación de criterios de diagnóstico tanto en forma teórica como práctica.

La finalidad de dar igual importancia tanto al estadiaje clínico como al histopatológico, es que estos nos ayuden a predecir como será el comportamiento del tumor en el tiempo, es decir, que sea una importante herramienta pronóstica, lo cual ha sido demostrado en este estudio. La clasificación histopatológica de Bryne resultó poseer un importante valor pronóstico, especialmente en el grupo de Laringe/Hipofaringe debido a la homogenización del sitio anatómico. La Clasificación de la OMS obtuvo un pobre valor pronóstico, hecho que corrobora lo planteado en la literatura. En cuanto a los parámetros de Bryne en forma individual, este estudio confirmó el alto valor pronóstico del patrón de invasión en relación a la sobrevida de los pacientes, lo que se encuentra en concordancia con otros trabajos similares.

Al asociar los factores clínico- patológicos con la clasificación de Bryne, es posible observar la relación de algunos de los parámetros del frente de invasión y las características clínicas de los pacientes, lo cual sustenta aún más el valor de la Clasificación del Frente de Invasión Tumoral de Bryne como herramienta en la planificación del tratamiento de los casos de CECCC.

## ***Sugerencias***

Para la realización de un estudio similar al presentado, algunas sugerencias para llegar a resultados aún más significativos deben ser tomadas en cuenta.

Lo primero es la homogenización de la muestra, lo que quiere decir que es necesario que la localización del tumor sea más acotada, es decir, que la muestra corresponda a un sitio específico de una determinada región y que no se tome en cuenta más de un sitio agrupados, como ocurre en nuestro caso en el grupo Cavidad Oral/Orofaringe, donde se incluye lengua, piso de boca, labio, orofaringe, etc. Lugares que si bien pertenecen a una misma región, no presentan las mismas características ni igual comportamiento biológico según se ha evidenciado en múltiples estudios de casos, lo cual hace que los resultados no sean completamente satisfactorios.

Influye también en la obtención de una muestra homogénea el estadio clínico de la enfermedad, que se basa en la clasificación TNM. Es importante que la muestra se encuentre ubicada solamente en una etapa clínica, de preferencia temprana, porque así es posible realizar una valoración de la sobrevida de los pacientes mucho más objetiva y predictiva. Finalmente se sugiere trabajar con una muestra que haya recibido el mismo tratamiento (idealmente sólo cirugía, ya que se contaría con la pieza quirúrgica para realizar la observación histopatológica), porque de esta forma la totalidad de los pacientes va a estar en igualdad de condiciones y se podrá determinar el real valor pronóstico de la clasificación histológica sin falsear los resultados al eliminar otros factores determinantes del pronóstico.

Otra sugerencia es aumentar el tamaño de la muestra, recolectando datos, si es necesario, de otros hospitales, ya que esta es una manera de aumentar la validez y con esto la significancia estadística.

Además, es necesario realizar las observaciones de las muestras con un solo tipo de microscopio para eliminar de esta manera algún sesgo que pueda provocarse.

También la observación debe realizarse con una previa calibración de los observadores, ya que el grado de concordancia es afectado por muchos factores, tanto de la técnica de análisis como del conocimiento de los observadores, por lo que debe controlarse la mayor cantidad de estas variables para obtener un resultado significativo. Para esto se sugiere aplicar algún test de concordancia entre los observadores, hasta que éste de un valor óptimo que indique una buena reproducibilidad y posteriormente comenzar la observación definitiva de las placas.

Para aumentar la reproducibilidad de la clasificación histopatológica, se sugiere también disminuir la complejidad de los sistemas de clasificación y además simplificar y definir estrictamente los criterios de graduación histomorfológicos en los casos de CECCC.

## **Resumen**

**Introducción:** la tasa de supervivencia a los 5 años de pacientes con CECCC es de 50% app., por esto es necesario un diagnóstico y tratamiento tempranos para mejorar la sobrevida. En app. el 30% de los pacientes se observa una supervivencia menor a la esperada, lo que nos indica que la Clasificación TNM es insuficiente y que se requiere una combinación de la evaluación del estadiaje clínico (TNM) y las características histomorfológicas del tumor (Clasificación del FIT de Bryne), clasificaciones que tienen un alto valor pronóstico. **Objetivo:** Establecer la confiabilidad diagnóstica y el valor pronóstico de la clasificación histopatológica del frente invasivo de Bryne en carcinoma escamocelular de cabeza y cuello. **Materiales y métodos:** se seleccionaron 144 pacientes con diagnóstico de CECCC y se dividieron en dos grupos: Cavidad oral/orofaringe y Laringe/hipofaringe. Se extrajo de las fichas aspectos clínico-patológicos, luego cuatro observadores clasificaron las biopsias según la Clasificación de la OMS y la Clasificación del FIT de Bryne (original y recategorizada). Los datos se ingresaron al programa SPSS, para realizar el análisis de reproducibilidad utilizando la estadística Kappa y el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier. **Resultados:** la reproducibilidad de ambas clasificaciones, intra e interobservador resultó moderada. En cuanto a supervivencia, la Clasificación de la OMS no es un indicador pronóstico, en cambio la Clasificación de Bryne sí demostró serlo, especialmente en el grupo de Laringe/hipofaringe. Patrón de invasión mostró ser el parámetro con mayor valor pronóstico. **Conclusiones:** la Clasificación de Bryne tiene una aceptable reproducibilidad y un alto valor pronóstico.

## Referencias Bibliográficas

1. Anneroth, G.; Batsakis, J.; Luna, M., (1987): "Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas" en *Scand J Dent Res.* 95: 229-249.
2. Balkinsoon, J.; Rasgon, B.M.; Schweitzer, L., (2004): "Lymphatic mapping for staging of head and neck cancer" en *Semin Oncol.* 31: 382-393.
3. Bãnkfalvi, A.; Piffkò, J., (2000): "Prognostic and predictive factors in oral cancer: the role of the invasive tumour front" en *J Oral Pathol Med.* 29: 291-298.
4. Bryne, M.; Koppang, H.S.; Lilleng, R.; Stene, T.; Bang, G.; Dabelsteen, E., (1989): "New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broder's grading in oral squamous cell carcinomas" en *J Oral Pathol Med.* 18: 432-437.
5. Bryne, M.; Thrane, P.S.; Dabelsteen, E., (1990): "Loss of expression of blood group antigen H is associated with cellular invasion and spread of oral squamous cell carcinomas" en *Cancer.* 66: 2118-2123.
6. Bryne, M.; Reibel, J.; Mandel, U.; Dabelsteen, E., (1991a): "Expresión of mucin type carbohydrates may supplement histologic diagnosis in oral premalignant lesions" en *J Oral Pathol Med.* 20: 120-125.
7. Bryne, M.; Thrane, P.S.; Lilleng, R.; Dabelsteen, E., (1991b): "Prognostic value of rhesus blood groups in oral squamous cell carcinomas" en *Cancer.* 68: 2213-2216.
8. Bryne, M.; Nielsen, K.; Koppang, H.S.; Dabelsteen, E., (1991c): "Reproducibility of two malignancy grading systems with reportedly prognostic value for oral cancer patients" en *J Oral Pathol Med.* 20: 369-372.
9. Bryne, M.; Koppang, H.S.; Lilleng, R.; Kjaerheim, A. (1992): "Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value" en *Journal of Pathology.* 166: 375-381.
10. Bryne, M.; Jenssen, N.; Boysen, M., (1995): "Histological grading in the deep invasive front of T1 and T2 glottic squamous cell carcinomas has high prognostic value" en *Virchows Arch.* 427: 277-281.
11. Bryne, M.; Boysen, M.; Alfsen, C.G.; Abeler, V.M.; Sudbo, J.; Nesland, J.M.; Kristensen, G.B.; Piffko, J.; Bankfalvi, A., (1998): "The invasive front of carcinomas. The most important area for tumour prognosis?" en *Anticancer Research.* 18: 4757-4764.
12. Byers, R.M.; Newman, R.; Russell, N.; Yue, A., (1981): "Results of treatment for squamous carcinoma of the lower gum" en *Cancer.* 47(9): 2236-2238.

13. Costa, A.L.L.; Araújo Júnior, R.F.; Ramos, C.C.F., (2005): “Correlation between TNM classification and malignancy histological feature of oral squamous cell carcinoma” en *Rev Bras Otorrinolaringol.* 71(2): 181-187.
14. Dantas, D.D.; Ramos, C.C.; Costa, A.L.; Souza, L.B.; Pereira, L., (2003): “Clinical-pathological parameters in squamous cell carcinoma of the tongue” en *Braz Dent J.* 14(1):22-25.
15. De Vet, H.C.W.; Koudstaal, J.; Kwee, W.; Willebrand, D.; Arends, J.W., (1995): “Efforts to improve interobserver agreement in histopathological grading” en *J Clin Epidemiol.* 48(7): 869-873.
16. Gospodarowicz, M.K.; Benedet, L.; Hutter, R.V., (1998): “History and international developments in cancer staging” en *Cancer Prev Control.* 2: 262-268.
17. Gospodarowicz, M.K.; Miller, D.; Groome, P.A.; Greene, F.L.; Logan, P.A.; Sobin, L.H., (2004): “The process for continuous improvement of the TNM classification” en *Cancer.* 100: 1-5.
18. Hasina, R.; Lingen, M.W., (2004): “Head and neck cancer: the pursuit of molecular diagnostic markers” en *Semin Oncol.* 31: 718-725.
19. Hayashi, T.; Ito, J.; Taira, S.; Katsura, K.; Shingaki, S.; Hoshina, H. (2003): “The clinical significance of follow-up sonography in the detection of cervical lymph node metastases in patients with stage I or II squamous cell carcinoma of the tongue” en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 96: 570-575.
20. Heyden., A; Huitfeldt, H.S.; Koppang, H.S.; Thrane, P.S.; Bryne, M.; Brandtzaeg, P., (1992): “Cytokeratins as epithelial differentiation markers in premalignant and malignant oral lesions” en *J Oral Pathol Med.* 21: 7-11.
21. Iro, H.; Waldfahrer, F., (1998): “Evaluation of the newly updated TNM classification of head and neck carcinoma with data from 3247 patients” en *Cancer.* 83: 2201-2207.
22. Ivkic, M.; Bedekovic, V.; Kalogjera, L.; Cupic, H.; Ferencic, Z., (2002): “Invasive cell grading – an overview” en *Acta Clin Croat.* 41: 233-236.
23. Jones, A.S., (1994): “Prognosis in mouth cancer: tumour factors” en *Oral Oncol, Eur J Cancer.* 30(1): 8-15.
24. Karabulut, A.; Reibel, J.; Therkildsen, M.H.; Praetorius, F.; Nielsen, H.W.; Dabelsteen, E., (1995): “Observer variability in the histologic assessment of oral premalignant lesions” en *J Oral Pathol Med.* 24: 198-200.

25. Kawasaki, G.; Kato, Y.; Mizuno, A., (2002): "Cathepsin expression in oral squamous cell carcinoma: relationship with clinicopathologic factors" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 93: 446-454.
26. Kurokawa, H.; Yamashita, Y.; Takeda, S.; Zhang, M.; Fukuyama, H.; Takahashi, T., (2002): "Risk factors for late cervical lymph node metastases in patients with stage 1 or 2 carcinoma of the tongue" en *Head Neck.* 24: 731-736.
27. Kurokawa, H.; Zhang, M.; Matsumoto, S.; Yamashita, Y.; Tomoyose, T.; Tanaka, T.; Fukuyama, H.; Takahashi, T., (2005): "The high prognostic value of the histologic grade at the deep invasive front of tongue squamous cell carcinoma" en *J Oral Pathol Med.* 34: 329-333.
28. Lynch, M.; Brightman, V. y M. Greenberg, (1996). *Medicina Bucal de Burket.* Novena Edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana.
29. Mareel, M.; Leroy, A., (2003): "Clinical, cellular, and molecular aspects of cancer invasion" en *Physiol Rev.* 83: 337-376.
30. Miller, C.S.; Henry, R.G.; Rayens, M.K., (2003): "Disparities in risk of and survival from oropharyngeal squamous cell carcinoma" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 95: 570-575.
31. Moore, C.; Flynn, M.B.; Greenberg, R.A., (1986): "Evaluation of size in prognosis of oral cancer" en *Cancer.* 58(1): 158-162.
32. Noguchi, M; Kinjyo, H; Kohama, G; Nakamori, K., (2002): *Invasive front in oral squamous cell carcinoma: Image and flow cytometric analysis with clinicopathologic correlation.* *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 93(6): 682-7.
33. Ochsenius, G.; Ormeño, A.; Godoy, L.; Rojas, R., (2003): "Estudio retrospectivo de 232 casos de cáncer y precáncer de labio en pacientes chilenos. Correlación clínico-histológica" en *Rev Méd Chile.* 131: 60-66.
34. Odell, E.W.; Jani, P.; Sherriff, M.; Ahluwalia, S.M.; Hibbert, J.; Levison, D.A.; Morgan, P.R., (1994): "The prognostic value of individual histologic grading parameters in small lingual squamous cell carcinomas. The importance of the pattern of invasion" en *Cancer.* 74: 789-794.
35. Ord, R.A.; Blanchaert Jr., R.H., (2001): "Current management of oral cancer. A multidisciplinary approach" en *JADA.* 132: 19S-23S.
36. Pich, A.; Chiusa, L.; Navone, R., (2004): "Prognosis relevance of cell proliferation in head and neck tumors" en *Annals of Oncology.* 15: 1319-1329.
37. Piffkò, J.; Bãnkfalvi, A.; Öfner, D.; Kusch, F.; Böcker, W.; Joos, U.; Schmid, K.W., (1996): "In situ assessment of cell proliferation at the invasive front of oral squamous cell carcinomas" en *Virchows Arch.* 429: 229-234.

38. Piffkò, J.; Bànkfalvi, A.; Öfner, D.; Bryne, M.; Rasch, D.; Joos, U.; Böcker, W.; Schmid, K.W., (1997): "Prognostic value of histobiological factors (malignancy grading and AgNOR content) assessed at the invasive tumour front of oral squamous cell carcinomas" en *Brit J Cancer*. 75(10): 1543-1546.
39. Regezi, J. y J. Sciubba,(2000). *Patología Bucal. Correlaciones Clínicopatológicas*. Tercera Edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana.
40. Sawair, F.A.; Irwin, C.R.; Gordon, D.J.; Leonard, A.G.; Stephenson, M.; Napier, S.S., (2003): "Invasive front grading: reliability and usefulness in the management of oral squamous cell carcinoma" en *J Oral Pathol Med*. 32: 1-9.
41. Sawyer, D.R.; Wood, N.K., (1992): "Oral cancer: etiology, recognition, and management" en *Dent Clin North Am*. 36(4): 919-944.
42. Sciubba, J.J., (2001): "Oral cancer and its detection: history-taking and the diagnostic phase of management" en *JADA*. 132: 12S-18S.
43. Shingaki, S.; Masahito, T.; Keisuke, S.; Rahima, B.; Tadaharu, K.; Tsutomu, N.; Chikara, S., (2003): "Impact of lymph node metastases on the pattern of failure and survival in oral carcinomas" en *Am J Surg*. 185: 278-284.
44. Silverman Jr., S., (1988). "Early diagnosis of oral cancer" en *Cancer*. 62: 1796-1799.
45. Silverman Jr., S., (2001): "Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge" en *JADA*. 132: 7S-11S.
46. Snehal, G.; Sha, P.; Sha, J.P., (2005): "TNM staging of cancers of the head and neck: striving for uniformity among diversity" en *CA Cancer J Clin*. 55: 242-258.
47. Spiro, R.H.; Huvos, A.G.; Wong, G.Y.; Spiro, J.D.; Gnecco, C.A.; Strong, E.W., (1986): "Predictive value of tumor thickness in squamous cell carcinoma confined to the tongue and floor of mouth" en *Am J Surg*. 152: 345-350.
48. Spiro, R; Guillaumondegui, O; Paulino, A; Huvos, A., (1999): *Pattern of invasion and margin assessment in patients with oral tongue cancer*. *Head Neck*. 21: 408-413.
49. Sturgis, E.M.; Wei, Q., (2002): "Genetic susceptibility-molecular epidemiology of head and neck cancer" en *Curr Opin Oncol*. 14: 310-317.
50. Sturgis, E.M.; Wei, Q.; Spitz, M.R., (2004): "Descriptive epidemiology and risk factors for head and neck cancer" en *Semin Oncol*. 31: 726-733.

- 
51. Svanholm, H.; Starklint, H.; Gundersen, H.J.G.; Fabricius, J.; Barlebo, H.; Olsen, S., (1989): "Reproducibility of histomorphologic diagnoses with special reference to the kappa statistic" en *APMIS*. 97: 689-698.
52. Tytor, M.; Olofsson, J., (1992): "Prognostic factors in oral cavity carcinomas" en *Acta Otolaryngol. Suppl.* 492: 75-78.
53. Veneroni, S.; Silvestrini, R.; Costa, A.; Salvatori, P.; Faranda, A.; Molinari, R., (1997): "Biological indicators of survival in patients treated by surgery for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx" en *Oral Oncol.* 33(6): 408-413.
54. Wood, N.K. y P.G. Goaz, (1999) *Diagnóstico diferencial de las lesiones orales y maxilofaciales*. Editorial Harcourt Brace. Quinta Edición. Parte V, Capítulo 35: 587-593.
55. Woolgar, J.A.; Scout, J.; Vaughan, E.D.; Brown, J.S.; West, C.R.; Rogers, S., (1995): "Survival, metastasis and recurrence of oral cancer in relation to pathological features" en *Am R Coll Surg Engl.* 77: 325-331.
56. Woolgar, J.A. (1999): "Histological distribution of cervical lymph node metastases from intraoral/oropharyngeal squamous cell carcinomas" en *Brit J Oral Maxillof Surg.* 37: 175.
57. Woolgar, J.A.; Rogers, S.; West, C.R.; Errington, R.D.; Brown, J.S.; Vaughan, E.D., (1999): "Survival and patterns of recurrence in 200 oral cancer patients treated by radical surgery and neck dissection" en *Oral Oncol.* 35: 257-265.
58. Woolgar, J.A.; Rogers, S.N.; Loweb, J.S., (2003): "Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread" en *Oral Oncol.* 39: 130-137.
59. Xie, X.; Clausen, O.P.F.; Sudbö, J.; Boysen, M. (1997): "Diagnostic and prognostic value of nucleolar organizer regions in normal epithelium, dysplasia, and squamous cell carcinoma of the oral cavity" en *Cancer.* 79: 2200-2208.

## Anexos

### Análisis Estadístico

#### 1. Reproducibilidad

##### Concordancia Interobservador

A continuación se presentan las tablas resumen de la concordancia (kappa) entre cada uno de los cuatro observadores involucrados en el estudio y para cada una de las clasificaciones estudiadas. A cada observador se le asignó una letra entre A y D.

Concordancia Observada Clasificación OMS				
	A	B	C	D
A				
B	0,848			
C	0,803	0,729		
D	0,374	0,411	0,445	

Concordancia Observada Valor Total del FIT Modificado				
	A	B	C	D
A				
B	0,768			
C	0,782	0,723		
D	0,450	0,396	0,438	

La relación interobservador para el Valor Total del FIT (VTFIT) en escala numérica continua según la Correlación de Rangos de Spearman ( $r_s$ ) entre cada pareja de observadores se presenta a continuación.

La prueba de significancia utilizada para esta estadística fue la Prueba de  $t$ .

**Hipótesis Nula** ( $H_0$ ) = El valor de  $r_s$  de la muestra es igual a 0 ( $r_s = 0$ )

**Hipótesis Alternativa** ( $H_1$ ) = El valor de  $r_s$  de la muestra no es de 0 ( $r_s \neq 0$ )

## Correlaciones según la Prueba de Correlación de Rangos de Spearman

		VTFITA	VTFITB	VTFITC	VTFITD
VTFITA	Coefficiente de correlación	1,000	,877(**)	,880(**)	,585(**)
	Sig. (bilateral)	.	,000	,000	,000
	N	144	144	144	144
VTFITB	Coefficiente de correlación	,877(**)	1,000	,848(**)	,511(**)
	Sig. (bilateral)	,000	.	,000	,000
	N	144	144	144	144
VTFITC	Coefficiente de correlación	,880(**)	,848(**)	1,000	,603(**)
	Sig. (bilateral)	,000	,000	.	,000
	N	144	144	144	144
VTFITD	Coefficiente de correlación	,585(**)	,511(**)	,603(**)	1,000
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,000	.
	N	144	144	144	144

\*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).  
Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

Como puede observarse en la tabla, la correlación resultó significativa al nivel del 0,01 con dos colas para todas las parejas de estudio en el caso del VTFIT, por tanto se rechaza la hipótesis nula.

Cada uno de los parámetros de la Clasificación de Bryne, tanto originales como recategorizados, fueron testeados con la estadística kappa. Los resultados se presentan a continuación:

*Parámetros Originales*

Concordancia Observada Grado de Queratinización Original				
	A	B	C	D
A				
B	0,639			
C	0,740	0,563		
D	0,152	0,180	0,157	

Concordancia Observada Polimorfismo Nuclear Original				
	A	B	C	D
A				
B	0,770			
C	0,630	0,644		
D	0,166	0,203	0,198	

<b>Concordancia Observada Patrón de Invasión Original</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>				
<b>B</b>	0,880			
<b>C</b>	0,817	0,807		
<b>D</b>	0,337	0,335	0,371	

<b>Concordancia Observada Respuesta del Huésped Original</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>				
<b>B</b>	0,790			
<b>C</b>	0,772	0,737		
<b>D</b>	0,427	0,447	0,497	

*Parámetros Recategorizados*

<b>Concordancia Observada Grado de Queratinización Recategorizado</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>				
<b>B</b>	0,769			
<b>C</b>	0,731	0,698		
<b>D</b>	0,318	0,390	0,390	

<b>Concordancia Observada Polimorfismo Nuclear Recategorizado</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>				
<b>B</b>	0,820			
<b>C</b>	0,762	0,778		
<b>D</b>	0,324	0,293	0,365	

<b>Concordancia Observada Patrón de Invasión Recategorizado</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>				
<b>B</b>	0,966			
<b>C</b>	0,914	0,880		
<b>D</b>	0,536	0,536	0,612	

<b>Concordancia Observada Respuesta del Huésped Recategorizado</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>				
<b>B</b>	0,845			
<b>C</b>	0,845	0,803		
<b>D</b>	0,545	0,561	0,561	

### **Concordancia Intraobservador**

A continuación se presentan las tablas resumen de la concordancia (kappa) entre cada uno de los cuatro observadores involucrados en el estudio y para cada una de las clasificaciones estudiadas.

<b>Concordancia Observada Intraobservador</b>		
	<b>OMS</b>	<b>Bryne Mod.</b>
<b>A</b>	0,604	0,628
<b>B</b>	0,547	0,534
<b>C</b>	0,418	0,550
<b>D</b>	0,573	0,338

Del mismo modo, la relación interobservador para el Valor Total del FIT (VTFIT) en escala numérica continua según la Correlación de Rangos de Spearman ( $r_s$ ) entre cada pareja de observadores, se presenta a continuación. También fue utilizada para medir la significancia estadística de este análisis, la Prueba de  $t$ .

**Hipótesis Nula** ( $H_0$ ) = El valor de  $r_s$  de la muestra es igual a 0 ( $r_s = 0$ )

**Hipótesis Alternativa** ( $H_1$ ) = El valor de  $r_s$  de la muestra no es de 0 ( $r_s \neq 0$ )

## Correlaciones según la Prueba de Correlación de Rangos de Spearman

VTFITA	Coeficiente de correlación	,613(**)
	Sig. (bilateral)	0,001
	N	27
VTFITB	Coeficiente de correlación	,471(*)
	Sig. (bilateral)	,013
	N	27
VTFITC	Coeficiente de correlación	,423(*)
	Sig. (bilateral)	,028
	N	27
VTFITD	Coeficiente de correlación	,511(**)
	Sig. (bilateral)	,006
	N	27

\* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

\*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

Al igual que con la correlación interobservador, la significancia para todos los observadores siempre fue menor de 0,05 de forma bilateral, por tanto se rechaza la hipótesis nula.

Cada uno de los parámetros de la Clasificación de Bryne, tanto originales como recategorizados, fueron testeados con la estadística kappa. Los resultados se presentan a continuación:

Concordancia Observada Parámetros Originales				
	Grado Queratinización	Polimorfismo Nuclear	Patrón de Invasión	Respuesta del Huésped
<b>A</b>	0,396	0,160	0,284	0,596
<b>B</b>	0,057	0,176	0,385	0,628
<b>C</b>	0,227	0,041	0,734	0,758
<b>D</b>	0,499	0,295	0,151	0,164

Concordancia Observada Parámetros Recategorizados				
	Grado Queratinización	Polimorfismo Nuclear	Patrón de Invasión	Respuesta del Huésped
<b>A</b>	0,502	0,403	0,599	0,703
<b>B</b>	0,103	0,120	0,577	0,628
<b>C</b>	0,283	0,033	0,809	0,842
<b>D</b>	0,645	0,400	0,379	0,262

## 2. Asociación con Factores Clínico-Patológicos

Cada uno de los parámetros recategorizados de la Clasificación de Bryne fue asociado con diferentes factores clínico-patológicos de la muestra de pacientes del estudio, según la prueba de Chi Cuadrada. Los resultados que resultaron poseer significancia estadística en este análisis (se rechaza hipótesis de nulidad) y las salidas del programa SPSS se presentan a continuación:

**Hipótesis Nula** ( $H_0$ ) = El parámetro de la clasificación y el factor clínico-patológico son independientes.

**Hipótesis Alternativa** ( $H_1$ ) = El parámetro de la clasificación y el factor clínico-patológico no son independientes.

### Cavidad Oral/Orofaringe

#### Pruebas de chi-cuadrado – Estadio T / Grado de Queratinización

Tabla de contingencia Estadio T \* ReGQ

		ReGQ		Total
		1	2	
Estadio T	1	1	8	9
	2	4	4	8
	3	0	12	12
	4	6	11	17
Total		11	35	46

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	8,785(a)	3	,032	,028		
Corrección por continuidad						
Razón de verosimilitud	11,163	3	,011	,017		
Estadístico exacto de Fisher	8,722			,020		
Asociación lineal por lineal	,420(b)	1	,517	,554	,315	,099
N de casos válidos	46					

a 4 casillas (50,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 1,91.

b El estadístico tipificado es -,648.

Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

#### Pruebas de chi-cuadrado – Tabaco / Grado de Queratinización

Tabla de contingencia Tabaco \* ReGQ

		ReGQ		Total
		1	2	
Tabaco	No	6	7	13
	Si	6	28	34
Total		12	35	47

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4,019(a)	1	,045	,065	,055
Corrección por continuidad	2,660	1	,103		
Razón de verosimilitud	3,769	1	,052	,065	,055
Estadístico exacto de Fisher				,065	,055
Asociación lineal por lineal					
N de casos válidos	47				

a 1 casilla (25,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,32.  
Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

### Pruebas de chi-cuadrado – Estadio T / Polimorfismo Nuclear

Tabla de contingencia Estadio T \* RePN

		RePN		Total
		1	2	
Estadio T	1	5	2	7
	2	7	1	8
	3	3	8	11
	4	6	7	13
Total		21	18	39

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	7,952(a)	3	,047	,051		
Corrección por continuidad						
Razón de verosimilitud	8,595	3	,035	,049		
Estadístico exacto de Fisher	7,695			,054		
Asociación lineal por lineal	3,164(b)	1	,075	,083	,050	,024
N de casos válidos	39					

a 4 casillas (50,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,23.

b El estadístico tipificado es 1,779.

Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

### Pruebas de chi-cuadrado – Tabaco / Respuesta del Huésped

Tabla de contingencia Tabaco \* ReRH

		ReRH		Total
		1	2	
Tabaco	No	10	4	14
	Si	11	21	32
Total		21	25	46

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,389(a)	1	,020	,027	,022
Corrección por continuidad	3,999	1	,046		
Razón de verosimilitud	5,486	1	,019	,027	,022
Estadístico exacto de Fisher				,027	,022
Asociación lineal por lineal					
N de casos válidos	46				

a 0 casillas (0,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 6,39.  
Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

### Laringe/Hipofaringe

#### Pruebas de chi-cuadrado – Estadio N / Polimorfismo Nuclear

Tabla de contingencia Estadio N \* RePN

		RePN		Total
		1	2	
Estadio N	0	16	4	20
	1	3	4	7
	2	2	5	7
	3	0	0	0
Total		21	13	34

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	7,142(a)	2	,028	,030		
Corrección por continuidad						
Razón de verosimilitud	7,281	2	,026	,064		
Estadístico exacto de Fisher	6,975			,038		
Asociación lineal por lineal	6,651(b)	1	,010	,015	,009	,007
N de casos válidos	34					

a 4 casillas (66,7%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2,68.

b El estadístico tipificado es 2,579.

Salida del Programa SPSS para Windows, versión 14.0

### 3. Análisis de Supervivencia Univariable

A continuación se presentan los resultados específicos obtenidos de las salidas del Programa SPSS respecto de la Prueba de Kaplan-Meier para cada una de las clasificaciones, junto a la respectiva prueba de significancia (Prueba de Logaritmo de Rangos)

#### Clasificación Internacional de Tumores de la OMS

Survival Analysis for Meses en el estudio

		Total	Number Events	Number Censored	Percent Censored
Ubicación	Cavidad Oral/Orofaringe	49	26	23	46,94
	OMS BD	10	5	5	50,00
	OMS ID	3	2	1	33,33
	OMS MD	36	19	17	47,22

Ubicación	Laringe/Hipofaringe	42	25	17	40,48
OMS	BD	1	1	0	,00
OMS	MD	41	24	17	41,46

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for OMS in Cavidad Oral/Orofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,52	2	,7704

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for OMS in Laringe/Hipofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,29	1	,5904

### *Bryne – Grado de Queratinización Recategorizado*

Survival Analysis for Meses en el estudio

		Total	Number Events	Number Censored	Percent Censored
Ubicación	Cavidad Oral/Orofaringe	51	27	24	47,06
ReGQ	1	13	7	6	46,15
ReGQ	2	38	20	18	47,37
Ubicación	Laringe/Hipofaringe	35	20	15	42,86
ReGQ	1	5	2	3	60,00
ReGQ	2	30	18	12	40,00

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for ReGQ in Cavidad Oral/Orofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,12	1	,7244

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for ReGQ in Laringe/Hipofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,44	1	,5094

### *Bryne – Polimorfismo Nuclear Recategorizado*

Survival Analysis for Meses en el estudio

		Total	Number Events	Number Censored	Percent Censored
Ubicación	Cavidad Oral/Orofaringe	41	23	18	43,90
RePN	1	23	12	11	47,83
RePN	2	18	11	7	38,89
Ubicación	Laringe/Hipofaringe	36	23	13	36,11
RePN	1	22	12	10	45,45
RePN	2	14	11	3	21,43

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for RePN in Cavidad Oral/Orofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,23	1	,6282

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for RePN in Laringe/Hipofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	3,14	1	,0762

### *Bryne – Patrón de Invasión Recategorizado*

Survival Analysis for Meses en el estudio

		Total	Number Events	Number Censored	Percent Censored
Ubicación	Cavidad Oral/Orofaringe	56	30	26	46,43
	RePI 1	13	6	7	53,85
	RePI 2	43	24	19	44,19
Ubicación	Laringe/Hipofaringe	46	29	17	36,96
	RePI 1	16	6	10	62,50
	RePI 2	30	23	7	23,33

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for RePI in Cavidad Oral/Orofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,40	1	,5291

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for RePI in Laringe/Hipofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	5,85	1	,0156

### *Bryne – Respuesta del Huésped Recategorizado*

Survival Analysis for Meses en el estudio

		Total	Number Events	Number Censored	Percent Censored
Ubicación	Cavidad Oral/Orofaringe	50	27	23	46,00
	ReRH 1	23	11	12	52,17
	ReRH 2	27	16	11	40,74
Ubicación	Laringe/Hipofaringe	44	25	19	43,18
	ReRH 1	14	5	9	64,29
	ReRH 2	30	20	10	33,33

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for ReRH in Cavidad Oral/Orofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,18	1	,6755

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for ReRH in Laringe/Hipofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	3,53	1	,0602

### Bryne – Valor Total del FIT Recategorizado

Survival Analysis for Meses en el estudio

		Total	Number Events	Number Censored	Percent Censored
Ubicación	Cavidad Oral/Orofaringe	38	21	17	44,74
	FITRe 1	16	8	8	50,00
	FITRe 2	22	13	9	40,91
Ubicación	Laringe/Hipofaringe	41	22	19	46,34
	FITRe 1	22	7	15	68,18
	FITRe 2	19	15	4	21,05

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for FITRe in Cavidad Oral/Orofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,03	1	,8684

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for FITRe in Laringe/Hipofaringe

	Statistic	df	Significance
Log Rank	9,99	1	,0016

## 4. Análisis de Supervivencia Multivariable

A continuación se presentan los resultados para el método por pasos hacia adelante (wald) del Modelo de Peligro Proporcional de Cox (salidas del programa SPSS para Windows 14.0):

### Pruebas omnibus sobre los coeficientes del modelo

Paso	-2 log de la verosimilitud	Global (puntuación)			Cambio desde el paso anterior			Cambio desde el bloque anterior		
		Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
1(a)	589,224	13,626	2	,001	19,274	2	,000	19,274	2	,000

a Variables introducidas en el paso número 1: Estadio T

### Variabes en la ecuación

		B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1	Estadio T			9,498	2	,009	
	Nombre de variable Estadio_T(2)	-2,115	,722	8,589	1	,003	,121
	Nombre de variable Estadio_T(3-4)	,193	,287	,451	1	,502	1,212

Categoría de Referencia T(1)