



Universidad de Oviedo

PROGRAMA OFICIAL DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Título de la tesis:

**SIGNIFICACIÓN CLÍNICA DE LOS MARCADORES INFLAMATORIOS
SISTÉMICOS EN EL PREOPERATORIO DE PACIENTES CON CARCINOMA
ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS, Y SU RELACIÓN CON EL
MICROAMBIENTE TUMORAL.**

Nombre del autor:

Marta Ruiz Ranz

2023



1. Título de la tesis doctoral	
Español: <i>Significación clínica de los marcadores inflamatorios sistémicos en el preoperatorio de pacientes con carcinoma oral de células escamosas, y su relación con el microambiente tumoral.</i>	Inglés: <i>Clinical significance of pretreatment systemic inflammatory markers in oral squamous cell carcinoma, and their relationship with the tumor microenvironment.</i>
2. Autor	
Apellidos: Ruiz Ranz Nombre: Marta	
Programa de doctorado: RECONSTRUCCIÓN MAXILOFACIAL MEDIANTE TÉCNICAS DE INGENIERÍA TISULAR Y MICROCIURUGÍA - INVESTIGACIÓN, DESARROLLO E INNOVACIÓN EN ORTODONCIA Y BIOINGENIERÍA	
Órgano responsable: Centro Internacional de Postgrado	

3. Resumen (español)Introducción:

El cáncer de cabeza y cuello es el sexto cáncer más común en todo el mundo. Alrededor del 90% de los cánceres de cabeza y cuello son carcinomas de células escamosas y más de la mitad se localizan en la cavidad oral. A pesar de los avances en el tratamiento, prevención y comprensión de la biología de la enfermedad, los pacientes con carcinoma de células escamosas de cavidad oral (OSCC) continúan presentando una elevada mortalidad. La inflamación crónica ha sido relacionada tradicionalmente con la carcinogénesis y, actualmente, es considerada como una de las principales *hallmarks* del cáncer. Se ha planteado la hipótesis de que la inflamación local está relacionada con la inflamación a nivel sistémico, y que esta puede ser fácilmente determinada mediante una cuantificación de los parámetros en sangre periférica obtenidos por medio de un análisis de sangre. Para ello se han utilizado cocientes como el índice neutrófilos-linfocitos (NLR), el índice de plaquetas-linfocitos (PLR), el índice de linfocitos-monocitos (LMR) y el índice de inmunidad-inflamación sistémica (SII), como herramientas para ofrecer información pronóstica en pacientes cáncer. En cuanto al microambiente tumoral (TME), las células tumorales reprograman las células estromales próximas, desencadenando una respuesta inflamatoria con reclutamiento de diferentes tipos de células del sistema inmunitario, quienes a su vez facilitan la progresión tumoral. Entre las células inmunes asociadas con este microambiente tumoral, el papel de los macrófagos ha sido ampliamente reconocidos por participar en la invasión del tejido sano circundante, la proliferación y supervivencia, así como las metástasis locales y a distancia.

Objetivo:

El objetivo de esta tesis doctoral es evaluar la asociación del índice neutrófilos-linfocitos (NLR), índice plaquetas-linfocitos (PLR), índice linfocitos-monocitos (LMR), y del índice de inmunidad-inflamación sistémica (SII) con la supervivencia global (OS) y la supervivencia específica por cáncer (DSS) en pacientes con OSCC. De igual modo, se pretende determinar la correlación entre estos marcadores inflamatorios en sangre periférica con el infiltrado de macrófagos, linfocitos T y linfocitos B en el microambiente tumoral (TME).

Método:

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo de 348 pacientes con OSCC. Se incluyeron todos los casos de pacientes con OSCC tratados con cirugía en el Hospital Universitario Central de Asturias, entre enero de 1996 y noviembre de 2007. Las variables clínicas y patológicas que se incluyeron fueron edad, sexo, índice de masa corporal, tabaco, consumo de alcohol, localización del tumor primario, ganglios cervicales, estadio clínico y grado de diferenciación histológica. De estos, a 119 pacientes se les realizó un estudio inmunohistoquímico para determinar el número de linfocitos y macrófagos en el microambiente tumoral mediante los anticuerpos anti-CD4, CD8, FoxP3, CD20, CD68 y CD163.

Resultados:

Valores altos del NLR y SII, se asociaron significativamente con un mayor tamaño tumoral y estadios de TNM avanzados. No encontrando la misma asociación en el caso de LMR ni PLR. En el análisis univariable, tanto el NLR, LMR y el SII, se asociaron significativamente con la OS. Mientras que, solo el NLR permanecía como un factor predictor independiente en el análisis multivariable. Se observaron correlaciones significativas negativas entre NLR y el SII con la expresión estromal de los marcadores CD8+, CD4+ y CD20+. Asimismo, se observó una correlación significativa entre LMR y la expresión estromal de CD8+, CD4+, CD20+, CD68+ y CD163+, así como la expresión tumoral de linfocitos CD4+ y CD20+.

Conclusión:

Los índices preoperatorios de NLR, SII y LMR pueden servir como marcadores útiles para predecir la supervivencia de pacientes con OSCC, siendo el NLR un predictor independiente de mal pronóstico. Encontrando únicamente relación de estos parámetros inflamatorios sistémicos con la infiltración estromal de linfocitos en TME.

4. Resumen (inglés)

Introduction:

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the sixth most common cancer worldwide. About 90% of head and neck cancers are squamous cell carcinomas, and more than half of them are located in the oral cavity. Despite advances in treatment and prevention, patients with OSCC continue to have a high rate of mortality.

Chronic inflammation has traditionally been linked to carcinogenesis, and nowadays it is recognized as one of the hallmarks of cancer. Moreover, it has been hypothesized that local inflammatory conditions lead to a systemic inflammatory state that could be measured through peripheral blood markers. To this end, ratios such as neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR), lymphocyte-monocyte ratio (LMR) and the systemic inflammation-immunity index (SII) have been proposed as a joint tool to offer helpful prognostic information in patients with cancer.

Regarding the tumor microenvironment (TME), tumor cells reprogram surrounding stromal cells, leading to an inflammatory response with expansion and recruitment of different immune cells to support cancer progression. Among the immune cells associated with this TME the role of macrophages has been widely recognized.

Objective:

The aim of this doctoral thesis is to assess the association of NLR, PLR, LMR, and SII with overall (OS) and disease-specific (DSS) survival in patients with OSCC. Additionally, to determine the correlation between these inflammatory markers in peripheral blood with the infiltrate of macrophages, T and B lymphocytes in the tumor microenvironment (TME).

Method:

A retrospective study was conducted with 348 patients with oral cancer, treated by surgery between January 1996 and November 2007 at the Hospital Universitario Central de Asturias. Clinical and pathological characteristics included age, gender, body mass index, smoking and drinking habits, tumor location, neck node, clinical stages and histological grade of

differentiation. In a subset of 119 patients an immunohistochemical study was performed to determine lymphocytes and macrophages in the TME. The antibodies anti-CD4, CD8, FoxP3, CD20, CD68, and CD163, were used.

Results:

High NLR and SII, but neither LMR nor PLR were significantly associated with larger tumor size and higher TNM stage. A significant association was found between NLR, SII, and LMR with OS in univariate analysis, while in a multivariate analysis only NLR remained as a significant factor. Negative significant correlations were observed between NLR and SII with stromal expression of CD8+, CD4+, and CD20+ markers. Furthermore, a significant correlation was found between LMR and stromal expression of CD8+, CD4+, CD20+, CD68+ and CD163+, as well as tumoral expression of CD4+ and CD20+ lymphocytes.

Conclusion:

Preoperative NLR, SII, and LMR may serve as valuable markers to predict the survival of patients with OSCC, with NLR emerging as an independent predictor of poor OS. Moreover, strong significant correlations were exclusively observed between systemic inflammatory markers and the local stromal infiltration of lymphocytes in the TME.



Universidad de Oviedo

PROGRAMA OFICIAL DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Título de la tesis:

**SIGNIFICACIÓN CLÍNICA DE LOS MARCADORES INFLAMATORIOS
SISTÉMICOS EN EL PREOPERATORIO DE PACIENTES CON CARCINOMA
ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS, Y SU RELACIÓN CON EL
MICROAMBIENTE TUMORAL.**

Nombre del autor:

Marta Ruiz Ranz

2023

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría transmitir mi agradecimiento a los dos directores de mi tesis doctoral.

En primer lugar, al profesor Dr. Juan Carlos de Vicente Rodríguez, por dejarme participar en el proyecto de investigación del que deriva este trabajo y depositar en mí su confianza para llevarlo a cabo. Por transmitirnos desde el principio su interés por la investigación científica, además de por su paciencia, ayuda y apoyo, no solo en relación con el proyecto de investigación en sí, sino también en el día a día en el hospital.

En segundo lugar, a la Dra. Paloma Lequerica Fernández por su ayuda, amabilidad y dedicación a lo largo de este proyecto.

Agradecer también su colaboración y participación, a todos mis compañeros del Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario Central de Asturias. Especialmente a la Dra. Tania Rodríguez Santamarta por su apoyo constante, atención y paciencia, además de por ser siempre una guía tanto durante la realización de la tesis doctoral como a nivel laboral en el hospital. Al resto de médicos adjuntos del servicio por ser una fuente de conocimientos constante y por su importante aportación en mi formación a lo largo de mis años de residencia. A los médicos residentes que me han acompañado durante los últimos años por su amistad y compañía en este camino.

Y, por último, agradecer a mi familia, amigos y a mi pareja por su apoyo incondicional a lo largo de los años.

LISTADO DE ABREVIATURAS

- SCC: carcinoma de células escamosas, por sus siglas en inglés *squamous cell carcinoma*.
- OSCC: carcinoma oral de células escamosas, por sus siglas en inglés *oral squamous cell carcinoma*.
- WHO: Organización Mundial de la Salud, por sus siglas en inglés *World Health Organization*.
- HPV: virus del papiloma humano, por sus siglas en inglés *Human Papillomavirus*.
- HNSCC: carcinoma escamoso de cabeza y cuello, por sus siglas en inglés *head and neck squamous cell carcinoma*.
- VEB: virus de Epstein-Barr.
- VHS: virus de herpes simples.
- VIH: virus de la inmunodeficiencia humana, por sus siglas en inglés *human immunodeficiency virus*.
- DNA: ácido desoxirribonucleico, por sus siglas en inglés *deoxyribonucleic acid*.
- mRNA: ácido ribonucleico mensajero, por sus siglas en inglés *ribonucleic acid messenger*.
- CT: tomografía computarizada, por sus siglas en inglés *computerized tomography*.
- MRI: resonancia magnética, por sus siglas en inglés *magnetic resonance imaging*.
- PET-TC: tomografía por emisión de positrones - tomografía computarizada, por sus siglas en inglés *positron emission tomography – computerized tomography*.

- NCCN: por sus siglas en inglés *National Comprehensive Cancer Network*.
- RT: radioterapia.
- QT: quimioterapia.
- QRT: quimio-radioterapia.
- SLNB: técnica de ganglio centinela, por sus siglas en inglés *sentinel lymph node biopsy*.
- Gy: Gray.
- 5 - FU: 5 – fluoracilo.
- Ig: inmunoglobulina.
- EGFR: receptor del factor del crecimiento epidérmico, por sus siglas en inglés *epidermal growth factor receptor*.
- EGF: factor de crecimiento epidérmico, por sus siglas en inglés *epidermal growth factor*.
- PD-L1: ligando 1 de muerte programada, por sus siglas en inglés *programmed death – ligand 1*.
- PD-L2: ligando 2 de muerte programada, por sus siglas en inglés *programmed death – ligand 2*.
- PD-1: molécula de muerte programada 1, por sus siglas en inglés *programmed cell death protein*.
- VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular, por sus siglas en inglés *vascular endothelial growth factor*.
- CDK4/6: quinasas dependientes de ciclina 4 y 6.
- OS: supervivencia global, por sus siglas en inglés *overall survival*.
- DSS: supervivencia específica por enfermedad, por sus siglas en inglés *disease specific survival*.
- AJCC: por sus siglas en inglés, *American Joint Committee on Cancer*.

- DOI: profundidad de invasión, por sus siglas en inglés *Depth of invasión*.
- PNI: invasión perineural, por sus siglas en inglés *perineural invasión*.
- LVI: invasión linfovascular, por sus siglas en inglés *linfovascular invasión*.
- ENE: invasión extracapsular, por sus siglas en inglés *extranodal extensión*.
- ENEmi: invasión extracapsular menor, por sus siglas en inglés *minor extranodal extensión*.
- ENEma: invasión extracapsular mayor, por sus siglas en inglés *mayor extranodal extensión*.
- MALT: tejido linfoide asociado a mucosas, por sus siglas en inglés *mucosa associated lymphoid tissue*.
- VHC: virus de la hepatitis C.
- VHB: virus de la hepatitis B.
- MHC: complejo mayor de histocompatibilidad, por sus siglas en inglés *major histocompatibility complex*.
- TME: microambiente tumoral, por sus siglas en inglés *tumor microenvironment*.
- Células NK: células *Natural Killer*.
- TNF: factor de necrosis tumoral, por sus siglas en inglés *tumor necrosis factor*.
- IL: interleuquina, por sus siglas en inglés *interleukine*.
- TGF: factor de crecimiento transformante, por sus siglas en inglés *transforming growth factor*.
- MATs o TAMs: macrófagos asociados a tumores, por sus siglas en inglés *tumor associated macrophages*.

- CSF: factor estimulante de colonias, por sus siglas en inglés *colony stimulating factor*.
- GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, por sus siglas en inglés *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*.
- MSP: proteína estimuladora de macrófagos, por sus siglas en inglés *macrophage stimulating protein*.
- CCL: ligando de quimioquinas, por sus siglas en inglés *chemokine ligand*.
- MIF: factor inhibidor de la migración de los macrófagos, por sus siglas en inglés *macrophage migration inhibitory factor*.
- CXC-L: ligando de la quimiocina con motivo C-X-C, por sus siglas en inglés *C-X-C motif chemokine ligand*.
- iNOS: óxido nítrico sintasa inducible, por sus siglas en inglés *inducible nitric oxide synthase*.
- HLA: antígenos leucocitarios humanos, por sus siglas en inglés *human leukocyte antigen*.
- HLA-DR: antígenos leucocitarios humanos isotipo DR, por sus siglas en inglés *human leukocyte antigen – DR isotype*.
- PD-1/PD-L1: receptor de muerte programada 1/ligando de muerte programada 1, por sus siglas en inglés *programmed death receptor 1/programmed death ligand 1*.
- SIRP α : proteína reguladora de señal alfa, por sus siglas en inglés *signal regulatory protein α* .
- PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas, por sus siglas en inglés *platelet derived growth factor*.

- FGF: factor de crecimiento de fibroblastos, por sus siglas en inglés *fibroblast growth factor*.
- uPA: activador del plasminógeno tipo uroquinasa, por sus siglas en inglés *urokinase-type plasminogen activator*.
- MMPs: metaloproteinasas de la matriz extracelular, por sus siglas en inglés *matrix metalloproteinases*.
- Antígenos CD: grupos de diferenciación de antígenos, por sus siglas en inglés *clusters of differentiation*.
- TANs: neutrófilos asociados a tumores, por sus siglas en inglés *tumor associated neutrophils*.
- TILs: linfocitos asociados a tumores, por sus siglas en inglés *tumor infiltrating lymphocytes*.
- Treg: linfocitos T reguladores.
- FOXP3: proteína P3 de la Forkhead box, por sus siglas en inglés *forkhead box protein 3*.
- TCR: receptor de células T, por sus siglas en inglés *T-cell receptor*.
- NLR: índice de neutrófilos-linfocitos, por sus siglas en inglés *neutrophil-lymphocyte ratio*.
- PLR: índice de plaquetas-linfocitos, por sus siglas en inglés *platelet-lymphocyte ratio*.
- LMR: índice de linfocitos-monocitos, por sus siglas en inglés *lymphocyte-monocyte ratio*.
- SII: índice de inmunidad-inflamación sistémica, por sus siglas en inglés *systemic immune-inflammation index*.
- FiPLA: algoritmo de fibrinógeno-índice plaquetas-linfocitos, por sus siglas en inglés *fibrinogen-PLR algorithm*.

- SIRI: índice de respuesta inflamatoria sistémica, por sus siglas en inglés *systemic inflammation response index*.
- SIS: índice sistémico de inflamación, por sus siglas en inglés, *systemic inflammation score*.
- IMC: índice de masa corporal.
- Curva de ROC: por sus siglas en inglés, *receiver operating characteristic*.
- HR: por sus siglas en inglés, *Hazard Ratios*.
- SD: desviación estándar, por sus siglas en inglés *standard deviation*.
- AUC: área bajo la curva, por sus siglas en inglés *area under the curve*.
- INF: interferón.
- PCR: proteína C reactiva.
- CTCs: células tumorales circulantes, por sus siglas en inglés *circulating tumor cells*.
- LIF: factor inhibidor de la leucemia, por sus siglas en inglés *leukemia inhibitory factor*.
- MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos 1, por sus siglas en inglés *monocyte chemoattractant protein 1*.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación y estadiaje según la 8th edición de la clasificación del TNM de tumores malignos (AJCC).

Tabla 2. Características clínicas y patológicas de la cohorte de 348 pacientes seleccionados con OSCC.

Tabla 3. Marcadores inflamatorios en 275 pacientes con OSCC.

Tabla 4. Ratios calculados para los 275 pacientes con OSCC. NLR, SII, LMR y PLR.

Tabla 5. Relación entre las variables clínicas y el ratio NLR, SII, LMR y PLR en la cohorte de 348 pacientes con OSCC. * Coeficiente de correlación de Pearson.

Tabla 6. Relación entre las variables histopatológicas y el ratio NLR, SII, LMR y PLR en la cohorte de 348 pacientes con OSCC. * Coeficiente de correlación de Pearson.

Tabla 7. Análisis univariable de Cox de supervivencia global y específica por enfermedad de 348 pacientes con OSCC.

Tabla 8. Análisis de Cox multivariable de la supervivencia global y específica de cáncer en los 348 pacientes con OSCC.

Tabla 9. Análisis de regresión de Cox univariable de la supervivencia global y específica por enfermedad en el subgrupo de paciente con OSCC que recibieron radioterapia postoperatoria (184).

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia mundial del OSCC en ambos sexos y todas las edades.

Figura 2. Aspecto clínico de dos carcinomas escamosos linguales en dos pacientes. A) Lesión úlcerada de 15x10mm en borde lateral lingual izquierdo. B) Lesión con aspecto exofítico de 35x25mm en borde lateral lingual izquierdo.

Figura 3. Imagen en CT de paciente con un carcinoma escamoso oral con adenopatías cervicales sugestivas de malignidad en niveles Ib, IIa y IIb izquierdos.

Figura 4. Niveles de ganglios linfáticos cervicales. Tomada del libro Cirugía Oral y Maxilofacial. Atlas de procedimientos y técnicas quirúrgicas.

Figura 5. Medición de DOI. Tomada de *Lydiatt et al.*

Figura 6. Inflamación como una de las siete características distintivas del cáncer.

Figura 7. Fenotipos y funciones de macrófagos M1 y M2. Tomada de *Evrard et al.*

Figura 8. Ratios inflamatorios: el índice neutrófilos-linfocitos (NLR, por sus siglas en inglés *neutrophil-lymphocyte ratio*), el índice de plaquetas-linfocitos (PLR, por sus siglas en inglés *platelet-lymphocyte ratio*), el índice de linfocitos-monocitos (LMR, por sus siglas en inglés *lymphocyte-monocyte ratio*) y el índice de inmunidad-inflamación sistémica (SII, por sus siglas en inglés *systemic immune-inflammation index*).

Figura 9. Localización del tumor primario en pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral.

Figura 10. Valores de NLR en función de estadio tumoral según la AJCC 8ª edición.

Figura 11. Valores de SII en función de estadio tumoral según la AJCC 8ª edición.

Figura 12. Correlación entre TILs CD8+ con los ratios NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Pearson. * Significación estadística (<0,05).

Figura 13. Correlación entre TILs CD4+ con los ratios NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Pearson. * Significación estadística (<0,05).

Figura 14. Correlación entre TILsFOXP3+ con los ratios NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Pearson. * Significación estadística (<0,05).

Figura 15. Correlación entre TILsCD20+ con los ratios NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Pearson. * Significación estadística (<0,05).

Figura 16. Correlación entre MATs CD68+ y CD163+ con los ratios NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Pearson. * Significación estadística (<0,05).

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	6
LISTADO DE ABREVIATURAS.....	8
LISTADO DE TABLAS.....	15
LISTADO DE FIGURAS.....	17
TABLA DE CONTENIDO.....	20
1. Introducción.....	23
MARCO TEÓRICO.....	24
EPIDEMIOLOGÍA.....	24
ETIOLOGÍA.....	27
DIAGNÓSTICO.....	33
ESTADIAJE.....	39
TRATAMIENTO.....	42
PRONÓSTICO.....	52
INMUNIDAD, INFLAMACIÓN Y CÁNCER.....	61
2. Hipótesis y objetivos.....	81
HIPÓTESIS.....	82
OBJETIVOS.....	83
3. Pacientes y método.....	85
PACIENTES Y MÉTODO.....	86
Selección de pacientes.....	86
Variables clínico-patológicas analizadas.....	88
Determinación de células sanguíneas.....	90
Muestras histológicas y análisis inmunohistoquímico.....	92
Análisis estadístico.....	94
4. Resultados.....	97
RESULTADOS.....	98
Variables clínicas.....	98
Asociación entre NLR, PLR, LMR, SII y las variables clínico- patológicas.....	104
Determinación de los valores de corte y la asociación pronóstica del NLR, PLR, LMR, SII.....	108

Análisis de correlación de NLR, PLR, LMR y SII con el infiltrado de células inmunitarias en el microambiente tumoral.....	115
5. Discusión.....	122
DISCUSIÓN.....	123
Asociación pronóstica del NLR con el OSCC.....	123
Asociación pronóstica del PLR con el OSCC.....	128
Asociación pronóstica del LMR con el OSCC.....	132
Asociación pronóstica del SII con el OSCC.....	135
Asociación pronóstica de NLR, PLR, LMR y SII con el infiltrado de células inmunitarias en el microambiente tumoral en OSCC.....	138
Determinación de los valores de corte de NLR, PLR, LMR y SII.....	142
6. Conclusiones.....	146
CONCLUSIONES.....	147
7. Referencias bibliográficas.....	150
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	151
Anexo 1. Artículos publicados.....	170

INTRODUCCIÓN

MARCO TEÓRICO

CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS (OSCC)

El cáncer oral se define como el conjunto de neoplasias malignas que se desarrollan a partir de la mucosa labial, mucosa yugal, suelo oral, cresta alveolar y gingival, dos tercios anteriores de lengua, trígono retromolar y paladar duro (1) (2).

Los carcinomas de células escamosas (SCC) suponen el 90% de los tumores orales y de orofaringe (1), siendo el carcinoma oral de células escamosas (OSCC, por sus siglas en inglés *oral squamous cell carcinoma*) el tumor más frecuente de los tumores de cabeza y cuello (1).

EPIDEMIOLOGÍA

El OSCC es el octavo cáncer más frecuente, caracterizado por una alta mortalidad y por su importante afectación sobre la calidad de vida de los pacientes, debido a sus posibles secuelas tanto estéticas como funcionales. En 2018, el OSCC era responsable del 2% de todos los cánceres y de un 1,9% de las muertes asociadas al cáncer (3). Las tasas de incidencia y mortalidad varían a nivel mundial, y son más altas en los países en desarrollo, en particular en la India y otros países del sudeste y este asiáticos (4). El cáncer oral presenta una incidencia a nivel mundial de 377.713 nuevos casos en 2020 (3). Según la Organización Mundial de la Salud (*WHO*, por sus siglas en inglés *World Health Organization*), la incidencia se estima en 4,6 por 100.000 habitantes en Europa, siendo de hasta 6,4 por 100.000 habitantes en el sudeste asiático (1). La alta incidencia en países asiáticos se atribuye al hábito cultural de consumir

tabaco mascado, especialmente la mezcla de betel (4). En muchas regiones se observa una tendencia hacia la disminución o estabilización de la incidencia del OSCC (Canadá, Australia, Bulgaria, Croacia, Eslovenia, Países Bajos, Francia y Alemania), mientras que otros presentan una importante tendencia creciente (Finlandia, Islandia e Irlanda) (1).

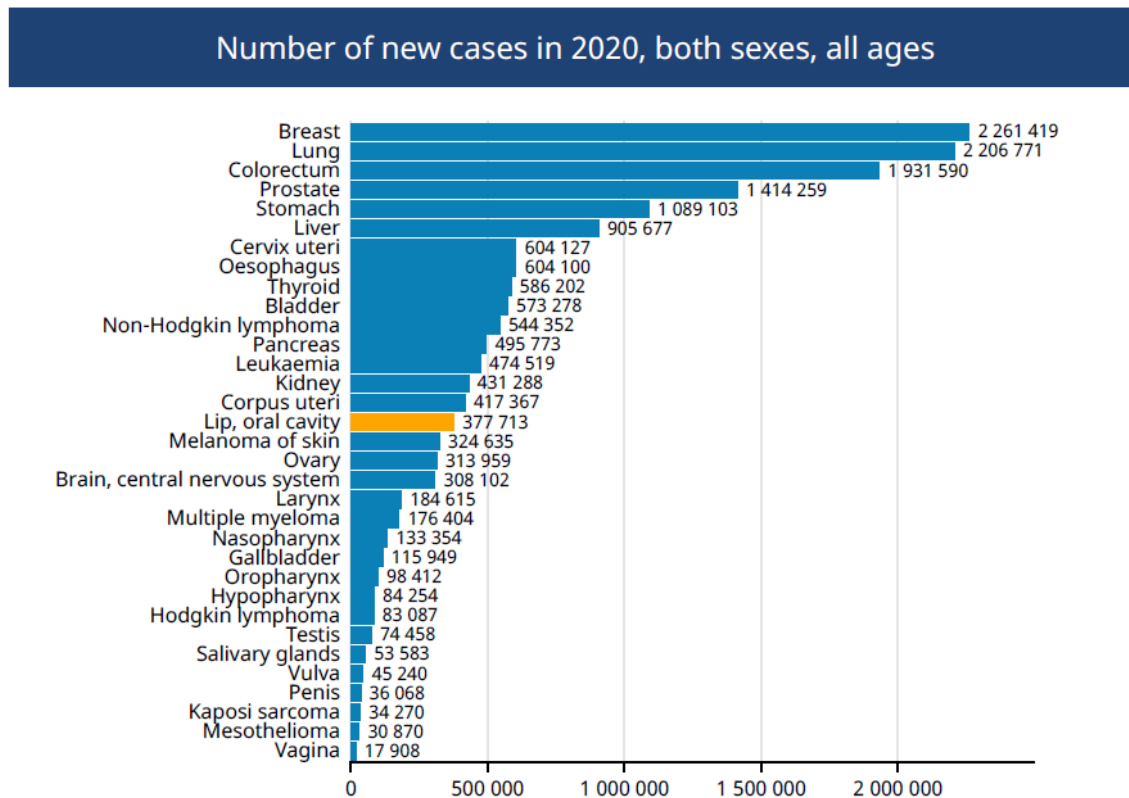


Figura 1. Incidencia mundial del OSCC en ambos sexos y todas las edades (5).

Actualmente, la incidencia desglosada por sexos a nivel mundial se estima en 6,0 por 100.000 en varones y 2,3 por 100.000 en mujeres, siendo en el centro y oeste de Europa de 9,2 por 100.000 en varones y 1,9 por 100.000 en mujeres (5). Se observa un incremento progresivo de la incidencia del cáncer oral en Europa desglosado por sexos, concretamente en un 26% en los varones y en un 30% en mujeres desde 1999 hasta 2010 (6). La incidencia continúa siendo menor en este último grupo, aunque se

está observando una tendencia al equilibrio entre ambos sexos debido al mayor consumo de tabaco y alcohol por parte de las mujeres (6).

Más del 90% de los pacientes con cáncer oral son mayores de 45 años, siendo la edad media de presentación alrededor de los 60 años (7). La incidencia del cáncer de lengua en adultos de 20 a 44 años de edad se ha incrementado en mujeres y disminuido en varones, siendo la asociación del tabaco y el alcohol en OSCC menor en estas franjas de edad que en adultos mayores (1). Esto se puede explicar por el virus del papiloma humano (HPV, por sus siglas en inglés *human papillomavirus*) que ha surgido como un factor etiológico importante en las últimas décadas, sobre todo pacientes jóvenes en Europa (2).

A pesar de los avances en el tratamiento, el OSCC continúa presentando una elevada mortalidad. Desde 1990 a 2011, la supervivencia a los 5 años se ha incrementado desde un 59% a un 70% (2). En las últimas estadísticas del cáncer oral (GLOBOCAN, 2020) la mortalidad global se estima en 177.757 casos en 2020 (1,9 por 100.000) (5). Concretamente en Europa, 24.575 muertes en 2020, comparado con otras regiones como Asia que presentan una mortalidad de 131.610 en 2020 (5).

Además, se ha visto que pacientes con OSCC tienen mayor incidencia de segundos primarios en la misma cavidad oral, con una incidencia que ronda desde el 15 al 37% (8).

ETIOLOGÍA

El riesgo de desarrollo del OSCC surge de la combinación de aspectos genéticos, ambientales y hábitos sociales, siendo por tanto su patogenia multifactorial. Si bien el tabaco y el alcohol han sido reconocidos como los factores de riesgo más importantes, existen otros muchos como el betel, el HPV, la dieta, etc. y otros menos reconocidos o controvertidos, como la candidiasis, la enfermedad periodontal o la irritación mecánica crónica (9). Podemos distinguir entre factores intrínsecos y factores extrínsecos. Los primeros como la edad, el sexo o los factores genéticos, son imposibles de controlar, pero los segundos (factores de riesgo modificables) se consideran los principales y más importantes, y están asociados al estilo de vida elegido por el paciente.

Tabaco

El consumo de tabaco continúa siendo el mayor factor de riesgo para desarrollar OSCC. La forma más común de tabaco es el consumo de cigarrillos (por combustión), pero existen otras formas de consumo como el tabaco mascado (1). A pesar de que el consumo de tabaco se ha estabilizado o incluso disminuido en países desarrollados, se ha observado un incremento de su consumo en países en vías de desarrollo, donde reside actualmente casi el 80% de los mil millones de fumadores del mundo (1). Un metaanálisis realizado por *Gandini et al.* (10) establecieron un riesgo relativo de 3,43 para OSCC en pacientes fumadores frente a pacientes no fumadores. El riesgo asociado al tabaco parece ser dosis dependiente y se correlaciona con el consumo acumulativo de cigarrillos (11). El riesgo de OSCC decrece relativamente rápido tras dejar de fumar,

con riesgos relativos similares a los no fumadores después de 10 años o más (11).

Alcohol

El alcohol también es considerado como uno de los principales factores de riesgo del OSCC, aunque su relación directa con el cáncer a veces pueda ser difícil de establecer debido a la frecuente asociación con otros factores de riesgo como el tabaco. La mayoría de los estudios coinciden en la existencia de un riesgo incrementado de OSCC en pacientes con consumo “perjudicial” de alcohol (definido como el superior a 60 gramos por día), que puede ir desde 4,1 a 8,8 veces más, considerándose como un factor de riesgo independiente, con una fuerte asociación y una relación dosis-dependiente al igual que el tabaco (12). Además, hay que tener en cuenta que el consumo de alcohol incrementa el riesgo de segundos primarios en carcinomas de cabeza y cuello (12). El mecanismo de carcinogénesis subyacente no está claro, a pesar de que se han propuesto numerosas teorías, basadas en hechos bien conocidos. El etanol se metaboliza en acetaldehído tanto en las células epiteliales como en la microflora, que es un conocido carcinógeno (1). La desnutrición asociada al alcoholismo crónico puede ser que contribuya a incrementar el riesgo de los carcinomas escamosos de cabeza y cuello (HNSCC, por sus siglas en inglés *head and neck squamous cell carcinoma*) (12).

Interacción entre el tabaco y el alcohol

El consumo combinado de alcohol y tabaco, presentan un efecto sinérgico, con riesgos relativos en HNSCC de hasta 15 veces más que aquellos no fumadores y bebedores (1) (2).

Mezcla de Betel

Es una mezcla de la nuez de areca, con hoja de betel y cal de conchas, mezclado con tabaco y aderezado con ingredientes locales, que se masca o simplemente se deja en la cavidad oral en contacto con la mucosa, típico en el sudeste y sur de Asia. Tradicionalmente, se ha atribuido el incremento del riesgo de padecer cáncer oral en estos pacientes al tabaco que acompaña al betel, pero recientemente se ha probado el efecto carcinogénico del betel (1) (13), presentando un incremento del riesgo en función de la duración y frecuencia de consumo. La magnitud del efecto es mayor cuando se asocia el tabaco a la mezcla de betel (RR 7,74) frente a la mezcla de betel sin tabaco (RR 2,56), alcanzando riesgos más altos en determinadas zonas de Taiwan (RR 10,98) (13). El riesgo de desarrollar OSCC es mayor si se asocia el consumo de betel al consumo de tabaco y alcohol, hecho muy frecuente en el sureste asiático, donde aproximadamente el 75% de los varones con OSCC tienen historia de combinación de estos tres factores de riesgo (1).

HPV

En las últimas décadas, se ha investigado sobre la relación del HPV con el HNSCC, estudiando su implicación como factor de riesgo (1) (8) (14).

Se ha descrito en la literatura un aumento exponencial de casos debido al VPH, pudiendo atribuirse a los cambios en la conducta sexual, que incluye mayor número de parejas sexuales (1). El HPV se ha relacionado, sobre todo, con el carcinoma de orofaringe, especialmente a nivel de la base de la lengua, siendo el causante en menor medida de los carcinomas localizados en la cavidad oral (1). Es difícil establecer la cifra exacta de los OSCC relacionados con el HPV, debido al resto de factores de riesgo asociados, y a las limitaciones y heterogeneidad de los diferentes estudios publicados, pero se estima en un 7% - 16% (1). Más de 130 tipos de HPV se han identificado en las secuencias de DNA, de los cuales aproximadamente 40 son virus de mucosa, diferenciando entre los genotipos de bajo y alto riesgo, dependiendo de su potencial de malignización (8). Específicamente, el genotipo HPV-16, de alto riesgo, es el causante de la gran mayoría de estos tumores OSCC VPH positivos (90-95%) (1) (14). Para su detección, se utilizan diferentes métodos como la PCR para la cuantificación del DNA HPV, la identificación mediante técnicas de hibridación de mRNA de los oncogenes virales E6/E7 implicados en el proceso oncogénico del virus, o la detección del p16 mediante técnicas de inmunohistoquímica (8) (14).

Microorganismos

Se ha sugerido que varios tipos de infecciones pueden jugar un papel etiológico potencialmente relevante en el cáncer oral, bien sean bacterias, hongos como la candidiasis crónica, o víricas como el HPV previamente mencionado (1).

Algunos estudios han demostrado diferencias en la microbiota oral entre pacientes con OSCC y pacientes sanos. A pesar de ello, no está claro si dichas diferencias en la microbiota juega un papel directo en la carcinogénesis o simplemente refleja una forma de adaptación de dichos microorganismos al microambiente tumoral (1) (15). Esto se puede explicar ya que numerosas bacterias de la cavidad oral pueden metabolizar el alcohol a acetaldehído, el cual es un carcinógeno conocido (15). En el pasado, se asociaba la sífilis como posible factor predisponente, pero probablemente se debiera únicamente a la presencia simultánea de otros factores de riesgo como el tabaco y el alcohol (15).

Otros, sugieren una asociación entre el cáncer oral con la pobre higiene oral, con las caries dentales y con la periodontitis crónica (1) (15).

Pacientes con enfermedad periodontal pueden tener hasta 2,6 veces más riesgo de carcinomas de cabeza y cuello, y aquellos con ausencia de 6 o más dientes, un incremento del 60% de este tipo de cánceres, cuyo riesgo sigue incrementando con cada pérdida dentaria (15).

En cuanto a los hongos, podrían estar involucrados en la leucoplasia oral y en los cambios displásicos, por el mismo mecanismo de conversión del etanol al acetaldehído, además de por la producción de nitrosaminas por algunos hongos como la *Cándida* (16). Se ha estimado que hasta el 40% de las candidiasis hiperplásicas crónicas podrían evolucionar a OSCC, pero esto podría estar sesgado ya que estos pacientes suelen estar inmunodeprimidos (15).

Se ha descrito en la literatura la posible asociación del HNSCC con virus como el virus del Epstein-Barr (VEB) y el virus del herpes simple (VHS) (15). Los estudios del OSCC en general no incluyen el VEB como

factor de riesgo, relacionándose únicamente con el cáncer de nasofaringe (15). En relación con el VHS se ha asociado sobre todo con el cáncer de labio, pero ha perdido importancia a lo largo de los últimos años por la prevalencia del HPV (15). EL HIV (por sus siglas en inglés, *human immunodeficiency virus*) también se ha relacionado con dos veces más riesgo de desarrollar cánceres como el de la cavidad oral (15).

Otros factores de riesgo

Existen numerosos factores de riesgo del OSCC descritos en la literatura, pero estos carecen de evidencia suficiente para ser considerados como tales. Entre ellos encontramos enfermedades como la diabetes o el lupus discoide eritematoso; enfermedades hereditarias como la anemia de Fanconi o la disqueratoris congénita; una dieta pobre en frutas y verduras, y rica en carne animal; el déficit de minerales o vitaminas como la A,C o D; y determinados fármacos inmunosupresores o fármacos antihipertensivos, como la hidroclorotiazida (1) (15). Además, se han asociado determinadas profesiones con un mayor riesgo de HNSCC por exposición a sustancias como el formaldehído, al asbesto, a determinados tintes, disolventes o pesticidas, o a la exposición prolongada a humo de combustibles, no estando clara dicha asociación en el caso del OSCC (17) (18). Con respecto al traumatismo crónico en la mucosa oral, como por ejemplo una prótesis mal ajustada, puede estar relacionado con un mayor riesgo de desarrollar carcinomas orales por la inflamación crónica asociada (19).

DIAGNÓSTICO

Muchos de los OSCC se presentan en estadios avanzados, lo cual conlleva peor pronóstico y mayor mortalidad. Por ello es importante la identificación precoz de cara a realizar un tratamiento adecuado y temprano, evitando así cirugías amplias que conlleven mayor morbimortalidad y peor calidad de vida, con importantes secuelas funcionales y estéticas.

Clínico

La principal forma de diagnóstico es la exploración de la cavidad oral. Es posible que el OSCC sea precedido por lesiones potencialmente cancerizables, como leucoplasias y eritroplásias. La mayoría de los pacientes presentan tumoraciones ulceradas, con bordes irregulares, induradas y friables que no curan (1) (20) (21). Pueden presentarse de manera asintomática o dolorosa al tacto en estadios más avanzados (20). Es necesario realizar un diagnóstico diferencial con otras patologías como el granuloma piógeno o la sialometaplasia necrotizante, con infecciones crónicas como la tuberculosis o la sífilis, con otros tipos de cáncer como los linfomas, y con metástasis de otros primarios (20).

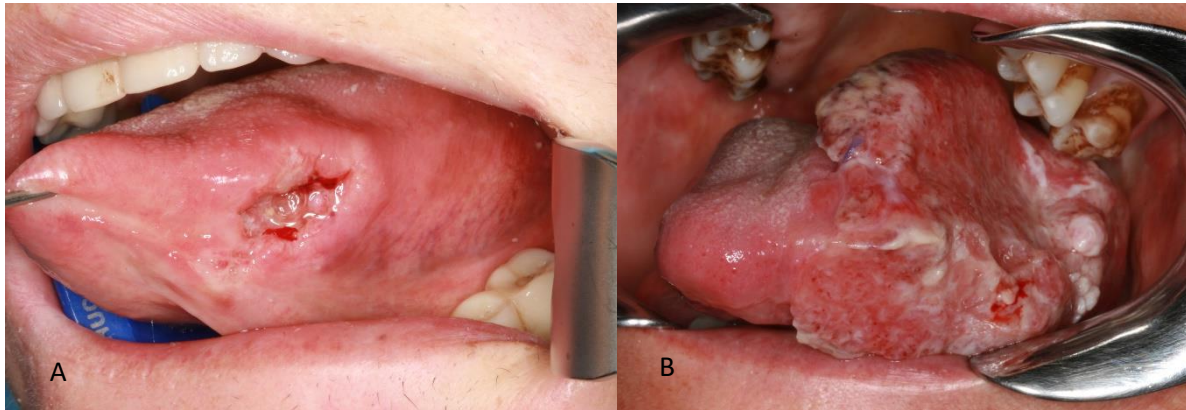


Figura 2. Aspecto clínico de dos carcinomas escamosos linguales en dos pacientes. A) Lesión úlcera de 15x10mm en borde lateral lingual izquierdo. B) Lesión con aspecto exofítico de 35x25mm en borde lateral lingual izquierdo.

Es importante realizar una palpación de los ganglios cervicales, para identificar posibles metástasis a dicho nivel. A pesar de que el examen clínico es importante, hay que tener en cuenta que la incidencia de metástasis cervicales ocultas, incluso en estadios precoces, varía desde un 16% a un 40% en carcinomas de lengua (22) (23).

La localización más frecuente es la lengua con casi un 50% de los casos, siendo a su vez la localización más frecuente los bordes laterales de la misma (1) (22) (23). El suelo oral es la siguiente localización más común junto con los tumores de mucosa yugal, relegando a los tumores de la cresta alveolar o del paladar duro a localizaciones menos frecuentes. Excepto en países donde la mezcla de betel es uno de los principales factores de riesgo, donde la mucosa yugal acompaña a la lengua como localización más frecuente (1).

Histopatológico

Tras una sospecha clínica de un OSCC es imprescindible la realización de una biopsia para una confirmación histopatológica, siendo esta el *gold estándar* (24).

El OSCC se caracteriza por la proliferación de nidos, cordones o islotes neoplásicos que recuerdan en mayor o menor grado el epitelio escamoso de donde derivan y que penetran en el tejido conectivo. Dentro de la histología de los tumores de cabeza y cuello deben analizarse diferentes parámetros como el grado de diferenciación celular. Se han propuesto varias clasificaciones, siendo la más aceptada la de la WHO que los divide en 3 grados de malignidad, basada en la descrita por *Broders* en 1926 (25). Esta clasificación tiene en cuenta el grado de queratinización, el pleomorfismo celular y nuclear y la actividad mitótica (26).

- 1) Bien diferenciados: presentan una gran semejanza con las células epiteliales de la mucosa oral. Se observa abundante formación de queratina en forma de perlas córneas o como queratinización celular individual. La atipia celular es mínima, así como el número de mitosis. Se observa también, un infiltrado inflamatorio crónico peritumoral bastante marcado, formado por linfocitos y células plasmáticas (21), y el pleomorfismo celular es mínimo (26).
- 2) Moderadamente diferenciados: presentan menor semejanza con las células epiteliales. El grado de atipia nuclear, así como el número de mitosis y el pleomorfismo celular, es mayor. Por otra parte, disminuye la formación de perlas corneas y la queratinización individual (21) (26).

- 3) Pobremente o poco diferenciado: la similitud con las células epiteliales es tan pequeña que en ocasiones es difícil establecer el origen escamoso de estos tumores. Presentan escasa queratina, mayor atipia celular, junto con un mayor pleomorfismo nuclear y un elevado número de mitosis (21) (26).

Si el tumor a estudio presenta áreas con diferentes grados de diferenciación, se toma como referencia para la clasificación su área más indiferenciada. Cuando la invasión del carcinoma escamoso afecta únicamente a las capas más superficiales del tejido conectivo subyacente, justo por debajo de la membrana basal, se puede aplicar el término de carcinoma de células escamosas microinvasivo, no infiltrante (26).

Otros datos a tener en cuenta a nivel histopatológico son la invasión perineural, la invasión linfovascular y la profundidad de invasión (27) (28).

Biomarcadores salivales

Con el objetivo de realizar un diagnóstico precoz, muchos autores desde los años 90 hasta la fecha actual, han buscado formas no invasivas de detección precoz y *screening* del OSCC, dentro de los que encontramos los biomarcadores salivales (29). La saliva no solo contiene las secreciones de la glándulas mayores y menores, sino que contiene otros compuestos derivados de las secreciones faríngeas y nasales, de la microbiota oral, la descamación de las células epiteliales de la mucosa oral, células sanguíneas, etc (29). La saliva está compuesta tanto por agua, como por iones (componente inorgánico), proteínas, lípidos y hormonas

(componente orgánico) (29). Hasta la fecha se han encontrado hasta 2300 proteínas en la saliva humana, de las cuales 100 han sido estudiadas como posibles marcadores para el diagnóstico del OSCC (29). Los biomarcadores salivales se pueden clasificar en inorgánicos, péptidos, DNA/mRNA, metabólicos o misceláneos (2). A pesar de ello, no existe consenso debido a la alta variabilidad de los estudios, debido a que la mayoría no presentan uniformidad en cuanto al momento ni en la forma de recolección, procesamiento o análisis de la saliva (2). Además, muchos de ellos no tienen en cuenta enfermedades inflamatorias no neoplásicas propias de la cavidad oral, como las causadas por traumatismos, por la enfermedad periodontal, infecciones, etc., pudiendo estas contribuir a los niveles altos de dichos biomarcadores, no necesariamente relacionados con el cáncer (29).

Pruebas de imagen

Tras la confirmación histopatológica es preciso realizar un estudio de la extensión de la enfermedad y, para ello, se emplean pruebas de imagen. Del resultado de las mismas depende, en gran medida, la planificación del tratamiento, orientándonos en cuanto a la posible reseabilidad, extensión de la resección y posibilidades de reconstrucción. Asimismo, el resultado de estas pruebas aporta información de gran utilidad pronóstica, relativa al tamaño (clasificación T) y espesor tumoral, a la afectación ganglionar cervical (clasificación N) y a la posible existencia de metástasis a distancia (clasificación M) (2).

La prueba de imagen más utilizada es la tomografía computarizada (CT, por sus siglas en inglés *computerized tomography*), ya que podemos

determinar el tamaño, la localización, la afectación ósea y la presencia de metástasis cervicales, entre otras muchas cosas (2) (30). Hay que tener en cuenta que tumores pequeños T1 o T2 pueden no tener representación en dichas pruebas de imagen (1). Otra prueba de imagen muy útil en este tipo de cánceres de cabeza y cuello es la resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés *magnetic resonance imaging*), utilizándose principalmente por su alta capacidad para mostrar la afectación del tejido blando adyacente, la afectación perineural, la afectación medular del hueso y la profundidad tumoral (1) (30) (22). En concreto es especialmente útil en carcinomas escamosos de lengua por su capacidad para discriminar anatómicamente la afectación de la musculatura extrínseca e intrínseca de la lengua y el suelo oral, siendo el CT insuficiente para la caracterización de dichas partes blandas, entre otras cosas por la frecuente distorsión por artefactos dentales (22). Tras la introducción de la profundidad tumoral como factor pronóstico independiente, se ha descrito la posibilidad de que los ultrasonidos puedan ser útiles como alternativa a la RMI para determinar la profundidad tumoral, siendo esta más accesible y más barata (22) (30). La PET-CT (por sus siglas en inglés *positron emission tomography – computerized tomography*) se utiliza principalmente para la valoración de la diseminación tumoral a distancia previo al tratamiento, y para la planificación y seguimiento en caso de precisar tratamiento complementario con radioterapia (1) (2).

Tanto el CT como la RMI son útiles en el diagnóstico de metástasis ganglionares a nivel cervical, siendo la necrosis el principal factor radiológico para determinar su probable malignidad (22). Tradicionalmente, se considera el tamaño ganglionar para determinar si se

trataba de un ganglio metastásico, pero en estudios recientes se ha visto una tasa de falsos positivos o falsos negativos de hasta un 20% en ganglios subcentimétricos (22).

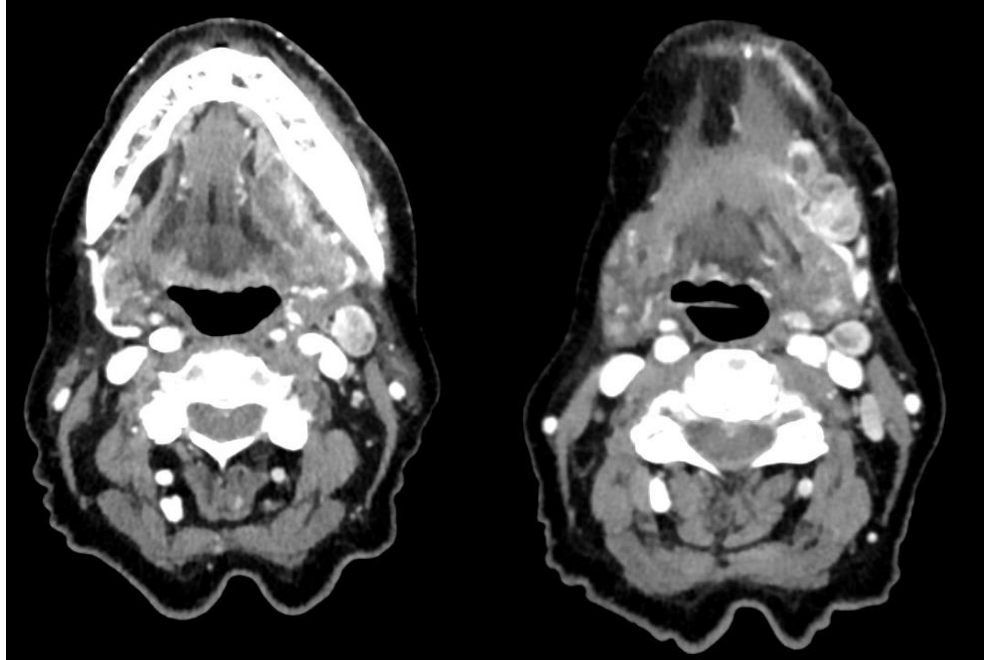


Figura 3. Imagen en CT de un paciente con carcinoma escamoso oral con adenopatías cervicales sugestivas de malignidad en niveles Ib, IIa y IIb izquierdos.

ESTADIAJE

El sistema de clasificación TNM propuesto por la AJCC es una herramienta útil para establecer el pronóstico del OSCC, ayudando así a estandarizar el estadiaje y el tratamiento. Recientemente, se ha publicado la 8ª edición del AJCC para el OSCC (tabla 1) (28).

TAMAÑO DEL TUMOR PRIMARIO (T) CAVIDAD ORAL

TX	Tumor primario no puede ser valorado
TIS	Carcinoma in situ
T1	Tamaño ≤ 2 cm, DOI ≤ 5 mm
T2	Tamaño ≤ 2 cm, DOI >5 mm, pero ≤ 10mm cm o tamaño > 2 cm, pero ≤ 4 cm y DOI ≤ 10 mm
T3	Tamaño > 4 cm o cualquier tamaño con DOI> 10mm
T4	Tumor localmente avanzado
- T4a	<p>Tumor moderadamente avanzado:</p> <ul style="list-style-type: none">- carcinoma de labio: invasión la cortical ósea o que presente afectación del nervio dentario inferior, del suelo oral, o de la piel adyacente del mentón o de la nariz- cavidad oral: tumor que invade las estructuras adyacentes como la cortical mandibular o maxilar, la afectación del seno maxilar o de la piel adyacente. <p>*La erosión superficial del hueso o del alveolo dentario de un tumor de encía no es suficiente para considerarlo T4a.</p>
- T4b	Tumor muy avanzado: tumor que invade el espacio masticador, las apófisis pterigoides, o la base del cráneo o afectación de la arteria carótida interna.

GANGLIOS CERVICALES REGIONALES (N) CAVIDAD ORAL

NX	Ganglios linfáticos no valorables
N0	Sin metástasis en ganglios linfáticos regionales
N1	Metástasis en un ganglio ipsilateral, < a 3 cm en su mayor extensión y ENE negativo
N2	
- N2a	<ul style="list-style-type: none">- Metástasis en un ganglio ipsilateral o contralateral menor de 3 cm de diámetro mayor y ENE-positivo.

	- Metástasis en un ganglio mayor de 3 cm pero menor de 6cm de diámetro mayor y ENE-negativo.
- N2b	Metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales, ninguno mayor de 6 cm de diámetro mayor y ENE-negativos.
-N2c	Metástasis en ganglios contralaterales o bilaterales, ninguno mayor de 6 cm de diámetro mayor y ENE-negativo.
N3	
- N3a	Metástasis en ganglios mayores de 6cm de diámetro mayor y ENE-negativo.
-N3b	Metástasis en un ganglio ipsilateral mayor de 3cm y ENE-positivo, o metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales, contralaterales o bilaterales, con cualquiera ENE-positivo.

METÁSTASIS A DISTANCIA (M) CAVIDAD ORAL

MX	Metástasis a distancia no valorable
M0	Sin metástasis a distancia
M1	Con metástasis a distancia

ESTADIAJE

	N0	N1	N2	N3
T1	I	III	IVA	IVB
T2	II	III	IVA	IVB
T3	III	III	IVA	IVB
T4a	IVA	IVA	IVA	IVB
T4b	IVB	IVB	IVB	IVB

Tabla 1. Clasificación y estadiaje según la 8th edición de la clasificación del TNM de tumores malignos (AJCC) (28).

TRATAMIENTO

Cirugía

La cirugía se sigue considerando hoy en día el tratamiento de elección para los OSCC (2). La resección quirúrgica del tumor debe incluir todo el tumor macroscópicamente visible, así como un margen quirúrgico que incluya, presumiblemente, toda la extensión microscópica del mismo (31). El margen microscópico mínimo estándar aceptado para considerar un margen libre es de 5mm, lo que se corresponde con aproximadamente 15-20mm visibles de mucosa oral sana (31). Hoy en día, y gracias a las técnicas quirúrgicas reconstructivas con colgajos regionales o colgajos libres microvascularizados, se consigue un mejor resultado tanto funcional como estético, cobrando especial importancia la ayuda de la tecnología, como la posibilidad de obtener modelos 3D estereolitográficos, la planificación preoperatoria virtual y la navegación intraoperatoria (1).

Las guías más recientes de la NCCN (31) recomiendan que además de la resección del tumor primario se lleve a cabo la realización de una disección cervical ganglionar uni o bilateral. Dicha disección cervical tiene tanto función diagnóstica como terapéutica, ya que elimina los ganglios afectados en caso de que existan, y nos da información sobre el estadiaje del tumor de cara a planificar la necesidad de tratamientos complementarios, como la quimioterapia o la radioterapia (31). Aquellos tumores de suelo oral, cresta alveolar o lengua que crucen la línea media o se aproximen a ella, deberán ser considerados de riesgo para metástasis contralaterales, por lo que se recomienda realizar una disección cervical contralateral (31).

El vaciamiento recomendado por la NCCN (31) en OSCC es el vaciamiento cervical selectivo supraomohiideo que incluye los niveles I-III, debido al patrón típico de diseminación ganglionar de los carcinomas orales que afecta más frecuentemente a estos 3 niveles. Se ha visto que el 91% de las metástasis cervicales por OSCC están concentradas en esta localización, alcanzando un 96% si incluimos el nivel IV en la disección cervical (32).

Una de las zonas de mayor complejidad quirúrgica en el vaciamiento es la disección del nivel II, que se encuentra caudal a la base del cráneo, craneal al hueso hioides (o bifurcación carotídea como referencia quirúrgica), medial al borde anterior del trapecio y lateral al vientre posterior del digástrico, siendo especialmente compleja la disección de la porción posterior al nervio espinal, que se corresponde con el nivel IIB (33). Un riesgo específico del vaciamiento del nivel IIB es la lesión del nervio espinal, que conlleva alteraciones en la movilidad del hombro, y por lo tanto un impacto negativo en la calidad de vida del paciente (32). En los últimos años, empieza a surgir la duda sobre la necesidad de incluir el nivel IIB en la disección cervical funcional, ya que se ha descrito en la literatura un riesgo bajo de metástasis en dicho nivel, de alrededor de un 6% (con estudios desde un 0% a un 10% aproximadamente) (34). En caso de ganglios con metástasis en el nivel IIB, estas normalmente se asocian a metástasis en otros niveles cervicales (N+) (32). Por todo ello, existe una nueva corriente que pone en duda si debe evitarse la disección del nivel IIB en cuellos clínicamente negativos (cN0), aunque a día de hoy continúa siendo recomendable realizarla de manera rutinaria en OSCC (32) (34).

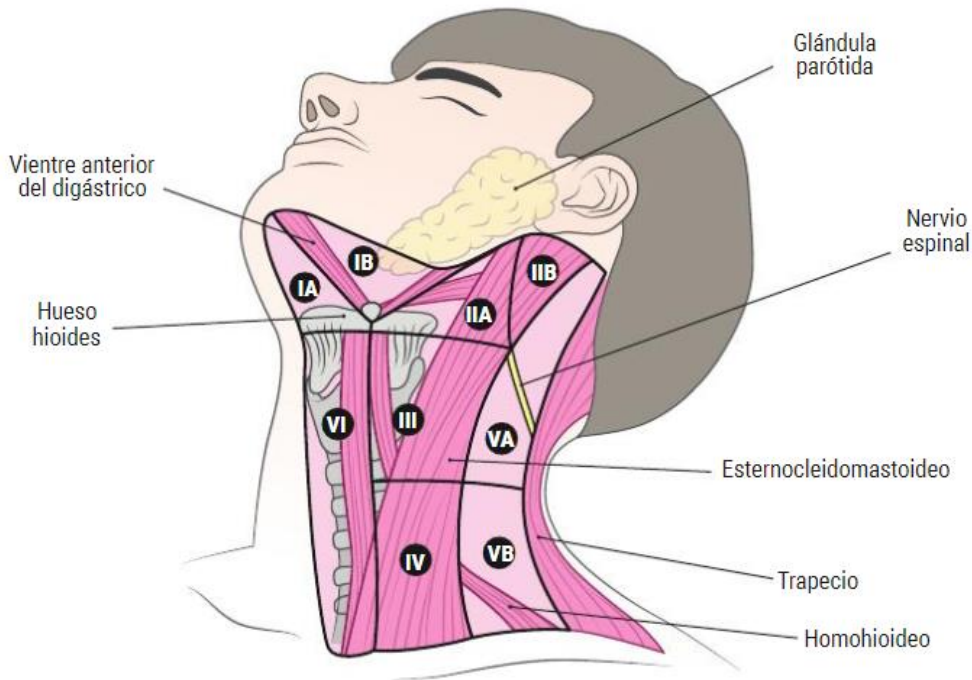


Figura 4. Niveles de ganglios linfáticos cervicales. Tomada del libro Cirugía Oral y Maxilofacial. Atlas de procedimientos y técnicas quirúrgicas (33).

Adicionalmente, en los últimos años, se ha empezado a plantear la hipótesis de no realizar vaciamientos cervicales a determinados pacientes de bajo riesgo como, por ejemplo, tumores de la cavidad oral con una profundidad menor de 4mm (31), y tumores con cuellos clínica y radiológicamente negativos (cN0). En este último caso existen varias posibles estrategias descritas, dentro de las que se incluyen la disección ganglionar cervical ya mencionada previamente, la radioterapia cervical, la técnica del ganglio centinela o la observación (23). Es importante tener en cuenta que se ha descrito una prevalencia de metástasis cervicales ocultas del 20% al 40% en pacientes con ausencia de signos clínicos y radiográficos de afectación ganglionar (23). *Weiss et al.* (35) establecieron que la indicación electiva de vaciamiento cervical en tumores de cabeza y cuello

está indicada cuando el riesgo de afectación ganglionar es mayor de 20%, por ello, en la mayoría de los hospitales, el vaciamiento cervical electivo es el tratamiento estándar en el OSCC (31).

En los últimos años, está aumentado el interés en relación con la técnica del ganglio centinela (SLNB, por sus siglas en inglés sentinel lymph node biopsy) como alternativa al vaciamiento cervical en carcinomas orales con cuellos clínica y radiográficamente negativos (cN0), ya que presenta ventajas, como un menor coste, ser una técnica menos invasiva y con menor morbilidad (36). Esta técnica se basa en el concepto de que las células tumorales se diseminan primero a uno o a un grupo de ganglios desde el tumor primario (ganglio centinela) antes de diseminarse al resto de ganglios, y con la ayuda de un radiotrazador, inyectado en la zona del tumor primario, nos permite identificar dichos ganglios y realizar su resección de manera específica (37). El único inconveniente, es que su sensibilidad y especificidad dependen de la experiencia del centro, ya que es un procedimiento técnicamente demandante, requiriendo una importante curva de aprendizaje (31). *Govers et al.* (37) realizaron un metaanálisis donde comprobaron que la SLNB es una técnica sensible para la detección de metástasis ganglionares en pacientes con OSCC en estadios precoces (cT1 o T2 N0). Los índices de detección de metástasis ganglionares con SLNB alcanzan el 95%, existiendo evidencia que soporta tasas de supervivencia similares cuando se compara con la técnica clásica del vaciamiento cervical (31). Los pacientes con un ganglio positivo tras la biopsia deberán ser sometidos a una disección ganglionar cervical, mientras que aquellos con ganglios negativos, pueden ser controlados con un seguimiento estrecho (36). Se ha observado, además, que su fiabilidad depende de la localización, siendo peor en casos de tumores de suelo oral

comparados con carcinomas de lengua o de labio inferior, y muy poco útiles en casos de tumores del maxilar superior (31).

En el caso de OSCC con ganglios clínicamente positivos (cN+) la actitud a seguir es menos controvertida, ya que se considera necesaria la disección cervical como tratamiento curativo del tumor (31). En estos casos, y en función de los márgenes oncológicos de seguridad, existe la posibilidad de realizar un vaciamiento cervical radical, que conllevan la resección en bloque de los niveles I a V junto con la resección del nervio espinal, la vena yugular interna y el músculo esternocleidomastoideo; o un vaciamiento radical cervical modificado, que consiste en la resección de los niveles I a V preservando al menos una de las estructuras anatómicas previamente mencionadas (32).

Terapias complementarias

El OSCC es un tumor agresivo que puede precisar de terapias complementarias para mejorar su pronóstico, siendo las más frecuentes la radioterapia y la quimioterapia. En determinadas ocasiones se administran para un mayor control locorregional de la enfermedad y completar así la intención curativa, asociado o no a la cirugía, mientras que, en otros casos, como tumores irresecables se utilizan con finalidad paliativa para una mejoría sintomática (31).

- Radioterapia

Es el tratamiento complementario más estandarizado. La radioterapia consiste en la destrucción del DNA de las células tumorales

mediante la utilización de radiación gamma. En los últimos años han evolucionado de manera sorprendente las técnicas para la administración de radioterapia, pudiendo aumentar la dosis administrada en la zona afectada por el tumor y disminuyendo a su vez la dosis recibida en el tejido circundante, disminuyendo así sus efectos negativos y complicaciones asociadas.

Está indicada en tumores T1-2 N0 como tratamiento alternativo a la cirugía en casos de pacientes de alto riesgo quirúrgico, siempre teniendo en cuenta que el *gold estándar* es la cirugía, debiendo realizarla como primera opción siempre que sea posible (2) (38). Además debemos considerarla como tratamiento complementario a la resección quirúrgica, en los casos en los que existan ganglios positivos tras el análisis del patólogo (pN+, sobre todo N2 o N3) o si el tumor presenta factores histológicos desfavorables como extensión extracapsular, márgenes de resección afectados, tumores avanzados (pT3 o pT4), la existencia de ganglios positivos en niveles IV o V, invasión perineural o embolismo vascular (31). En el caso de la existencia de una única metástasis ganglionar (pN1) sin características histológicas desfavorables, la decisión de aplicar radioterapia complementaria en muchos centros queda a criterio del equipo multidisciplinar, ya que no existe un consenso claro a este respecto en las últimas guías publicadas (31). Torrecillas et al. defienden una mayor supervivencia con radioterapia complementaria tanto en tumores T1N1 como en T2N1, siendo más clara la asociación pronóstica en el segundo caso (38).

La dosis habitual es 1,8-2Gy diariamente hasta alcanzar dosis totales de 66-72 Gy, existiendo la opción de radioterapia fraccionada o

hipofraccionada durante 6-7 semanas (2). En casos de riesgo más bajo de diseminación, se pueden administrar dosis más bajas de 44 a 50 Gy (31).

- *Quimioterapia*

La quimioterapia consiste en la utilización de fármacos para inhibir el crecimiento de las células tumorales o para facilitar su apoptosis. Son fármacos citotóxicos que facilitan la muerte de las células tumorales por daño directo o indirecto del DNA. Cisplatino, carboplatino, 5-FU (5-fluoracilo), bleomicina, docetaxel, hidroxurea y metotrexate son los fármacos más utilizados a día de hoy en el OSCC (2).

La quimioterapia inicial o de inducción es una estrategia frecuente para conseguir una reducción del volumen del tumor, seguida de cirugía o radioterapia, para los tumores de cabeza y cuello localmente avanzados o como único tratamiento en los tumores paliativos, siendo el régimen de inducción más recomendado la administración conjunta de cisplatino, docetaxel y 5-fluorouracilo (39). En un estudio realizado por *Caballero et al.* (40) observaron que la tasa de respuesta en pacientes con OSCC que recibieron tratamiento de quimioterapia con intención paliativa era de un 50%, teniendo estos una supervivencia mayor que los no respondedores. En el mismo estudio, en el grupo de quimioterapia neoadyuvante, la tasa de respuesta era de un 73%, pero esta no predecía la posibilidad de realizar una cirugía radical posteriormente, ya que muchos pacientes continúan presentando tumores irreseccables a pesar de una respuesta parcial al tratamiento sistémico. *Pignon et al.* (41) observaron que en pacientes con HNSCC sin metástasis a los que se les añadía quimioterapia

al tratamiento con cirugía o radioterapia, tenían una mayor supervivencia a los 5 años (32% frente al 36%).

Según la nueva guía de la NCCN (31) la decisión de administrar terapia sistémica debe ser individualizada y consensuada entre un equipo multidisciplinar. La opción de elección para pacientes con factores adversos de mal pronóstico como la invasión extracapsular o la presencia de márgenes afectos es la radioterapia junto con la administración de cisplatino como fármaco de elección, administrado en 3 dosis intravenosas de 100mg/m² cada una (31). Como alternativa, en pacientes que no puedan recibir cisplatino por neuropatía, nefropatía o enfermedad cardíaca, se puede administrar cetuximab, mientras que en pacientes con mala calidad de vida no candidatos a cisplatino, se recomienda la radioterapia de manera aislada, ya que fármacos como el cetuximab o el carboplatino no han demostrado utilidad en la adyuvancia (39).

- *Terapias biológicas*

Los avances en el conocimiento de la biología molecular del cáncer han permitido desarrollar nuevas estrategias terapéuticas dirigidas contra dianas tumorales específicas. Hasta hace unos años, la administración de nuevas terapias biológicas no estaban respaldadas por la evidencia científica. Esto cambió por primera vez en 2008, gracias a un estudio randomizado (42) que demostró mejor supervivencia en HNSCC cuando se asociaba al clásico tratamiento de quimioterapia con platinos (platino/5-fluorouracilo) el cetuximab, un anticuerpo IgG1 monoclonal dirigido contra el dominio extracelular de EGFR, sin comprometer la calidad de vida del paciente. Dentro de los estudios de anticuerpos monoclonales anti- EGFR que incluían diferentes localizaciones de HNSCC, el OSCC era el

que demostraba una mayor mejora en la progresión libre de enfermedad (43).

Casi 10 años después se alcanzaron resultados prometedores con fármacos inhibidores del sistema inmune como son el pembrolizumab y nivolumab, tanto en primera como segunda línea (43). Actualmente, estos son utilizados para el tratamiento de segunda línea tras la ausencia de respuesta a la quimioterapia con cisplatinos (31). El pembrolizumab y el nivolumab son anticuerpos IgG4 monoclonales frente al receptor de muerte celular programada PD-1, impidiendo su unión con sus ligandos PD-L1 y PD-L2, asociados con la tolerancia inmunológica que presentan los tumores de cabeza y cuello (43). En un estudio reciente se asoció la expresión del ligando PD-L1 (> 10% de las células tumorales) con la tasa de recurrencias y menor supervivencia específica de cáncer, siendo un factor pronóstico independiente del OSCC (44). En un pequeño porcentaje de estos pacientes tratados con fármacos que actúan inhibiendo el sistema inmunitario se ha visto que pueden experimentar una progresión acelerada de la enfermedad, a menudo denominada hiperprogresión, en cuyo caso, realizando un cambio de tratamiento a la quimioterapia convencional se puede obtener una respuesta duradera y eficaz al tratamiento (43).

Existen nuevos estudios con fármacos relacionados con la inhibición de la angiogénesis, la cual está implicada en el crecimiento, la progresión y las metástasis del cáncer (45). Un ejemplo, es el Bevacizumab que es un anticuerpo monoclonal contra el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF-A, por sus siglas en inglés *vascular endothelial growth factor*), considerándose una de las principales moléculas implicadas en la angiogénesis tumoral y que se expresa en gran medida en el OSCC (45).

Otros fármacos en estudio son la Rapamicina, Temsirolimus o Everolimus, que alteran la ruta de señalización celular PI3K/AKT/mTOR, que es una vía que participa en la supervivencia celular (45), o fármacos cuya función sea la inhibición de las quinasas dependientes de ciclina 4 y 6 (CDK4/6), que detienen el ciclo celular en la fase G1, como el Palbociclib y el Ribociclib (43) (45).

En los últimos años se están desarrollando numerosos ensayos clínicos que exploran nuevas formas y combinaciones de inmunoterapia con resultados prometedores para pacientes con HNSCC metastásico o recurrente (42) (43) (44) (45). A pesar de los buenos resultados iniciales con este tipo de terapias biológicas, todavía existen numerosos factores e interacciones desconocidas que precisan de más estudios.

PRONÓSTICO

A pesar de los nuevos avances en el tratamiento, prevención y comprensión de la biología de la enfermedad, el pronóstico en pacientes con OSCC sigue siendo malo. Estos pacientes presentan una tasa de recurrencia de más del 50% en los 2 primeros años tras el tratamiento quirúrgico inicial (46). Siendo la supervivencia a los 5 años en pacientes con OSCC del 60% (1).

A lo largo de los últimos años, y de cara a mejorar las estrategias terapéuticas de manera individualizada en función del pronóstico del paciente, se han estudiado numerosos factores pronósticos. Entre ellos, se encuentra la edad de paciente. En la literatura existe controversia (47), algunos autores como *Suresh et al.* (48) y *Rogers et al.* (49) encontraron que a mayor edad peor supervivencia global (OS, por sus siglas en *inglés overall survival*) y supervivencia específica por enfermedad (DSS, por sus siglas en *inglés disease specific survival*), sobre todo en mayores de 65 años y 75 años, respectivamente. Justifican estos resultados ya que pacientes mayores tienden a tener peor calidad de vida con mayor número de comorbilidades, siendo muchas veces no candidatos a tratamientos complementarios como la quimioterapia.

En cuanto al sexo del paciente pasa algo similar. La mayor parte de los autores no encuentran diferencias en supervivencia ni tasa de recurrencias en cuanto a hombres y mujeres (49) (50), y unos pocos sí evidencian peor supervivencia en varones (48), probablemente relacionado con la mayor incidencia en hombres y mayor relación con factores de riesgo conocidos como el tabaco y el alcohol.

El tabaco y el consumo de alcohol son factores de riesgo conocidos para el OSCC, pero se ha planteado la posibilidad de que también sean factores pronósticos (51). *Massano et al.* (47) en su revisión encontraron que la mayoría de los autores defienden que el consumo de alcohol y tabaco incrementa la mortalidad en pacientes con OSCC, siendo mayor si continúan con dichos hábitos tóxicos tras el tratamiento, y además, se relacionan con una mayor tasa de segundos primarios, lo cual ensombrece el pronóstico en mayor medida. De acuerdo con lo mencionado, *Larsen et al.* (52) puntualizaron que la mayor tasa de mortalidad puede estar relacionada con mayor número de comorbilidades atribuibles al consumo de tabaco y alcohol, como pueden ser las enfermedades cardiovasculares o pulmonares.

Otro factor de riesgo que se ha relacionado por algunos autores con peor pronóstico en pacientes con HNSCC es el HPV, estando su implicación pronóstica en el OSCC poco clara (47). La mayoría de los autores, como *Zhao et al.* (53) en su serie de 52 pacientes con OSCC, concluyen que la infección por HPV puede actuar como un predictor independiente para la supervivencia y el pronóstico de pacientes con OSCC, teniendo los pacientes con carcinomas HPV positivos mayor supervivencia que aquellos HPV negativos. Como explicación, se ha relacionado la infección del HPV con tumores más radiosensibles, con menor tasa de mutaciones p53 y con pacientes sin los principales factores de riesgo para desarrollar OSCC, como son el tabaco y el alcohol (53).

Haciendo referencia a la localización del tumor primario no existe consenso en cuanto a si determinadas localizaciones pueden estar relacionadas con peor supervivencia. *Suresh et al.* (48) en su estudio de 147 pacientes con OSCC encontraron que la lengua y la cresta alveolar

mandibular eran las localizaciones con mejor OS y DSS comparado con el trígono retromolar que presentaba la peor tasa de OS. Otros autores no encuentran esta asociación con ninguna localización en concreto (49) (54). Algunos autores como *Shaw et al.* (55) y *Diaz et al.* (56) se centran en la hipótesis de que los cánceres de la mucosa yugal son más agresivos, se presentan en estadios más avanzados, presentan más frecuentemente márgenes afectos, tienen tendencia a mayor tasa de recidivas locoregionales, y peor supervivencia cuando se comparan con otras localizaciones. En ambos estudios mencionados no encuentran relación pronóstica de dicha localización con la supervivencia, pero destacan, en el caso del primer artículo, que existe menor porcentaje de T1 en carcinomas de mucosa yugal (16%) comparados con otras localizaciones (28%) (55).

Por primera vez en el año 1986, *Moore et al.* (57) hacen referencia al tamaño del tumor primario como uno de los principales factores pronósticos. Evidencian que la mayor diferencia de supervivencia se da si dividimos a los tumores en menores de 2cm y mayores de 2cm, siendo la supervivencia libre de enfermedad a los 3 años de 84% vs 52%, respectivamente. Posteriormente, la literatura ha corroborado que, a mayor tamaño, y por lo tanto mayor pT, peor pronóstico y mayor tasa de recidivas locoregionales (48) (49) (52) (54) (55).

En los últimos años, ha tomado especial importancia la profundidad del tumor en relación con el pronóstico del OSCC. *Larsen et al.* (52) establecen que la profundidad se relaciona con la afectación ganglionar cervical de manera directamente proporcional, y de manera inversamente proporcional con el porcentaje de márgenes libres obtenidos en la resección. Concluyen en el análisis multivariable que dicha profundidad es un factor pronóstico independiente para el control de la recidiva cervical y

la supervivencia. La mayoría de la literatura, coincide en que la profundidad es un importante factor pronóstico del OSCC, predictor de metástasis ganglionares, recidivas locoregionales y peor OS (47) (55). En un metaanálisis realizado por *Huang et al.* (23) establecieron que el punto de corte ideal para predecir el riesgo de metástasis ganglionares en relación a la profundidad tumoral era de 4mm. Por todo ello, en la última actualización del AJCC (8º edición) se incluyó el DOI (por sus siglas en inglés *depth of invasion*) como valor pronóstico para la categoría T (28). Histopatológicamente, el DOI se mide a partir del nivel de la membrana basal de la mucosa normal adyacente más cercana, dibujando una “plumb line” desde este plano hasta el punto más profundo de la invasión tumoral, incrementando la categoría T con cada intervalo de 5mm de profundidad (28).

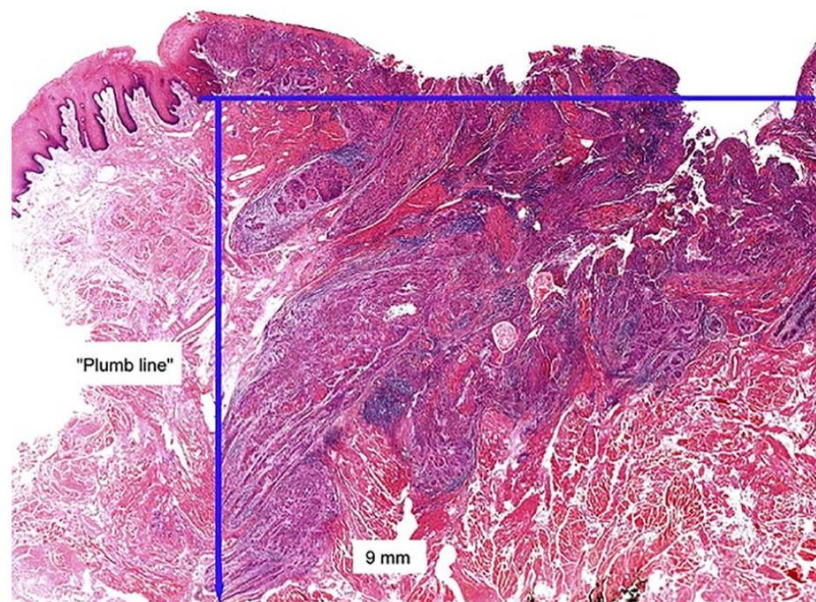


Figura 5. Medición de DOI. Tomada de *Lydiatt et al.* (28)

En cuanto al grado histológico, los tumores bien diferenciados y moderadamente diferenciados presentan mejor control local y mejor

supervivencia comparados con los poco diferenciados (52), aunque no todos los autores están de acuerdo, defendiendo algunos la relación de tumores pobremente diferenciados con peor pronóstico (49) (47), mientras que otros no encuentran dicha relación (54).

En relación con la importancia de la invasión ósea y su valor en el estadiaje histopatológico, existen estudios que no encuentran relación de la invasión ósea mandibular con peor pronóstico, poniendo en duda la clasificación directamente a un estadio T4 en el caso de tumores con afectación ósea, pudiendo llevar consigo una sobreestadificación (58). *Shaw et al.* (59) encontraron que la afectación ósea mandibular era predictora de recidiva local y tenía tendencia hacia la significación estadística con peor supervivencia libre de enfermedad a los 5 años. Sin embargo, en el análisis multivariable, aunque conservaban dicha tendencia, no alcanzaban la significación para ser considerados factores predictores independientes. En cambio, sí encontraron que, dividiendo el patrón de infiltración ósea entre patrones erosivos e infiltrativos, este último sí se correlacionaba con una peor supervivencia libre de enfermedad.

Otro parámetro de vital importancia en el pronóstico de estos pacientes es la presencia de márgenes afectos (28). En la literatura existe controversia, sobre qué podemos considerar como afectación, si la presencia de displasia, carcinoma in situ o únicamente la presencia de carcinoma escamoso infiltrante (60). De manera general, se considera margen libre si existen más de 5mm libres de tumor, próximo si encontramos tumor en estos 5mm, sin llegar a tener el borde afecto, y margen afecto si se evidencia tumor en el borde la resección (61). Además, hay que tener en cuenta, que el margen quirúrgico siempre

tiende a ser de mayor tamaño que el margen histopatológico, por la retracción que sufren los tejidos tras la resección. *Sutton et al.* (60) en su serie de 200 pacientes con OSCC, evidenciaron una mayor tasa de recidivas locales en pacientes con márgenes afectos (55%) frente a márgenes próximos (33%) y márgenes libres (12%), junto con una mejor supervivencia a los 5 años, de 11%, 47% y 78%, respectivamente. Siendo el riesgo de muerte 11,6 veces mayor en márgenes afectos, y de 2,66 en márgenes próximos frente a márgenes libres. Sin lugar a dudas, la presencia de márgenes afectos se considera un factor pronóstico independiente para la supervivencia y las recidivas del OSCC (48) (49) (47) (52) (55).

Actualmente, la invasión perineural (PNI, por sus siglas en inglés *perineural* invasión) y linfovascular (LVI, por sus siglas en inglés *linfovascular* invasión) son factores pronósticos bien establecidos, que condicionan, junto con la presencia de márgenes afectos, la necesidad de posibles tratamientos complementarios como la radioterapia (49) (47) (59). Una de las definiciones más aceptadas de la PNI es la descrita por *Liebig et al.* (62) que describe dos patrones histológicos que se pueden presentar de manera aislada o conjunta. El primero consiste en observar células tumorales en la vaina nerviosa e infiltración del epineuro, perineuro o endoneuro, y el segundo consiste en encontrar células tumorales que rodean el nervio en al menos un 33% de su circunferencia. *Laske et al.* (63) realizaron un estudio de la invasión perineural como factor pronóstico en pacientes con OSCC, reforzando la idea de que la presencia de invasión perineural en tumores conlleva peor supervivencia y mayor tasa de recidivas. Concretamente, destacaron que dicha afectación tiene mayor impacto en estadios precoces ya que disminuye la

supervivencia global de 94% a 60% en caso de los tumores con afectación perineural. La invasión linfovascular se define como la presencia de células tumorales en el interior de un vaso sanguíneo o linfático, estando el tumor adherido al endotelio vascular o a un trombo dentro del mismo vaso (27). *Matsushita et al.* (27) observaron que la invasión linfovascular estaba relacionada con las metástasis ganglionares y con la profundidad de invasión del tumor, pero no con la incidencia de recidivas ni con las metástasis a distancia. De la misma forma, la LVI se relacionaba con peor DSS a los 5 años, y aunque mostraba una tendencia hacia peor OS a los 5 años, esta no alcanzaba la significación estadística. La invasión linfovascular adquiere verdadera importancia pronóstica en cuanto a la supervivencia en estadios precoces (estadio I o II) (27).

La presencia de metástasis ganglionares es uno de los factores pronósticos independientes más importantes, avalado por toda la literatura científica, que conlleva mayor tasa de recidivas locoregionales, peor supervivencia global y específica (48) (23) (49) (47) (52) (54) (59) (64). La incidencia de metástasis ganglionares ocultas en estadios tempranos de OSCC (T1 o T2) es del 20% al 40% (23). En un estudio realizado por *Wreesmann et al.* (65) obtuvieron que el tamaño del mayor ganglio afecto por metástasis era un factor pronóstico independiente en cuanto a supervivencia en OSCC. Recientemente, se ha introducido el término de extensión extraganglionar (ENE, por sus siglas en inglés *extranodal extension*) en la categorización de N con un importante efecto negativo sobre el pronóstico de pacientes con OSCC (49) (52) (59) (65). La ENE a nivel histopatológico se define como la extensión del carcinoma desde el interior de un ganglio linfático a través de la cápsula fibrosa y hacia el tejido conjuntivo circundante, independientemente de la presencia de

reacción estromal (28). Se subdividen en ENE minor (ENEmi) y ENE mayor (ENEMA). El primero se considera como una extensión tumoral de 2mm desde la cápsula, mientras que ENEMA se define como una extensión aparentemente a simple vista del patólogo, una extensión mayor de 2mm desde la cápsula o depósitos de carcinoma en tejidos blandos sin arquitectura nodal acompañante (28). *Wreesmann et al.* (65) realizaron un estudio para determinar la influencia del ENEmi y ENEMA en cuanto al pronóstico de los pacientes con OSCC, concluyendo que los pacientes con ENEmi tenían una supervivencia específica de enfermedad similar a los pacientes sin ENE, por lo que ENEmi no podía ser considerado como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariable, a diferencia de los pacientes con ENEMA que sí se mantenía como factor pronóstico independiente.

En cuanto a la actitud terapéutica, *Rajapakshe et al.* (64) en su serie de 430 pacientes con OSCC, encontraron que el tipo de tratamiento quirúrgico realizado (resección más o menos vaciamiento cervical unilateral o bilateral) no mostraba una relación estadísticamente significativa con la supervivencia global ($p = 0,07$) en pacientes en estadios precoces. Además, evidenciaron que pacientes con estadios II, III y IV con una resección del tumor con márgenes afectos y sin radioterapia postoperatoria, tenían peor supervivencia y mayor tasa de recidivas locoregionales; pero dicha significación desaparecía cuando recibían radioterapia postoperatoria, pudiendo por tanto confirmar que, en caso de márgenes afectos, la radioterapia es necesaria como tratamiento complementario (64). Por otro lado, *Brockmeyer and Hemmerlein* (54) en su estudio de 106 pacientes con OSCC, concluyen que cuanto más tiempo pasa desde la cirugía hasta el inicio de la radioterapia, mayor es la

incidencia de recidivas; y cuanto más precoz es la recidiva, menor es la supervivencia de estos pacientes, siendo el tiempo hasta la aparición de la recidiva un factor pronóstico independiente. Esto puede explicarse debido a que la existencia de una recidiva precoz normalmente lleva consigo tumores más agresivos y, por lo tanto, peor pronóstico asociado.

El estadiaje TNM, se ha establecido como el principal determinante del pronóstico y de la planificación del tratamiento de OSCC. (1) Sin embargo, el estadiaje TNM tiene varios inconvenientes. Entre ellos, el TNM definitivo se obtiene tras el estudio histopatológico, tanto de la resección del tumor primario como de la disección cervical, siendo imposible determinar la extensión tumoral y la presencia de metástasis en ganglios linfáticos cervicales previos a la cirugía. Por todo ello, en los últimos años, se ha intensificado la búsqueda de nuevos factores pronósticos, sobre todo marcadores a nivel molecular.

Se han identificado marcadores biológicos que pueden contribuir al pronóstico y tratamiento de los pacientes con cáncer, como son los marcadores relacionados con la angiogénesis tumoral, la cual influye sobre la progresión y agresividad del tumor (66). *Smith et al.* (67) encontraron que la positividad de VEGF en tumores de cavidad oral y orofaringe era predictor de supervivencia global y específica por enfermedad, teniendo hasta 3 veces más riesgo de recidivas comparados con los tumores VEGF negativos, ya que el VEGF promueve la angiogénesis tumoral al estimular la proliferación de células endoteliales y promover la permeabilidad vascular. Se están desarrollando nuevas vías de investigación en relación con genes supresores de tumores como el p53, y con marcadores de proliferación celular como el Ki-67 (68).

INMUNIDAD, INFLAMACIÓN Y CÁNCER

La inflamación se considera una forma de defensa innata de primera línea contra el daño tisular y la infección, caracterizada por una afluencia y reclutamiento de células del sistema inmunitario secretoras de mediadores destinadas a reparar el tejido dañado (69).

La primera vez que se relacionó la inflamación y el cáncer fue en 1863 cuando *Rudolf Virchow* (70) identificó leucocitos en los tejidos neoplásicos, sugiriendo que el infiltrado linfo-reticular reflejaba el origen del cáncer en zonas con inflamación crónica. Desde entonces, se ha realizado un esfuerzo por entender la relación entre la inflamación y la progresión del cáncer, junto con su posible implicación pronóstica y terapéutica.

A lo largo de los años se han establecido numerosos procesos inflamatorios como cofactores para desarrollar cáncer en distintas localizaciones, como la enfermedad inflamatoria pélvica con el cáncer de ovario, la gastritis por *H. Pylori* con el cáncer gástrico o el linfoma tipo MALT, la metaplasia de Barrett con el cáncer de esófago, el VPH para el cáncer de cérvix y el de orofaringe, o el VHC o VHB para el hepatocarcinoma (70) (71). Estudios recientes, han demostrado que también el tabaco es un promotor de tumores debido, entre otras cosas, a su capacidad para desencadenar una inflamación crónica en los tejidos (72). En concreto esta relación entre la inflamación y el OSCC, se ha descrito en situaciones como la periodontitis, los traumatismos, o procedimientos locales como biopsias preoperatorias que conducen a una inflamación crónica (73).

Un tipo completamente diferente de inflamación es la que sigue al desarrollo del tumor. La diferencia entre la muerte celular programada con la muerte de las células tumorales es que la primera consta de una apoptosis seguida de una autofagocitosis, mientras que la segunda no se acompaña de esta autofagocitosis, liberando así mediadores proinflamatorios en dicho microambiente tumoral, reclutando células inflamatorias y del sistema inmune, generando un ambiente proinflamatorio (66). La mayoría de los tumores sólidos, desencadenan esta respuesta inflamatoria intrínseca que genera un microambiente protumoral, el cual conduce a la remodelación del estroma tumoral, al reclutamiento de leucocitos y linfocitos, y a la producción de citoquinas promotoras de tumores y proangiogénicas (66) (72). Adicionalmente, se ha planteado la hipótesis de que el microambiente inflamatorio aumenta la tasa de mutación, debido a que dichas células proinflamatorias sirven como fuente de especies reactivas de oxígeno y reactivos de nitrógeno que, a su vez, son capaces de inducir daño en el DNA e inestabilidad genómica (72).

Por todo ello, actualmente, la inflamación es considerada como una de las principales características del cáncer, debido a que induce y favorece la angiogénesis, la proliferación celular, el daño en el DNA e inhibe la apoptosis de las células cancerígenas (72).

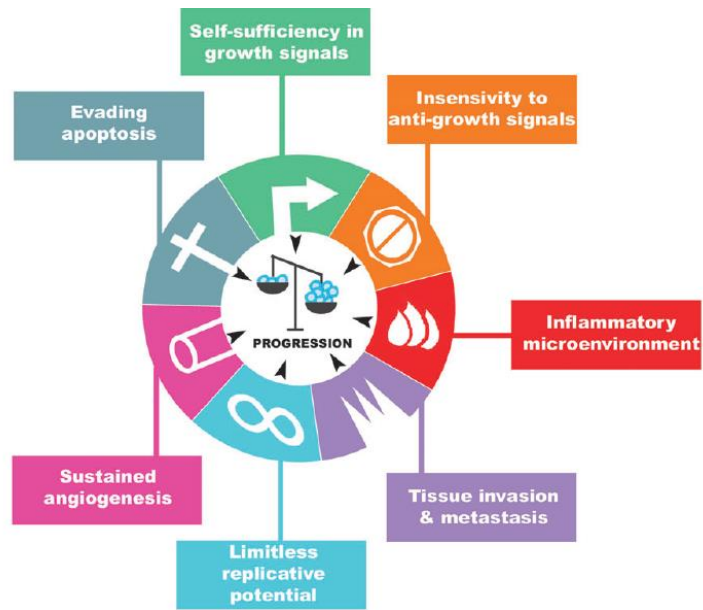


Figura 6. Inflamación como una de las siete características distintivas del cáncer (74).

Durante décadas se creyó que la principal función, si no la única, del sistema inmunitario en el cáncer era inhibir el desarrollo del tumor a través de la vigilancia inmunológica. Actualmente, se sabe que las interacciones entre el tumor y las células del sistema inmunitario son más complejas y dinámicas de lo que se pensaba anteriormente, existiendo muchos subtipos de células inmunitarias que poseen actividad promotora de tumores (69).

Una vez establecidos, los tumores son muy hábiles para evitar la respuesta del sistema inmunitario. Se han descrito varios mecanismos de defensa para eludir la detección y eliminación por parte del sistema inmune, incluidos la pérdida de antígenos tumorales, la menor concentración de complejos de histocompatibilidad (MHC), la pérdida de componentes de la vía endógena de presentación de antígenos y la supresión inmunitaria

inducida por la secreción de citoquinas o interacción directa entre ligandos y receptores de células inmunitarias (69) (75).

Microambiente tumoral

En 1889, *Paget* (76) describió por primera vez la hipótesis de “*la semilla y el terreno*”, en la que proponía que los cánceres metastatizan en tejidos favorables para ello. Desde entonces, se ha realizado un esfuerzo por relacionar y entender el microambiente tumoral con el desarrollo del cáncer y su posible implicación en el pronóstico y tratamiento de este.

En el microambiente tumoral (*TME*, por sus siglas en inglés *tumor microenvironment*) las células tumorales reprograman las células estromales próximas, desencadenando una respuesta inflamatoria con reclutamiento de diferentes tipos de células del sistema inmunitario, tanto del innato (macrófagos, neutrófilos, células NK, etc.) como del adaptativo (linfocitos T y B), quienes a su vez facilitan el crecimiento, la diseminación, progresión y la inmunosupresión asociada al cáncer (77). Se diferencian dos zonas dentro del microambiente tumoral, el tejido tumoral y el estroma tumoral (78).

Este microambiente es rico en citoquinas proinflamatorias y factores de crecimiento que son producidos por las propias células tumorales, y por los leucocitos y las plaquetas asociados a este, inducidos entre otras cosas por la hipoxia. Estas citoquinas inflamatorias tienen una influencia directa sobre la supervivencia, el crecimiento, la proliferación, la diferenciación y la comunicación de las células tumorales y estromales, así como la interacción del tumor con la matriz extracelular (70). En etapas iniciales del cáncer las células del sistema inmunitario se comportan

principalmente como supresoras de tumores, pero dependiendo del microambiente tumoral, pueden sufrir cambios fenotípicos para favorecer la diseminación y crecimiento del tumor gracias a su plasticidad inherente en respuesta a mediadores como las citoquinas (69).

Todo ello pone en evidencia la importancia de la inflamación y los mediadores inflamatorios desde fases iniciales del desarrollo tumoral hasta la progresión tumoral por metástasis a distancia.

Angiogénesis

La angiogénesis es importante tanto en la evolución de los tumores como de las enfermedades inflamatorias crónicas que predisponen al cáncer, ya que durante el desarrollo tumoral se produce la liberación de mediadores proinflamatorios, que promueven la neo-angiogénesis (66) (72). Sin embargo, los vasos sanguíneos asociados al tumor están pobremente organizados y sin la clásica formación arteriola-capilar-vénula, lo que conlleva, entre otras cosas, una menor extravasación hacia el estroma tumoral de linfocitos citotóxicos con acción anti-tumoral (69). Las células del infiltrado inflamatorio, particularmente los macrófagos asociados a tumores, contribuyen a esta angiogénesis, mediante la producción de TNF, IL-1, IL-6 y TGF- β 1, que promueven la angiogénesis gracias a factores de crecimiento como el VEGF (70).

La angiogénesis es un factor imprescindible en la progresión tumoral, ya que no solo fomenta el crecimiento del tumor primario por la aportación de nutrientes, si no que permite un mayor acceso para la entrada de células promotoras de tumores y aporta nuevas rutas para la

extravasación de células tumorales, contribuyendo así a las metástasis (69).

Macrófagos asociados a tumores (MATs)

De manera habitual, cuando un tejido se infecta o sufre una lesión, se estimula la expresión local de una amplia variedad de factores de crecimiento como el CSF-1 (por sus siglas en inglés, *colony stimulating factor 1*), GM-CSF (por sus siglas en inglés, *granulocyte–macrophage CSF*), MSP (por sus siglas en inglés, *macrophage-stimulating protein*), TGF- β 1 (por sus siglas en inglés, *transforming growth factor- β 1*), y citoquinas como CCL2, CCL7, CCL8, CCL3, CCL-4 y MIF (por sus siglas en inglés, *macrophage migration inhibitory factor*) (71). Estos factores de crecimiento y citoquinas reclutan a los monocitos circulantes y estimulan su diferenciación a macrófagos, los cuales, a su vez, median el reclutamiento de otras células del sistema inmunitario, producen más factores de crecimiento y favorecen la angiogénesis para promover la reparación tisular (71). Además, destruyen los patógenos existentes gracias a la producción de especies reactivas de oxígeno, radicales de nitrógeno y la presentación de antígenos desconocidos a las células T citotóxicas (71).

Los macrófagos asociados a tumores (MATs o TAMs, por sus siglas en inglés *tumor-associated macrophages*) son una población de macrófagos reclutados por las células tumorales que ejercen un papel importante en el microambiente tumoral, siendo las células inmunes más abundantes e importantes en el microambiente tumoral, suponiendo

desde un 5% a un 40% de la masa tumoral en tumores sólidos (73). Estos macrófagos pueden mostrar una considerable plasticidad funcional en respuesta a estímulos locales de dicho microambiente, pudiendo polarizarse en dos fenotipos, M1 y M2 (79). Los primeros son considerados proinflamatorios y antitumorales. Bajo condiciones fisiológicas o inducidos por interferón- γ y TNF α , se polarizan al fenotipo M1, los cuales producen elevadas concentraciones de IL-1, IL-6, CXCL-10, TNF α , iNOS (por sus siglas en inglés, *inducible nitric oxide synthase*) y HLA-DR, que tienen un efecto antitumoral (80). En contraposición, los M2 presentan características inmunosupresoras y protumorales. En este caso, las células tumorales, por diferentes vías (CCL-2, IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, CSF-1, PD-1/PD-L1, CD47/SIRP α , TGF β) activan y polarizan los macrófagos a M2, los cuales secretan citoquinas, enzimas y factores de crecimiento como IL-10, IL-4, TGF β , CC ligandos, VEGF, PDGF, FGF uPA y MMPs (por sus siglas en inglés, *matrix metalloproteinases*), que mediante diferentes vías promueven la progresión tumoral y la resistencia al tratamiento, siendo el subgrupo más frecuente encontrado en el TME (73) (79) (80). Hoy en día, las concentraciones altas de MATs se han relacionado con peor pronóstico en múltiples tumores sólidos, como el cáncer de mama, próstata, ovario, cérvix (71) (72), páncreas, el cáncer gástrico, y el HNSCC (80). En concreto en el caso del OSCC, se ha relacionado una mayor concentración de macrófagos M2 con un peor pronóstico y con una menor supervivencia (78) (80).

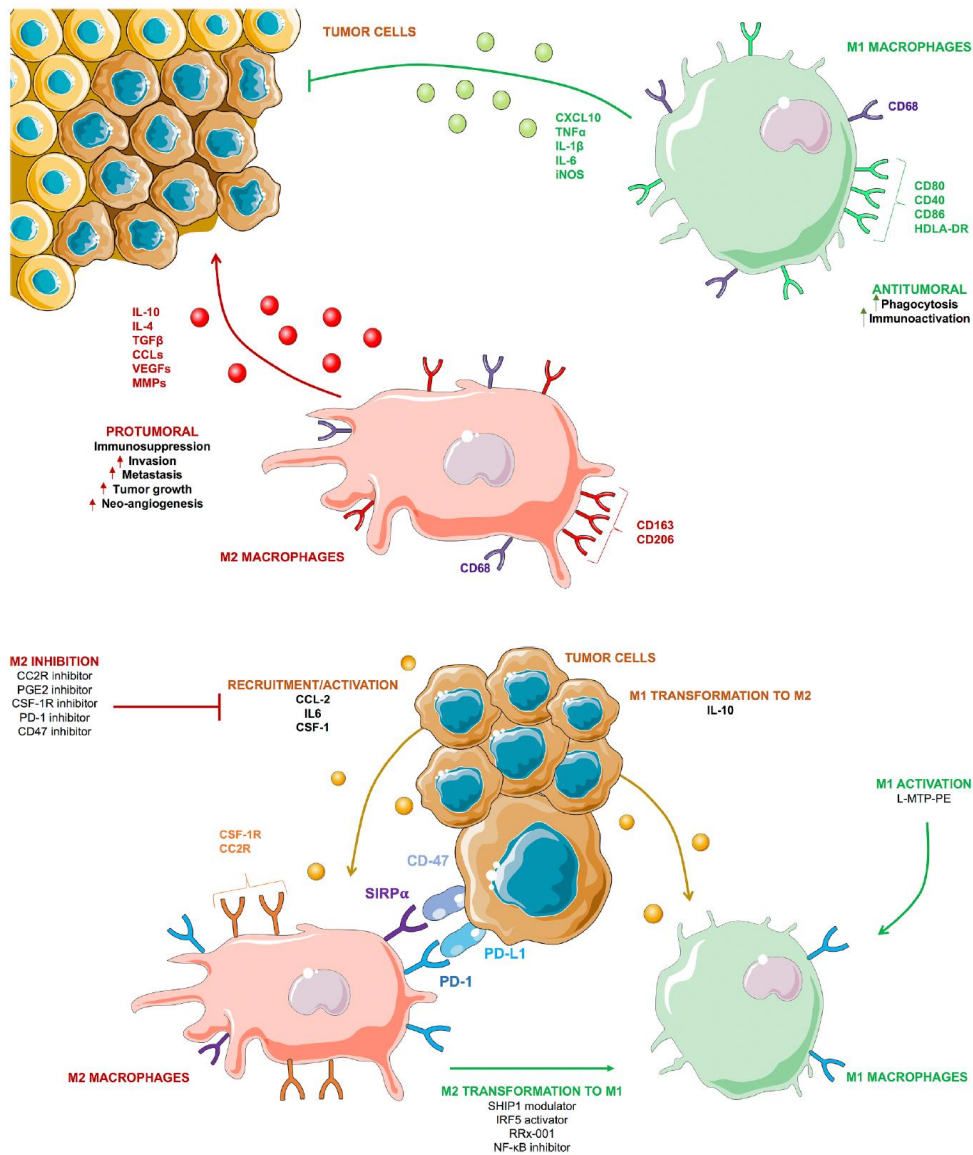


Figura 7. Fenotipos y funciones de macrófagos M1 y M2. Tomada de *Evrard et al.* (80)

Los marcadores más usados para identificar estos macrófagos asociados a tumores son el CD63 y CD163. El CD63 se expresa de manera común en numerosas células del sistema hematopoyético como los monocitos, los macrófagos, las células dendríticas, los neutrófilos o los basófilos (73). A diferencia de este, el marcador CD163 se expresa en los macrófagos M2, siendo un marcador esencial en la eliminación del complejo hemoglobina-

hapoglobina y en la inducción del sistema inmune innato, por lo que el CD163 es el utilizado para discriminar los macrófagos M2 de los M1 (73) (80).

En la literatura, se ha asociado mayor expresión de CD163 con peor pronóstico en numerosos tipos de cáncer como linfomas, gliomas, cáncer de pulmón, gástrico, de tiroides, de mama o de riñón (73) (79) (81). En cuanto al HNSCC, un metaanálisis reciente realizado por *Troiano et al.* (79) no encontraron relación estadísticamente significativa entre el CD68+ (ni de manera general ni separando por microambientes tumoral o estromal) con la OS o DFS, pero sí un peor pronóstico cuanto mayor expresión de CD163+ en el estroma tumoral, no encontrando dicha relación en el tejido tumoral. Otros como *Hu et al.* (78), en cambio, encontraron peor pronóstico con niveles altos de CD68 en el tejido tumoral, pero no en el estroma y una relación estadísticamente significativa entre el CD163 intratumoral y estromal con peor pronóstico. En general, no se han relacionado los niveles de CD68+ ni de CD163+ con las metástasis cervicales ni con el estadio tumoral, ni otras variables clínicopatológicas (73) (79). Una posible explicación para las diferencias obtenidas entre estudios es que se ha visto que estos marcadores pueden expresarse no solo en los MATs, sino también en las células tumorales del OSCC (78).

Algunos autores como *Weber et al.* (82) analizaron la diferencia en la concentración de los marcadores CD163 y CD68 en la muestra de la biopsia preoperatoria en casos de OSCC, frente a la pieza de resección tumoral tras la cirugía con intención curativa. Vieron que la expresión de CD163+ y el cociente CD163/CD68 era mayor en la pieza de resección tumoral frente a la biopsia diagnóstica, independientemente del tiempo entre ellas, no encontrando dicha asociación en otros parámetros como el

CD68, confirmando la hipótesis de una mayor polarización de los macrófagos a M2 en el microambiente tumoral, y un incremento de esta polarización desde la biopsia preoperatoria hasta la cirugía curativa, pudiendo esta estar asociada a una progresión tumoral acelerada.

La compresión del microambiente tumoral y su relación con la progresión del cáncer es imprescindible para la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas en este tipo de tumores, como pueden ser bloqueantes de los MATs o marcadores que reprogramen los M2 en M1, de cara a frenar el crecimiento tumoral y mejorar el pronóstico de los HNSCC.

Neutrófilos asociados a tumores (TANs)

A pesar de ser una de las células más abundantes en sangre periférica, el papel de los neutrófilos infiltrantes de tumores (TANs, por sus siglas en inglés *tumor-associated neutrophils*) en la progresión tumoral es menos conocido. Debido a que los neutrófilos secretan una gran variedad de mediadores inmunomoduladores es adecuado pensar que existe una interacción recíproca entre estos y el tumor (83) (84). Influenciados por los MATs, los neutrófilos liberan factores que promueven la adhesión a la matriz celular y la migración de las células tumorales, además de otras actividades protumorales como la angiogénesis o la inmunosupresión (83), relacionándose en algunos tumores de cabeza y cuello una elevada concentración de neutrófilos en el microambiente tumoral con estadios avanzados, sugiriendo que los neutrófilos puedan tener un papel importante en la patogénesis y

desarrollo del cáncer (84). El primer estudio que identificó la presencia de TANs como un factor pronóstico fue en 2006, en relación con el cáncer renal de células claras (85). Posteriormente, los TANs se han asociado con peor pronóstico en algunos tipos de cáncer, como el melanoma, el cáncer renal, el colorectal, el carcinoma hepatocelular y el cáncer gástrico (83) (86) (87) (88).

Linfocitos infiltrantes de tumores (TILs)

Similar a lo que sucede con los macrófagos, el microambiente tumoral incluye linfocitos infiltrantes de tumores (TILs, por sus siglas en inglés *tumor-infiltrating lymphocytes*). Los linfocitos T se clasifican en función de su acción como células T *natural killer* (NK), linfocitos T citotóxicos CD8+ y linfocitos T helper o colaboradores CD4+ (89).

Los TILs citotóxicos CD8+ se caracterizan por expresar el correceptor CD8+ (90) y son responsables de la identificación y eliminación de las células tumorales mediante el reconocimiento de antígenos específicos de tumores unidos a los receptores HLA tipo I (91). Esta eliminación la llevan a cabo mediante la secreción de citoquinas con efectos antitumorales y antimicrobianos, la producción y liberación de gránulos citotóxicos, y la activación de cascadas de señalización de caspasas lo que trae consigo la apoptosis de la célula tumoral (92). Uno de los mecanismos de escape de las células tumorales es la sobreexpresión del ligando de muerte programada PD-L1 (por sus siglas en inglés, *programmed death-ligand 1*) que se une al receptor específico (PD-1 o CD274) en las células T, las cuales, a su vez, generan una señal inhibitoria a los linfocitos T citotóxicos,

previniendo así la eliminación de las células tumorales por parte del sistema inmune (44) (93).

Los TILs helper o colaboradores CD4+ se caracterizan por expresar la molécula CD4 (90) y son responsables del control de patógenos intracelulares y extracelulares mediante el reconocimiento de péptidos unidos a las moléculas de HLA tipo II que se encuentran en células presentadoras de antígenos como los macrófagos, linfocitos B y las células dendríticas (94). Se subdividen en células Th1, Th2, Th17 en función de las citoquinas que producen (95). Los Th1 son cruciales en la activación de los linfocitos T citotóxicos CD8+ y los Th2 se encargan de estimular la inmunidad humoral y activar los eosinófilos (75).

Existe otra subpoblación, que son las denominadas células T reguladoras (Treg). Los linfocitos Treg se caracterizan por la coexpresión de CD4 y FOXP3 (96) y están involucrados en la interacción tumor-huésped mediante la regulación y supresión de la respuesta inmunitaria, suprimiendo la activación, la proliferación y las funciones efectoras de numerosos tipos de células incluidas las células T CD4+ y CD8+ (97). Generalmente, se evalúan mediante la detección inmunohistoquímica de FOXP3, que se considera su marcador más específico (96) (97). Se acepta que los TILs CD4+ Th1 y los linfocitos T citotóxicos CD8+ están involucrados en una inmunidad antitumoral efectiva, frente a los linfocitos Treg que están relacionados con la supresión de la inmunidad antitumoral (91) (93).

La presencia de TILs se asocia con un pronóstico favorable en algunos tumores (75) (91). Sin embargo, diferentes subtipos de linfocitos

tienen funciones diferentes o incluso opuestas en el microambiente tumoral. El OSCC es un cáncer que se encuentra en un entorno expuesto a múltiples microorganismos intraorales que frecuentemente se encuentra ulcerado e intensamente infiltrado por linfocitos. *Troiano et al.* (98) clasifican los OSCC en tres grupos en función del infiltrado linfocitario: *immune-inflamado*, cuando se encuentran TILs dentro del tejido tumoral; *immune-excluido*, cuando se evidencian TILs en el estroma tumoral; e *immuno-desierto*, cuando el tumor carece de TILs, siendo estos últimos los que mostraron peor pronóstico. En relación con las diferentes poblaciones de linfocitos, en los HNSCC la asociación entre las células T CD8+ se ha relacionado con un pronóstico más favorable, con mayor supervivencia general y específica (91) (90), al igual que en otros tumores sólidos (99), no encontrando la misma relación en el caso de los linfocitos T CD4+ (91). Esto se debe a que existen varios subtipos de linfocitos T CD4+ que tienen diferentes funciones, como los Th1 o Th2. Por lo tanto, la detección del CD4+ de manera conjunta no permite distinguir entre los diferentes subtipos (91). En el caso concreto del OSCC, a diferencia del carcinoma de orofaringe o de hipofaringe, algunos autores no han obtenido resultados significativos que relacionen tanto CD4+ ni CD8+ con mejor pronóstico (93) (100), mientras que otros sí relacionan mayores concentraciones de CD8+ con mejor supervivencia global en carcinomas orales (90). En relación con los linfocitos Treg, existe bastante controversia entre los diferentes estudios publicados. En el cáncer de pulmón y en los glioblastomas (101) (102), los Treg se han relacionado con peor pronóstico, mientras que en los tumores de cabeza y cuello se han relacionado con mejor pronóstico (91) (103). En el caso de los OSCC, altas concentraciones de linfocitos FOXP3+ se asociaron con un mejor

pronóstico, junto con la relación CD8+/FOXP3+ en el estroma tumoral, que resultó ser un factor pronóstico independiente en carcinomas orales (93). Estos resultados están en controversia con la hipótesis de que los linfocitos Treg presentan actividad protumoral mediante la inhibición del sistema inmune antitumoral, pudiéndose explicar por una diferente actuación de estos linfocitos en función de la localización y el estadio tumoral, cambiando a una actividad protumoral a medida que avanza el tumor (93), o debido a que las células Treg desempeñan un papel de supresión de la respuesta inflamatoria ineficaz, que se asocia con la promoción de la progresión tumoral (91). Con respecto a lo anterior, hay que tener en cuenta que a pesar de que el marcador FOXP3 es uno de los más específicos de los linfocitos Treg, no es específico de los linfocitos Treg activados (91), por lo tanto, la búsqueda y análisis de otros marcadores específicos de actividad puede ser necesaria para aclarar la relación con el pronóstico en tumores. De ahí que se precisen más estudios para entender la relación entre este subgrupo de linfocitos y el desarrollo del cáncer.

Los linfocitos B CD20+ son células presentadoras de antígenos y expresan fragmentos peptídicos unidos a las moléculas HLA tipo II siendo esenciales en la respuesta inmune humoral y como moduladoras de células T (94) (104). Tras la unión de un antígeno y con el apoyo de las citoquinas liberadas por los linfocitos Th, las células B se diferencian en células plasmáticas y producen anticuerpos específicos para el antígeno, participando así en la inmunidad humoral, además de regular la respuesta de las células T a los diferentes antígenos (104). El CD20 es una fosfoproteína que se encuentra en la membrana de los linfocitos B y que

pierden cuando se convierten en células plasmáticas, siendo utilizada como marcador de las células B mediante su detección con inmunohistoquímica (96). En el TME, dentro de la población de TILs se encuentran estos linfocitos B que pueden llegar a suponer desde un 25 a un 40% de todas las células en diferentes tipos de tumores, confirmando un papel importante en la inmunidad antitumoral junto con los linfocitos T y los macrófagos (96). Las células T citotóxicas CD8+ están relacionadas con las CD4+ Th1 y los macrófagos M1; mientras que, por el contrario, las Treg, los linfocitos B y los macrófagos M2 están relacionados con una respuesta Th2 promotora de tumores (96).

En relación con el OSCC, *Suárez Sanchez et al.* (96) relacionaron una menor concentración de CD20+ en el estroma, y unos bajos cocientes CD20+/CD8+, CD20+/CD68+, CD20+/CD163+ con estadios avanzados T3/T4, sugiriendo que la densidad de linfocitos B disminuye a medida que el tumor progresa.

Esta relación entre las células tumorales y su microambiente está evolucionando rápidamente gracias al creciente interés de cara a obtener terapias dirigidas en numerosos tipos de cáncer. Aclarar el valor pronóstico de la presencia de las células inmunitarias e inflamatorias infiltrantes de tumores podría conducir a una mejor comprensión del papel de los diferentes elementos del microambiente tumoral en OSCC. Además, la identificación de biomarcadores y valores clínico-patológicos predictivos que puedan condicionar el resultado final del tratamiento, es esencial para establecer tratamientos específicos dirigidos. En los próximos años es

probable que la inmunoterapia se implemente en los regímenes de tratamiento estándar de los pacientes con HNSCC.

Relación entre inflamación local con la inflamación en sangre periférica

Se ha planteado recientemente la hipótesis de que la inflamación local está relacionada con la inflamación a nivel sistémico, y que esta puede ser fácilmente determinada con una cuantificación de los parámetros en sangre periférica mediante un análisis de sangre habitual (105). La existencia de alteraciones inmunitarias en sangre periférica en pacientes con cáncer se mostró por primera vez en 1974 por *Bone and Lauder* (106) en relación con el cáncer gastrointestinal. Estos parámetros se han correlacionado con peores resultados clínicos en numerosos tipos de cánceres, incluido el OSCC, el cáncer colorectal, el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el de estómago, el de esófago, el cáncer de hígado, el de riñón, el de vesícula biliar y el de próstata, entre otros (105) (107) (108). La respuesta inflamatoria sistémica provocada por las células inmunitarias que se observa en el cáncer está interconectada con el déficit nutricional que se observa en los pacientes con cáncer, y afecta al pronóstico y al curso de la enfermedad independientemente del estadio del tumor (105).

La linfopenia detectada en pacientes con cáncer metastásico, puede explicarse por varios mecanismos: una destrucción de linfocitos inducida por células tumorales con ligandos pro-apoptóticos; una menor capacidad de respuesta de los linfocitos a la estimulación por alteraciones en el receptor de células T (TCR, por sus siglas en inglés *T-cell receptor*); o una

alta proporción de Treg que favorecen la inmunosupresión (99). Esta reducción en la proliferación y supervivencia de TILs tiene un impacto directo a nivel sistémico. La presencia de linfopenia se ha relacionado con tumores avanzados y peor pronóstico en el caso de cáncer de páncreas, melanoma, linfoma no Hodgkin, cáncer de mama y sarcomas (99) (109) (110). En HNSCC se ha visto que los linfocitos tienen mayor tasa de apoptosis, y que el recuento absoluto de los subtipos de linfocitos es menor si los comparamos con grupos libres de enfermedad (111).

Los neutrófilos son el tipo de leucocito circulante más abundante, representando la primera línea de la defensa inmune innata frente a patógenos. Una elevación de la cantidad de neutrófilos refleja una importante respuesta inflamatoria local y sistémica, que va asociada a una mayor secreción de citoquinas que promueven el crecimiento y la diseminación tumoral, además de una estimulación de la angiogénesis (112). Adicionalmente, la neutrofilia inhibe el sistema inmune mediante supresión de linfocitos citotóxicos, de linfocitos T activados y de células NK (107). Al contrario que los linfocitos, los neutrófilos se suelen encontrar aumentados en sangre periférica en tumores sólidos (99). En el caso de HNSCC, la concentración de neutrófilos es mayor, sobre todo a costa de células polimorfonucleares inmaduras (111).

Los monocitos también tienen un importante papel en la inflamación (105). Inicialmente tienen una acción antitumoral como células citotóxicas efectoras y células presentadoras de antígenos a los linfocitos (105) (113), pero a medida que progresa el tumor, las células tumorales modifican la actuación de los monocitos mediante la secreción de citoquinas inhibitorias, resultando en monocitos que favorecen la progresión tumoral mediante la angiogénesis y la inmunosupresión (105)

(113). Se ha observado que el valor de monocitos es un valor pronóstico independiente en carcinomas escamosos de orofaringe, resultando en peor pronóstico en aquellos casos con recuentos de monocitos elevados en sangre periférica (113). En general, la concentración de monocitos y su asociación con los linfocitos, se ha estudiado menos en la literatura.

La primera vez que se relacionaron las plaquetas con el cáncer fue en 1992 por *Honn et al.* (114) Los tumores producen factores que activan las cascadas de coagulación, para producir trombina y activar los receptores de trombina en plaquetas y células tumorales, generando una trombocitosis paraneoplásica, que a su vez incrementa significativamente el número de plaquetas circulantes (115). Las células tumorales activan y promueven la agregación plaquetaria, formando émbolos de células tumorales y plaquetas que facilitan la supervivencia y diseminación del cáncer, ya que favorecen la evasión de dichas células tumorales al sistema inmunitario, las protegen de las altas fuerzas de cizallamiento del flujo dentro de los vasos sanguíneos y facilitan su adhesión al endotelio vascular y su migración a través de él (115) (51). Se ha demostrado que los recuentos elevados de plaquetas, incluso dentro de los rangos normales, están asociados con una mayor incidencia de cáncer (116), y que los pacientes con metástasis tienen un recuento de plaquetas significativamente mayor previo al tratamiento en comparación con los que no tienen metástasis (111).

Recientemente, se ha incrementado el número de artículos en la literatura que estudian no solo la relación del cáncer con la linfopenia, con la trombocitosis y con la leucocitosis, si no que incluyen cocientes combinando las concentraciones en sangre periférica de dichos linfocitos, leucocitos, monocitos y plaquetas entre sí, generando índices específicos,

los cuales se han correlacionado con la supervivencia de los pacientes con cáncer (105) (72) (113) (117).

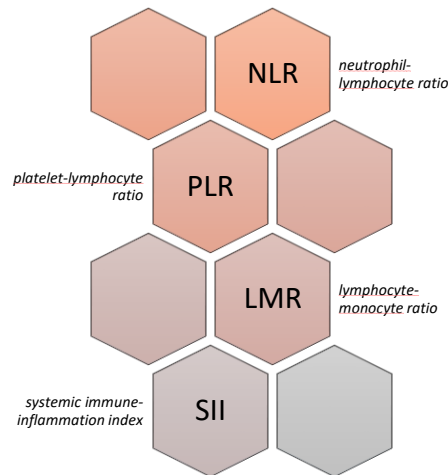


Figura 8. Índices inflamatorios: el índice neutrófilos-linfocitos (NLR, por sus siglas en inglés *neutrophil-lymphocyte ratio*), el índice de plaquetas-linfocitos (PLR, por sus siglas en inglés *platelet-lymphocyte ratio*), el índice de linfocitos-monocitos (LMR, por sus siglas en inglés *lymphocyte-monocyte ratio*) y el índice de inmunidad-inflamación sistémica (SII, por sus siglas en inglés *systemic immune-inflammation index*).

Hasta la fecha, no existe consenso sobre el valor pronóstico de NLR, PLR, LMR y el SII en pacientes con OSCC, siendo, además, rara vez estudiados de manera simultánea en la misma serie de pacientes (118) (112). Asimismo, la relación entre el número de células y sus cocientes, tanto en sangre periférica como en el TME, no han sido evaluados adecuadamente en el caso de OSCC.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Las hipótesis sometidas a contraste en este estudio son:

1. Los índices inflamatorios - cociente neutrófilos-linfocitos (NLR), cociente plaquetas-linfocitos (PLR), cociente linfocitos-monocitos (LMR) e índice de inmunidad-inflamación sistémica (SII)- medidos en sangre periférica antes del tratamiento quirúrgico realizado con intención curativa, en pacientes aquejados de un cáncer oral, ¿se asocian con variables clínico-patológicas de significado pronóstico y/o tienen significado pronóstico por sí mismos?
2. Los índices inflamatorios -NLR, PLR, LMR, SII- medidos en sangre periférica ¿se correlacionan con la infiltración tumoral por linfocitos B o T y macrófagos?

OBJETIVOS

1. Estudiar la potencial asociación existente entre los índices inflamatorios sistémicos (NLR, PLR, LMR, SII) y las variables clínicas e histopatológicas en pacientes con OSCC.
2. Determinar el significado pronóstico de los índices inflamatorios NLR, PLR, LMR, SII evaluado en términos de supervivencia global y específica.
3. Investigar la potencial correlación existente entre los índices NLR, PLR, LMR y SII con el infiltrado de macrófagos, linfocitos T y linfocitos B en el tejido tumoral y estromal de carcinomas de células escamosas de la cavidad oral.

PACIENTES Y MÉTODO

PACIENTES Y MÉTODO

Selección de pacientes

El estudio realizado consiste en un diseño de cohortes retrospectivo en el que se han incluido 348 pacientes diagnosticados y tratados de un carcinoma oral de células escamosas (OSCC). Incluye todos los casos de pacientes con OSCC tratados en el servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario Central de Asturias, España, entre enero de 1996 y noviembre de 2007.

Los pacientes incluidos cumplían los siguientes criterios de inclusión:

- 1) Presentar un diagnóstico de OSCC con confirmación histopatológica.
- 2) No presentar antecedentes de otros carcinomas de cabeza y cuello.
- 3) No haber recibido radioterapia ni quimioterapia previa a la cirugía.
- 4) Seguimiento mínimo de 3 años tras la intervención quirúrgica.
- 5) Disponer de toda la información clínica, patológica y de laboratorio necesarias.

En cuanto a los criterios de exclusión, se definieron como:

- A. Recibir tratamiento crónico con corticoides.

- B. Recibir tratamiento crónico con inhibidores de la agregación plaquetaria.

- C. Diagnóstico de cualquier enfermedad inflamatoria sistémica.

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Todas las muestras y datos fueron procesados siguiendo los procedimientos operativos estándar con la aprobación del Comité Ético Regional del Principado de Asturias (aprobación el día 14 de mayo de 2019, con el número 136/19 para el proyecto PI19/01255).

Variables clínico-patológicas analizadas

Se recogieron de la historia clínica electrónica de todos los pacientes las siguientes variables:

- Demográficas
 - Sexo
 - Hombre
 - Mujer
 - Edad
 - < 65 años
 - > 65 años

- Clínicas e histopatológicas:
 - Índice de masa corporal (IMC)(kg/m²)
 - < 18,5: Bajo peso
 - Bajo peso grado 3 o déficit severo: < 16
 - Bajo peso grado 2 o déficit moderado: 16 a 17
 - Bajo peso grado 1 o déficit leve: 17 a 18,5
 - 18,5 a 24,9: Peso normal
 - 25 a 29,9: Sobrepeso
 - > 30: Obesidad
 - Obesidad clase 1 (de bajo riesgo): 30 a 34,9
 - Obesidad tipo 2 (de riesgo moderado): 35 a 39,9
 - Obesidad tipo 3 (de alto riesgo): > 40
 - Hábito de fumar
 - Fumador
 - No fumador

- Consumo de alcohol
 - Bebedor habitual
 - No bebedor habitual
- Tipo y localización del tumor primario
 - Lengua
 - Suelo oral
 - Surco gingival
 - Paladar
 - Mucosa yugal
 - Trígono retromolar
 - Multicéntrico
- Tamaño del tumor primario (8th edición de la clasificación del TNM de tumores malignos AJCC)
 - pT1
 - pT2
 - pT3
 - PT4
- Ganglios cervicales afectados (8th edición de la clasificación del TNM de tumores malignos AJCC)
 - pN0
 - pN1
 - pN2
 - pN3
- Estadio (8th edición de la clasificación del TNM de tumores malignos AJCC)
 - I
 - II

- III
- IV
- Grado histológico de diferenciación
 - G1: bien diferenciado
 - G2: moderadamente diferenciado
 - G3: pobremente diferenciado
- Estadio clínico al final del periodo de seguimiento:
 - Vivo y libre de enfermedad
 - Muerte por el cáncer
 - Pérdida de seguimiento o muerte por otras causas
 - Segundo primario

Determinación de células sanguíneas

Una vez recopiladas las variables clínicas y patológicas se recopilaron, también de la historia electrónica, los datos relacionados con los resultados de laboratorio.

A todos los pacientes, se les realizó un estudio analítico completo que consistía en hemograma, coagulación y bioquímica una semana antes de la intervención quirúrgica. Dentro del hemograma se registraron el recuento total de neutrófilos, de linfocitos, de monocitos y de plaquetas.

La asociación entre estas células inflamatorias en sangre periférica se obtuvo con el cálculo de los siguientes cocientes:

- a) NLR (*neutrophil to lymphocyte ratio*): se definió como el recuento de neutrófilos dividido por el recuento de linfocitos.

$$NLR = \frac{N}{L}$$

- b) PLR (*platelet to lymphocyte ratio*): se calculó dividiendo el recuento de plaquetas entre el recuento de linfocitos.

$$PLR = \frac{P}{L}$$

- c) LMR (*lymphocyte to monocyte ratio*): se obtuvo dividiendo el recuento de linfocitos entre el recuento de monocitos.

$$LMR = \frac{L}{M}$$

- d) SII (*systemic immune-inflammation index*): se calculó multiplicando el recuento de neutrófilos por el de plaquetas, y a su vez dividido por el recuento de linfocitos. Este también puede ser calculado multiplicando el número absoluto de plaquetas por el NLR.

$$SII = P * \frac{N}{L}$$

$$SII = P * NLR$$

Muestras histológicas y análisis inmunohistoquímico

De los 348 pacientes con OSCC, se seleccionaron de manera aleatorizada 119 muestras de carcinomas escamosos orales, a los cuales se les realizó un estudio inmunohistoquímico para determinar los subgrupos de linfocitos y macrófagos asociados al TME, diferenciando entre el tejido tumoral y el estroma tumoral. Se evaluaron de manera separada las diferentes poblaciones de células inmunitarias:

- A. CD4+: linfocitos T helper.
- B. CD8+: linfocitos T citotóxicos.
- C. FOXP3+: linfocitos Treg.
- D. CD20+: linfocitos B.
- E. CD68+: común a macrófagos M1 y M2.
- F. CD163+: exclusivo de macrófagos M2.

En cada bloque tumoral de parafina, se seleccionaron 3 áreas morfológicas representativas, incluyendo áreas de tumor sin zonas de necrosis.

Adicionalmente, como controles negativos internos, cada TME contenía muestras de mucosa oral normal de pacientes no oncológicos sometidos a cirugía oral.

Los microarrays tirulares se cortaron en secciones de 3 μm , y se desecaron en critales Flex IHC (DakoCytomation, Glostrup, Denmark). Las secciones fueron deparafinadas con xileno e hidratadas con alcoholes graduados. La recuperación antigénica se llevó a cabo calentando las

secciones con una solución de Envision Flex Target Retrieval, pH alto (Dako, Glostrup, Denmark). Las tinciones se realizaron a temperatura ambiente de forma automática (DakoAutostainer Plus, Dako).

Se utilizaron los siguientes anticuerpos primarios:

- I. Anticuerpo monoclonal de ratón anti-CD4 (Dako, clon 4B12, dilución 1:80).
- II. Anticuerpo monoclonal de ratón anti-CD8 (Dako, clon C8/144B, prediluido).
- III. Anticuerpo monoclonal de conejo anti-FoxP3 (Cell SignallingTechnology, clon D6O8R, dilución 1:100).
- IV. Anticuerpo monoclonal de ratón anti-CD20 (Dako, clon L26, número de catálogo M0755; dilución 1:200).
- V. Anti-CD68 (Agilent-Dako, clon KP1, prediluido).
- VI. Anti-CD163 (Biocare Medical, Pacheco, CA, EE. UU.; clon 10D6, dilución 1:100).

Se evaluaron mediante el sistema de visualización DakoEnVision Flex + VisualizationSystem (DakoAutostainer), y se utilizó como sustrato el cromógeno de diaminobencidina. Los controles negativos se prepararon omitiendo el anticuerpo primario. Los controles positivos se prepararon utilizando portaobjetos de control positivo apropiados. El paso final de contratinción, se realizó con hematoxilina.

La cuantificación de la señal para los marcadores de CD4, CD8, FOXP3, CD20, CD68 y CD163, tanto en el tejido tumoral como en el

estroma circundante, se determinó calculando el promedio de células teñidas positivamente en cada área de 1 mm² de tres campos microscópicos representativos independientes con señal elevada (HPF, 400 x ; 0,0625 μm²).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas con distribución normal se presentaron como media y desviación estándar, y los datos categóricos se expresaron como porcentaje. Se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para analizar la correlación entre variables continuas; y los test no paramétricos de Mann-Whitney y de Kruskal-Wallis, para estudiar la asociación entre las variables continuas de NRL, PLR, SII, y LMR, con los subgrupos de pacientes.

Para determinar los valores de corte ideales de NRL, PLR, LMR y SII, se utilizó el análisis de la curva de ROC (en inglés, *receiver operating characteristic*). Las curvas de supervivencia se realizaron mediante un análisis de Kaplan-Meier, y la comparación entre las distintas funciones de supervivencia se efectuó mediante el test de log-rank. Un análisis univariable y multivariable se llevó a cabo mediante el modelo de riesgos proporcionales de COX. Se calcularon también riesgos relativos de

supervivencia (Hazard Ratios, HR) con sus correspondientes intervalos de confianza del 95%.

El evento final del análisis de supervivencia fueron la supervivencia global (OS por sus siglas en inglés *overall survival*) y la supervivencia específica de cáncer (DSS, por sus siglas en inglés, *disease specific-survival*).

- Supervivencia global: se midió como el intervalo de tiempo desde el tratamiento inicial hasta el momento de la muerte por cualquier causa o la última fecha de revisión.
- Supervivencia específica de cáncer: se midió como el intervalo de tiempo desde el tratamiento inicial hasta la fecha de la muerte causada por la progresión de la enfermedad.

Los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 21.0 (IBM Co., Armonk, NY, EE. UU.).

RESULTADOS

RESULTADOS

Variables clínicas

Las variables demográficas y clínico-patológicas de los 348 pacientes se muestran en la tabla 2. De los 348 pacientes, 221 eran hombres (63,5%). Las edades de los pacientes oscilaban entre los 28 años y los 92 años, siendo la edad media 62 años. Clasificando a los pacientes en función de su edad en dos grupos (mayores o menores de 65 años), obtenemos que aproximadamente la mitad (55%) son mayores de 65 años.

En cuanto al índice de masa corporal (IMC), la media se encuentra en 26,34. En relación con los factores de riesgo principales del cáncer oral, un alto porcentaje (58%) eran pacientes fumadores, mientras que menos de la mitad tenían un consumo perjudicial de alcohol (46%), siendo la mitad de los pacientes no bebedores habituales.

La localización del tumor más frecuente fue la lengua (n = 144, 41,4%), seguido del suelo de la boca (n = 77, 22,1%), relegando al triángulo retromolar, el paladar y la mucosa yugal a las localizaciones menos frecuentes con un total del 18,4% entre las tres localizaciones. Un pequeño porcentaje eran tumores con varias localizaciones a nivel intraoral, a los que denominamos multicéntricos.

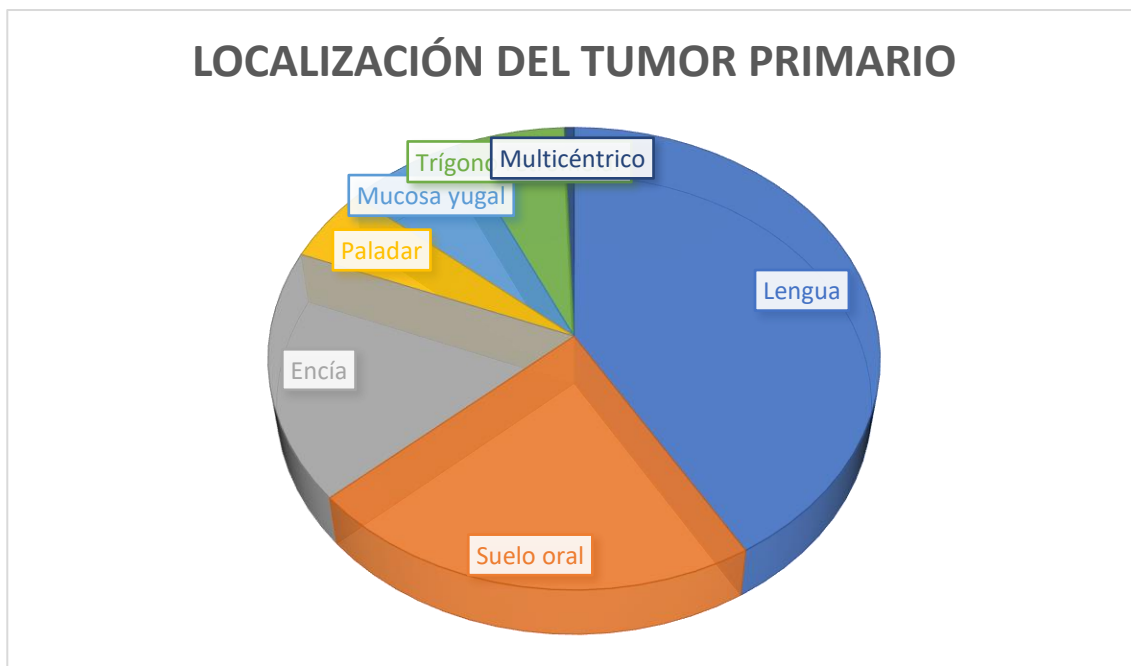


Figura 9. Localización del tumor primario en 348 pacientes con carcinomas escamosos de cavidad oral.

Con respecto al tamaño del tumor primario, más de dos tercios (68%) eran tumores menores de 4cm. Los ganglios cervicales en los pacientes analizados fueron mayoritariamente negativos (n = 211, 63,2%), y en caso de presentar metástasis cervicales, los estadios más repetidos eran pN1 o pN2, con un 17,1% y un 19,2%, respectivamente. Finalmente, en cuanto a los estadios clínicos, un 21,6% (n =75) eran un estadio I; un 28,2% (n=98) estadio II; un 17,8% (n =62) estadio III; y un 32,5% (n = 113) eran un estadio IV.

En lo referente a la diferenciación histológica del tumor, la mayoría eran tumores bien diferenciados (n = 216, 62%), siendo una minoría tumores poco diferenciados (n = 14, 4%).

Todos los pacientes fueron sometidos a cirugía del tumor primario con intención curativa. Como se especificó previamente, se excluyeron pacientes con tratamiento previo de quimioterapia o radioterapia. Un total de 174 pacientes (50%) recibieron radioterapia adyuvante, y de estos, 35 pacientes (10%) recibieron además quimioterapia.

Tras la intervención se realizó un seguimiento de los pacientes. De todos ellos, 143 pacientes permanecían vivos y libres de enfermedad al completar el seguimiento; frente a 140 que murieron por causas relacionadas con el cáncer como recidivas. Casi un 20% del total de pacientes analizados murieron por otras causas independientes del tumor de cavidad oral o bien se perdió su seguimiento a lo largo del tiempo.

VARIABLES	NÚMERO (%)
Edad (años) (media \pmSD; mediana; rango)	62,36 \pm 13,19; 62; 28 – 92
< 65 años	192 (55)
> 65 años	156 (45)
IMC (kg/m²) (media \pmSD; mediana; rango)	26,34 \pm 4,68; 26,34; 16,90 – 51,75
Sexo	
Hombre	221 (63,5)
Mujer	127 (36,5)
Tabaco	
Fumador	202 (58)
No fumador	127 (36,5)
Desconocido	19 (5,5)
Alcohol	
Consume perjudicial de alcohol	160 (46)
No consumidor	172 (49,4)
Desconocido	16 (4,6)
Localización del tumor primario	
Lengua	144 (41,4)
Suelo oral	77 (22,1)
Encía	61 (17,5)
Paladar	18 (5,2)
Mucosa yugal	24 (6,9)
Trígono retromolar	22 (6,3)
Multicéntrico	2 (0,6)
AJCC pT	
pT1	89 (26,2)
pT2	142 (41,8)
pT3	49 (14,4)
pT4	60 (17,6)
AJCC pN	
pN0	211 (63,2)
pN1	57 (17,1)
pN2	64 (19,2)
pN3	2 (0,6)
AJCC estadio	
I	75 (21,6)
II	98 (28,2)
III	62 (17,8)
IV	113 (32,5)
Grado de diferenciación histológica	
G1	216 (62,1)

G2	118 (33,9)
G3	14 (4,0)
Estatus clínico al final del seguimiento	
Vivo y libre de enfermedad	143 (41,1)
Muerte por el cáncer	140 (40,2)
Pérdida de seguimiento o muerte por otras causas	61 (17,5)
Segundo primarios	4 (1,1)

Tabla 2. Características clínicas y patológicas de la cohorte de 348 pacientes seleccionados con OSCC.

<i>Parámetro</i>	<i>Media ± SD, mediana (rango)</i>
<i>Recuento de células en sangre periférica</i>	
<i>Neutrófilos, 10⁹/L</i>	4,72 ± 1,78; 4,30 (1,10 – 10,70)
<i>Linfocitos, 10⁹/L</i>	2,15 ± 0,97; 2,00 (0,40 – 11,70)
<i>Plaquetas, 10⁹/L</i>	254,97 ± 79,24; 249; 67 - 659
<i>Monocitos, 10⁹/L</i>	0,65 ± 0,70; 0,55 (0,00 – 9,00)

Tabla 3. Marcadores inflamatorios en 275 pacientes con OSCC.

Todos los pacientes fueron ingresados para ser sometidos a un tratamiento quirúrgico. Previamente al ingreso, fueron sometidos a un estudio preoperatorio que incluía un hemograma a partir del cual se obtuvo un recuento total de neutrófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas.

Los recuentos totales de las células sanguíneas obtenidos en el hemograma son recogidos en la tabla 3.

Con el recuento absoluto ya obtenido, se calcularon los valores de NLR, PLR, SII, y LMR. Todos los valores de los índices calculados se muestran en la tabla 4.

<i>Parámetro</i>	<i>Media ± SD, mediana (rango)</i>
<i>Cocientes calculados</i>	
<i>NLR</i>	2,48 ± 1,26; 2,22 (0,25 – 7,86)
<i>PLR</i>	135,35 ± 58,35; 123,84 (18,03 – 416,25)
<i>SII</i>	639,87 ± 408,57; 524,85 (38,75 – 2.634,05)
<i>LMR</i>	3,96 ± 2,45 (0,255 – 27.00)

Tabla 4. Índices calculados para los 275 pacientes con OSCC. NLR, SII, LMR y PLR.

Asociación entre NLR, PLR, LMR, SII y las variables clínico-patológicas

Una vez calculado el recuento total de neutrófilos, linfocitos, monocitos, plaquetas y los índices que las relacionan entre sí, se estudió su posible correlación con las variables clínicas e histopatológicas recopiladas (tabla 5).

No se obtuvo relación significativa entre NLR, PLR, SII y LMR ni con la edad ni con el sexo de los pacientes. En cuanto a los factores de riesgo habituales, el tabaco no mostró ninguna relación con los índices estudiados, a diferencia del consumo de alcohol que sí mostró una asociación con el SII ($p = 0,039$). En lo referente a la localización de tumor primario se evidenció una relación con el PLR y con el LMR ($p = 0,001$ y $p = 0,002$, respectivamente), no obteniendo significación en el caso de NLR y SII.

Dos de los cuatro índices inflamatorios estudiados mostraron una asociación negativa con el índice de masa corporal próxima a la significación estadística. Sin embargo, solo se alcanzó dicha significación en el caso del SII y del PLR ($p = 0,019$ y $p = 0,027$, respectivamente).

Variable	N	NLR Media (SD)	<i>p</i>	SII Media (SD)	<i>P</i>	LMR Media (SD)	<i>P</i>	PLR Media (SD)	<i>p</i>
IMC	321	-0,114 *	0,054	-0,140 *	0,019	0,11 *	0,063	-0,131 *	0,027
Edad (años)									
< 65	177	2,57 (1,80)	0,65	666,53 (455,23)	0,17	4,04 (2,76)	0,53	132,51 (59,84)	0,08
≥ 65	135	2,49 (1,18)		604,98 (336,44)		3,87 (1,99)		139,18 (56,23)	
Sexo									
Mujer	116	2,46 (1,15)	0,44	658,49 (373,57)	0,54	4,15 (1,71)	0,30	143,53 (55,88)	0,31
Hombre	196	2,59 (1,76)		628,87 (428,46)		3,85 (2,81)		130,03 (59,14)	
Tabaco									
No	112	2,47 (1,11)	0,48	615,55 (320,71)	0,37	3,95 (1,97)	0,84	140,20 (56,00)	0,81
Sí	181	2,59 (1,80)		655,80 (442,30)		4,01 (2,79)		132,03 (59,41)	
Consumo de alcohol									
No	155	2,42 (1,19)	0,25	584,77 (317,14)	0,039	4,01 (2,04)	0,99	134,31 (53,08)	0,80
Sí	141	2,62 (1,86)		681,55 (459,21)		4,01 (2,93)		136,08 (62,90)	
Localización del tumor primario									
Lengua	144	2,58 (1,87)	0,87	645,92 (409,32)	0,72	3,77 (1,87)	0,002	140,17 (63,14)	0,001
Suelo oral	77	2,37 (1,26)		601,63 (404,32)		4,47 (3,55)		121,86 (53,93)	
Encía	61	2,57 (1,32)		709,17 (484,22)		3,79 (2,38)		142,61 (50,44)	
Paladar	18	2,83 (1,53)		649,75 (458,42)		3,54 (1,38)		139,87 (62,29)	
Mucosa yugal	24	2,59 (1,48)		584,10 (266,51)		4,32 (1,87)		134,55 (65,71)	
Trígono	22	2,58 (1,00)		621,37 (263,82)		3,39 (1,25)		134,33 (44,36)	
retromolar									
Multicéntrico	2	1,44 (1,68)	336,89 (421,64)	10,59 (5,75)	0				

Tabla 5. Relación entre las variables clínicas y el índice NLR, SII, LMR y PLR en la cohorte de 348 pacientes con OSCC. * Coeficiente de correlación de Pearson.

En relación con las variables clínicas del tumor (T, N y estadio tumoral) se observó que índices altos de NLR y SII, se asociaban significativamente con mayor tamaño tumoral ($p = 0,001$ y $p < 0,0005$, respectivamente). También se encontró que valores altos de NLR y SII se asociaban con un estadio tumoral más avanzado ($p = 0,009$ y $p = 0,003$, respectivamente). Al contrario, el LMR y el PLR, no se asociaron significativamente con el tamaño ni con el estadio tumoral, aunque el LMR

estaba próximo a la significación estadística en ambos casos, sin alcanzarla ($p = 0,06$ y $p = 0,06$, respectivamente) (tabla 6).

Variable	N	NLR Media (SD)	<i>p</i>	SII Media (SD)	<i>P</i>	LMR Media (SD)	<i>P</i>	PLR Media (SD)	<i>p</i>
AJCC pT									
pT1	80	2,09 (1,02)	0,001	536,59 (346,73)	< 0,0005	4,49 (2,36)	0,06	123,82 (50,84)	0,24
pT2	131	2,44 (1,24)		579,87 (357,65)		3,91 (2,01)		126,07 (52,60)	
pT3	42	2,97 (1,14)		841,22 (401,80)		3,27 (1,11)		165,73 (51,28)	
pT4	52	3,05 (2,67)		744,63 (495,79)		4,03 (3,96)		152,20 (76,96)	
AJCC pN									
pN0	193	2,46 (1,22)	0,37	628,05 (384,10)	0,80	3,94 (2,07)	0,58	138,47 (59,07)	0,10
pN+	107	2,62 (2,00)		639,94 (398,37)		4,10 (3,12)		129,02 (56,24)	
Estadio tumoral									
I	70	2,03 (1,04)	0,009	516,28 (352,15)	0,003	4,62 (2,76)	0,06	122,79 (54,21)	0,37
II	89	2,52 (1,23)		598,56 (328,90)		3,84 (1,85)		132,63 (48,28)	
III	52	2,74 (1,23)		694,15 (371,66)		3,53 (1,45)		135,22 (50,52)	
IV	101	2,81 (2,11)		738,41 (497,74)		3,84 (3,00)		148,16 (71,55)	
Radioterapia postoperatoria									
No	153	2,51 (1,33)	0,57	626,10 (425,25)	0,55	3,84 (2,11)	0,37	136,39 (59,47)	0,32
Sí	151	2,53 (1,76)		647,07 (381,10)		4,16 (2,80)		127,97 (52,79)	
Grado histológico									
Poco diferenciado	191	2,44 (1,29)	0,17	629,15 (425,72)	0,56	4,08 (2,80)	0,27	132,71 (58,41)	0,45
Moderado o pobremente diferenciado	121	2,69 (1,91)		656,80 (381,03)		3,77 (1,77)		139,78 (57,77)	
Estado clínico al final del seguimiento									
Vivo y libre de enfermedad	130	2,44 (1,15)	0,71	602,56 (326,49)	0,45	4,03 (2,07)	0,86	132,36 (54,21)	0,13
Muerto por razones oncológicas	120	2,66 (1,93)		676,69 (457,15)		3,98 (2,98)		134,65 (48,28)	
Pérdida de seguimiento o muerte por otras causas	58	2,56 (1,53)		636,85 (447,01)		3,75 (2,07)		144,11 (50,52)	
Segundo tumor primario	4	2,27 (1,68)		800,10 (699,74)		4,52 (2,09)		152,74 (72,79)	

Tabla 6. Relación entre las variables histopatológicas y los índices NLR, SII, LMR y PLR en la cohorte de 348 pacientes con OSCC. * Coeficiente de correlación de Spearman.

Además, se evidenció que los valores de NLR y SII, se incrementaban desde estadios clínicos precoces hasta estadios más avanzados, de manera gradual.

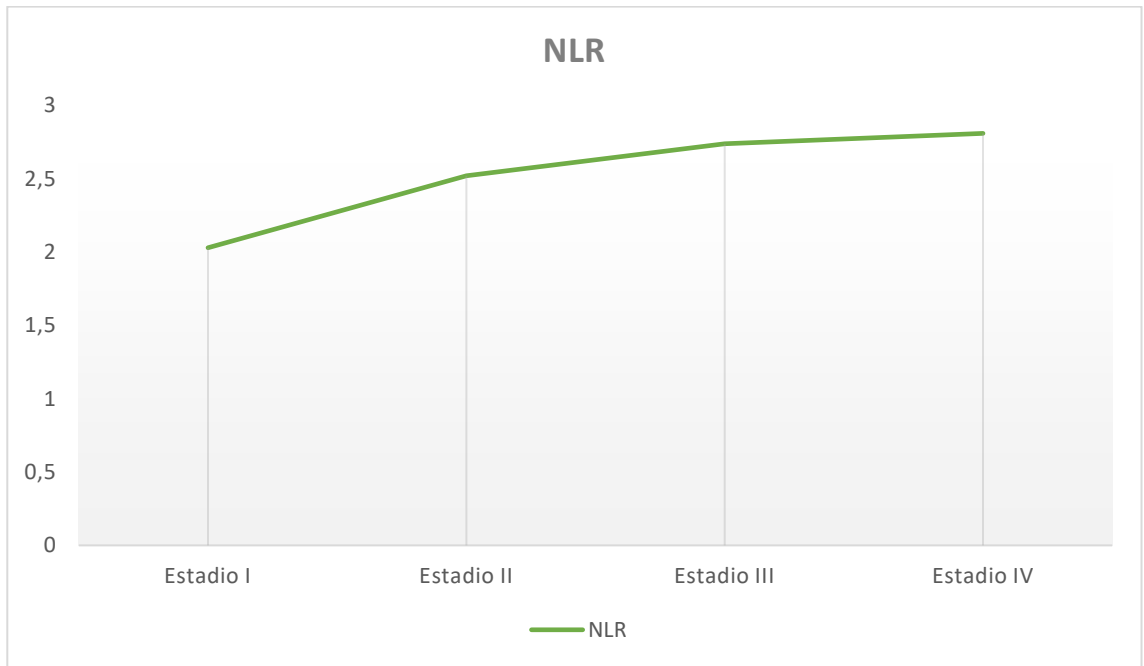


Figura 10. Valores de NLR en función de estadio tumoral.

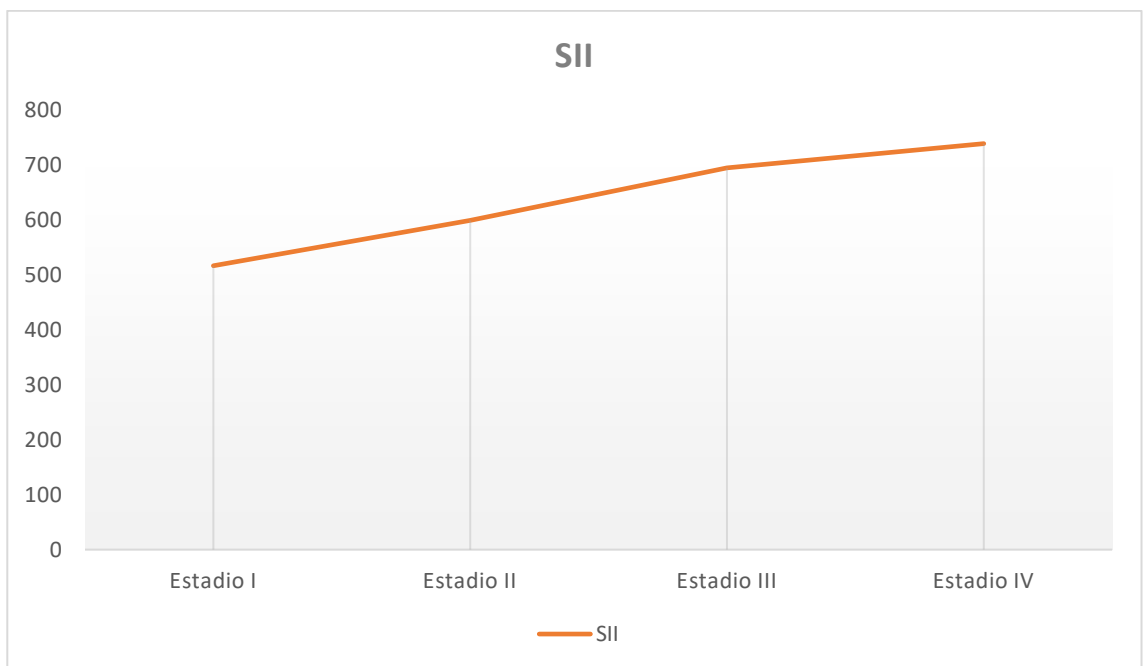


Figura 11. Valores de SII en función de estadio tumoral.

Se constató una tendencia hacia la asociación positiva entre los valores altos de NLR, PLR, LMR y SII, y la presencia de metástasis ganglionares, sin embargo, en ninguno de los casos se llegó a alcanzar la significación estadística.

Del resto de variables estudiadas como la diferenciación histológica, la radioterapia postoperatoria y la situación clínica del paciente al final del seguimiento, no se obtuvo asociación estadísticamente significativa con el NLR, PLR, SII y LMR.

Determinación de los valores de corte y la asociación pronóstica del NLR, PLR, LMR y SII

El seguimiento medio de los pacientes fue de 280 meses y mediano de 54 meses. En cuanto a la mediana de los tiempos de supervivencia específica y global, fueron 141 meses (rango de 108 a 173 meses) y 70 meses (rango de 48 a 91 meses), respectivamente. La supervivencia a 1, 3 y 5 años, fué de 78%, 63% y 54%, respectivamente. El área bajo la curva (AUC) para el NLR, PLR, LMR y el SII fueron de 0,520, 0,519, 0,532 y 0,447, respectivamente. Se realizaron análisis de curva ROC para todos los índices mencionados, pero ningún valor de corte demostró una relevancia pronóstica.

Por lo tanto, se usaron para estratificar las variables, percentiles. Cuando se usó el percentil 90 como punto de corte, se confirmó una asociación estadísticamente significativa con la supervivencia global en el caso del NLR y SII (4,08 y 1,137, respectivamente), encontrando lo mismo en el caso del percentil 75 del LMR (4,58). En consecuencia, los pacientes se dividieron en dos grupos basados en estos puntos de corte.

Como se muestra en la tabla 7 se comprobó la relación, en un análisis univariable, de la supervivencia global con la edad ($p=0,01$), el tamaño tumoral ($p < 0,0001$), la presencia de ganglios metastásicos ($p < 0,0001$), el estadio tumoral ($p < 0,0001$), radioterapia postoperatoria ($p < 0,0001$), NLR ($p = 0,007$), SII ($p = 0,003$) y LMR ($p = 0,02$), pero no así con el PRL ($p = 0,11$) ni con el grado histológico ($p = 0,17$) ni el consumo de tabaco o alcohol ($p = 0,6$ y $0,07$, respectivamente).

A pesar de que los cuatro índices inflamatorios mostraban una tendencia hacia la asociación con la supervivencia específica por cáncer, el tamaño tumoral, la afectación ganglionar, el estadio tumoral y la radioterapia postoperatoria fueron los únicos parámetros relacionados con DSS.

VARIABLE	SUPERVIVENCIA GLOBAL		SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR ENFERMEDAD	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
EDAD (AÑOS)				
< 65	1 (referencia)	0,01	1 (referencia)	0,10
≥ 65	1,439 (1,086 – 1,908)		1,325 (0,948 – 1,852)	
SEXO				
MUJER	1 (referencia)	0,06	1 (referencia)	0,46
HOMBRE	1,316 (0,978 – 1,771)		1,140 (0,805 – 1,614)	
TABACO				
NO	1 (referencia)	0,60	1 (referencia)	0,77
SÍ	1,099 (0,854 – 1,413)		1,046 (0,770 – 1,413)	
ALCOHOL				
NO	1 (referencia)	0,07	1 (referencia)	0,62
SÍ	1,222 (0,958 – 1,558)		1,075 (0,800 – 1,430)	
AJCC PT				
PT1	1 (referencia)	<0,0001	1 (referencia)	<0,0001
PT2	1,383 (0,936 – 2,045)	0,10	1,362 (0,835 – 2,220)	0,21
PT3	2,027 (1,250 – 3,288)	0,004	2,202 (1,223 – 3,963)	0,008
PT4	3,519 (2,280 – 5,430)	<0,0001	4,477 (2,691 – 7,446)	<0,0001
AJCC PN				
PNO	1 (referencia)	<0,0001	1 (referencia)	<0,0001
PN+	2,583 (1,938 – 3,442)		3,158 (2,236 – 4,461)	
ESTADIO TUMORAL				
I	1 (referencia)	<0,0001	1 (referencia)	<0,0001
II	1,377 (0,862 – 2,201)	0,18	1,594 (0,854 – 2,975)	0,14
III	1,967 (1,203 – 3,215)	0,007	1,967 (1,431 – 5,059)	0,002
IV	3,603 (2,349 – 5,526)	<0,0001	5,069 (2,893 – 8,881)	<0,0001
GRADO HISTOLÓGICO				
BIEN DIFERENCIADO	1 (referencia)	0,17	1 (referencia)	0,11
MODERADO O POBREMENTE DIFERENCIADO	1,216 (0,915 – 1,616)		1,315 (0,940 – 1,841)	
RADIOTERAPIA POSTOPERATORIA				
NO	1 (referencia)	<0,0001	1 (referencia)	<0,0001
SÍ	1,422 (1,228 – 1,647)		1,572 (1,336 – 1,849)	
NLR				
≤ 4,08	1 (referencia)	0,007	1 (referencia)	0,07

> 4,08	1,847 (1,179 – 2,895)		1,644 (0,956 – 2,829)	
PLR				
≤ 205	1 (referencia)	0,11	1 (referencia)	0,08
> 205	1,465 (0,908 – 2,363)		1,617 (0,939 – 2,784)	
SII				
≤ 1,137	1 (referencia)	0,003	1 (referencia)	0,18
> 1,137	1,979 (1,260 – 3,108)		1,479 (0,829 – 2,638)	
LMR				
≤ 4,58	1 (referencia)	0,02	1 (referencia)	0,07
> 4,58	0,668 (0,466 – 0,957)		0,665 (0,426 – 1,036)	

Tabla 7. Análisis univariable de Cox de supervivencia global y específica por enfermedad de 348 pacientes con OSCC.

La media y la mediana de la supervivencia global de los pacientes con carcinomas escamosos de la cavidad oral fueron clara y significativamente mayores cuando los valores del NLR y de SII eran más bajos que sus respectivos puntos de corte (valores de corte 4,08 y 1,137; HR 1,847 y 1,979, respectivamente), mientras que en el caso de los valores del LMR (valor de corte 4,58; HR 0,668), a medida que estos eran mayores que sus puntos de corte la supervivencia era mayor.

Con las variables estadísticamente significativas en el análisis univariable, se procedió a realizar un análisis multivariable mediante un modelo de regresión de COX. Tras ello, se evidenció que edades mayores de 65 años (HR = 1,498, p = 0,017), tumores con estadio III (HR 2,140, p = 0,005) o estadio IV (HR =3,708, p < 0,0001), radioterapia postoperatoria (HR = 1,431, p < 0,0001), y valores de NLR mayores de 4,08 de NLR (HR = 1,626, p =0,04) eran factores pronósticos independientes, relacionados con una peor supervivencia global. Adicionalmente, solo los estadios clínicos III (HR = 2,690, p = 0,003), IV (HR = 5,112, p < 0,0001) y la

radioterapia postoperatoria (HR = 1,598, $p < 0,0001$) permanecieron como factores pronósticos independientes en el análisis multivariable, en términos de supervivencia específica por cáncer (tabla 8).

VARIABLES	SUPERVIVENCIA GLOBAL		SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR ENFERMEDAD	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
EDAD (AÑOS)				
≤ 65	1 (referencia)			
> 65	1,498 (1,095 – 2,051)	0,017		
ESTADIO TUMORAL				
I	1 (referencia)	< 0,0001	1 (referencia)	< 0,0001
II	1,459 (0,956 – 2,227)	0,08	1,470 (0,855 – 2,526)	0,16
III	2,140 (1,255 – 3,649)	0,005	2,690 (1,399 – 5,170)	0,003
IV	3,708 (2,290 – 6,002)	<0,0001	5,112 (2,873 – 9,095)	<0,0001
RADIOTERAPIA POSTOPERATORIA				
No	1 (referencia)	<0,0001	1 (referencia)	<0,0001
Sí	1,431 (1,212 – 1,689)		1,598 (1,313 – 1,945)	
NLR				
≤4,08	1 (referencia)	0,04		
>4,08	1,626 (1,004 – 2,633)			

Tabla 8. Análisis de Cox multivariable de la supervivencia global y específica de cáncer en los 348 pacientes con OSCC.

Finalmente, se llevó a cabo un análisis por subgrupos en función de su estado oncológico al final del seguimiento solo en pacientes que fueron sometidos a radioterapia postoperatoria. Se realizó con la hipótesis de que esta cohorte podría ser más homogénea en términos de estadio tumoral y factores de riesgo, debido a que la respuesta clínica a la radioterapia está fuertemente relacionada con el sistema inmune. Los resultados de dicho análisis se muestran en la tabla 9.

Variable	OS		DSS	
	HR (95% CI)	<i>p</i>	HR (95% CI)	<i>p</i>
Edad(años) < 65 ≥ 65	1 (referencia) 1,676 (1,187 – 2,366)	0,003	1 (referencia) 1,662 (1,142 – 2,420)	0,008
Sexo Mujer Hombre	1 (referencia) 0,983 (0,685 – 1,411)	0,92	1 (referencia) 0,818 (0,556 – 1,204)	0,30
Tabaco No Sí	1 (referencia) 0,755 (0,517 – 1,102)	0,14	1 (referencia) 0,643 (0,431 – 0,960)	0,03
Alcohol No Sí	1 (referencia) 0,837 (0,600 – 1,166)	0,29	1 (referencia) 0,702 (0,488 – 1,010)	0,05
AJCC pT pT1 pT2 pT3 pT4	1 (referencia) 0,641 (0,401 – 1,022) 1,171 (0,669 – 2,051) 1,518 (0,918 – 2,511)	0,001 0,06 0,58 0,104	1 (referencia) 0,698 (0,411 – 1,185) 1,281 (0,679 – 2,416) 1,963 (1,137 – 3,390)	<0,0001 0,18 0,44 0,01
AJCC pN pN0 pN+	1 (referencia) 1,259 (0,881 – 1,801)	0,20	1 (referencia) 1,255 (0,847 – 1,860)	0,25
Estadio tumoral I II III IV	1 (referencia) 0,664 (0,356 – 1,241) 0,882 (0,498 – 1,562) 1,277 (0,766 – 2,128)	0,05 0,10 0,66 0,34	1 (referencia) 0,943 (0,464 – 1,914) 1,095 (0,557 – 2,151) 1,680 (0,919 – 3,071)	0,06 0,87 0,79 0,09
Grado histológico Bien diferenciado Moderadamente o pobremente diferenciado	1 (referencia) 0,973 (0,692 – 1,367)	0,87	1 (referencia) 0,993 (0,683 – 1,444)	0,97
NLR	1 (referencia)	0,23	1 (referencia)	0,69

≤ 4,08 > 4,08	1,418 (0,793 – 2,534)		1,142 (0,592 – 2,205)	
PLR ≤ 205 > 205	1 (referencia) 1,373 (0,734 – 2,565)	0,32	1 (referencia) 1,173 (0,588 – 2,341)	0,65
SII ≤ 1,137 > 1,137	1 (referencia) 1,556 (0,848 – 2,853)	0,15	1 (referencia) 0,883 (0,407 – 1,916)	0,75
LMR ≤ 4,58 > 4,58	1 (referencia) 0,720 (0,471 – 1,103)	0,13	1 (referencia) 0,636 (0,387 – 1,044)	0,07

Tabla 9. Análisis de regresión de Cox univariable de la supervivencia global y específica por enfermedad en el subgrupo de paciente con OSCC que recibieron radioterapia postoperatoria (184).

Se encontró que únicamente la edad y el tamaño tumoral estaban relacionados significativamente con la supervivencia global y específica de cáncer en el subgrupo de pacientes irradiados ($p = 0,003$ y $0,008$; $p = 0,001$ y $<0,0001$, respectivamente). En el caso del alcohol y el tabaco se relacionaron con la supervivencia específica por cáncer ($p = 0,03$ y $0,05$, respectivamente), pero no con la supervivencia global. A pesar de que existía una tendencia hacia la significación entre valores altos de NLR y SII con una peor supervivencia, la diferencia no alcanzó la significación estadística. Además, factores pronósticos como la afectación ganglionar (pN) no mostró asociación ni con la supervivencia global ni con la específica tras la radioterapia postoperatoria. Esto se puede explicar debido a la pérdida del efecto de dichas variables clínicas por la selección específica en este análisis de pacientes irradiados únicamente.

Análisis de correlación de NLR, PLR, LMR y SII, con el infiltrado de células inmunitarias en el microambiente tumoral.

A continuación, se realizó un estudio, por técnicas de inmunohistoquímica, de las densidades de los linfocitos B y T asociados a tumores (TILs), y de los macrófagos asociados a tumores (MATs) en el microambiente tumoral de 119 pacientes con OSCC, estudiados mediante técnicas de inmunohistoquímica. Además, se trató de determinar la posible relación de estas densidades de células inflamatorias en el tejido y estroma tumoral con los índices de inflamación sistémica obtenidos anteriormente con el análisis de sangre periférica. Para ello, se calculó de manera separada tanto en el tejido tumoral como en el estroma del mismo, la densidad de los linfocitos T infiltrantes CD8+, CD4+, y FOXP3+; de linfocitos B infiltrantes CD20+; y de macrófagos CD68+ y CD163+, con el fin de estudiar la correlación de dichos recuentos con los índices NLR, PLR, LMR y SII.

Con respecto a los TILs CD8+, se observó una correlación negativa entre los valores estromales de linfocitos con los valores de NLR y SII (-0,318, $p < 0,001$; y -0,26, $p < 0,001$, respectivamente). También, se observó una correlación positiva con los valores de LMR (0,442, $p < 0,0001$), a diferencia de los valores de PLR, donde no se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa (figura 12).

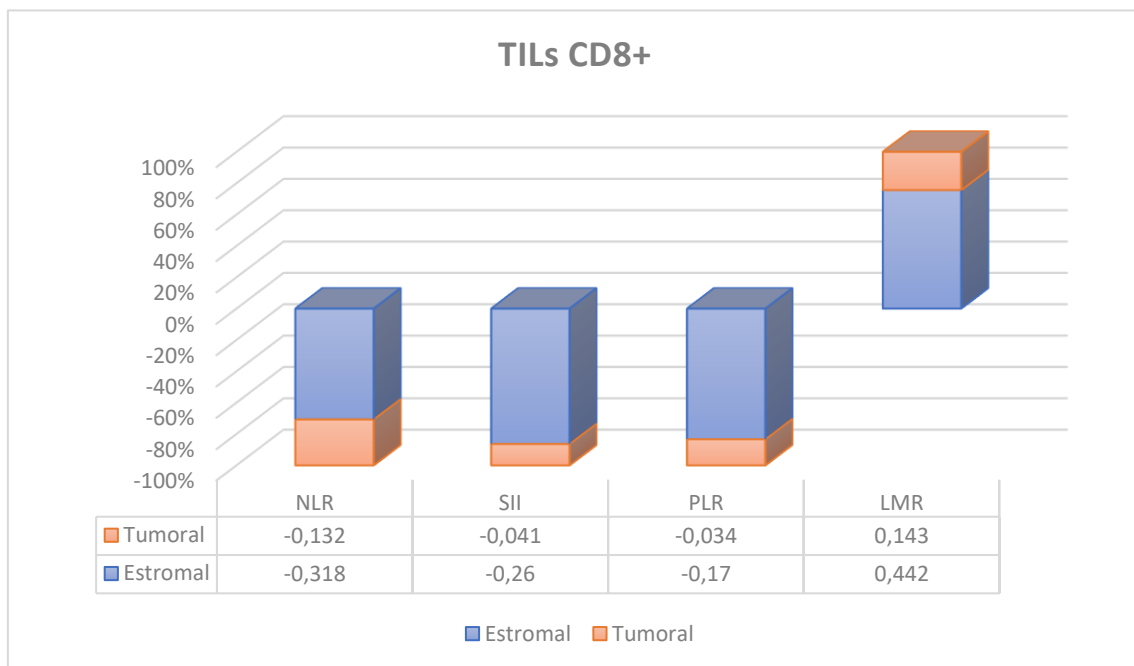


Figura 12. Correlación entre TILs CD8+ con los índices NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Spearman.
* Significación estadística ($<0,05$).

En lo referente a los TILs CD4+, sucede algo similar. Encontramos una asociación negativa entre sus densidades estromales con NLR y SII (-0,211, $p = 0,03$; -0,198, $p = 0,04$, respectivamente), y positiva con LMR (0,373, $p < 0,0001$). En este caso, además, existe una correlación entre LMR y la concentración de CD4+ en el tejido tumoral (0,256, $p = 0,008$) (figura 13).

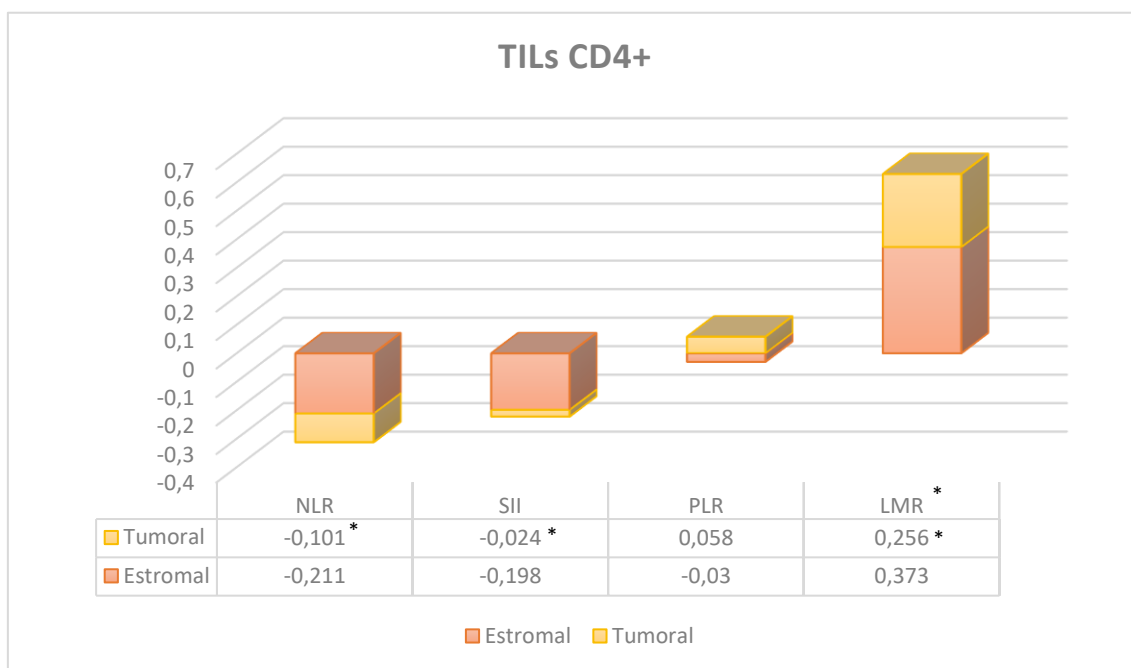


Figura 13. Correlación entre TILs CD4+ con los índices NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Spearman.

* Significación estadística ($< 0,05$).

En relación con los linfocitos B Treg FOXP3+, no se encontró ninguna relación estadísticamente significativa con ninguno de los valores de NLR, SII, PLR, y LMR (figura 14).

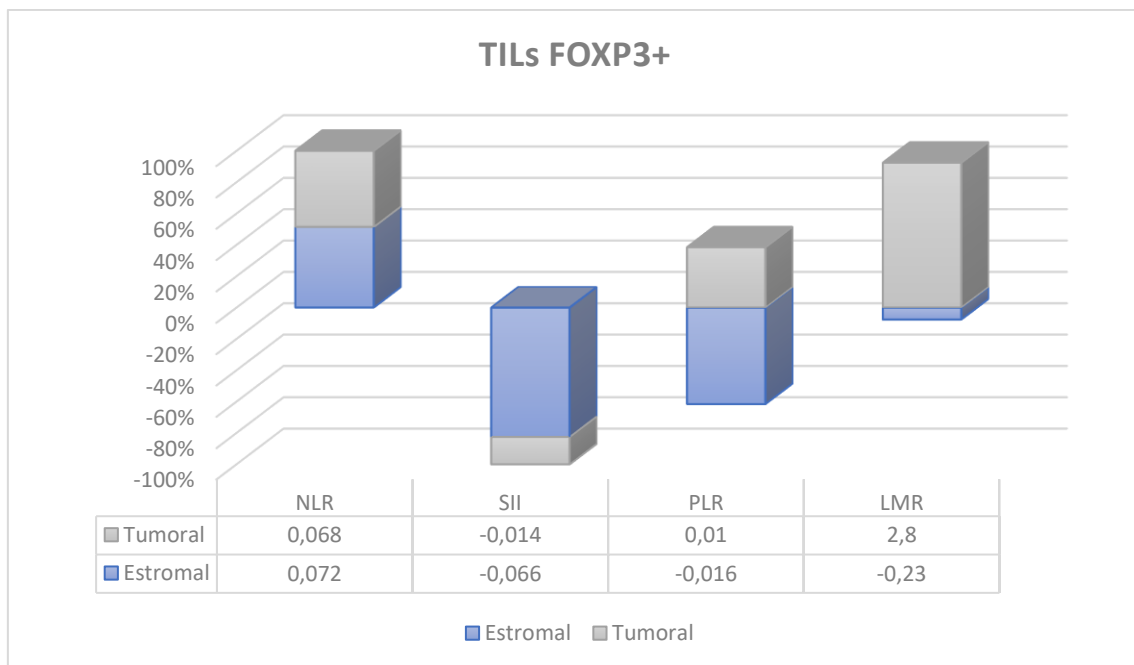


Figura 14. Correlación entre TILsFOXP3+ con los índices NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Spearman.

* Significación estadística (<0,05).

La densidad de linfocitos B CD20+ en el estroma tumoral, se correlacionó negativamente con el SII (-0,232, p = 0,02) y con el NLR (-0,216, p = 0,02); y positivamente con el LMR (0,193, p = 0,04), no habiendo encontrado asociación entre sus valores en el tejido tumoral, a excepción de la densidad tumoral de CD20+ con el índice LMR (0,272, p = 0,005); ni tampoco con las densidades estromales en el caso de PLR y NLR (figura 15).

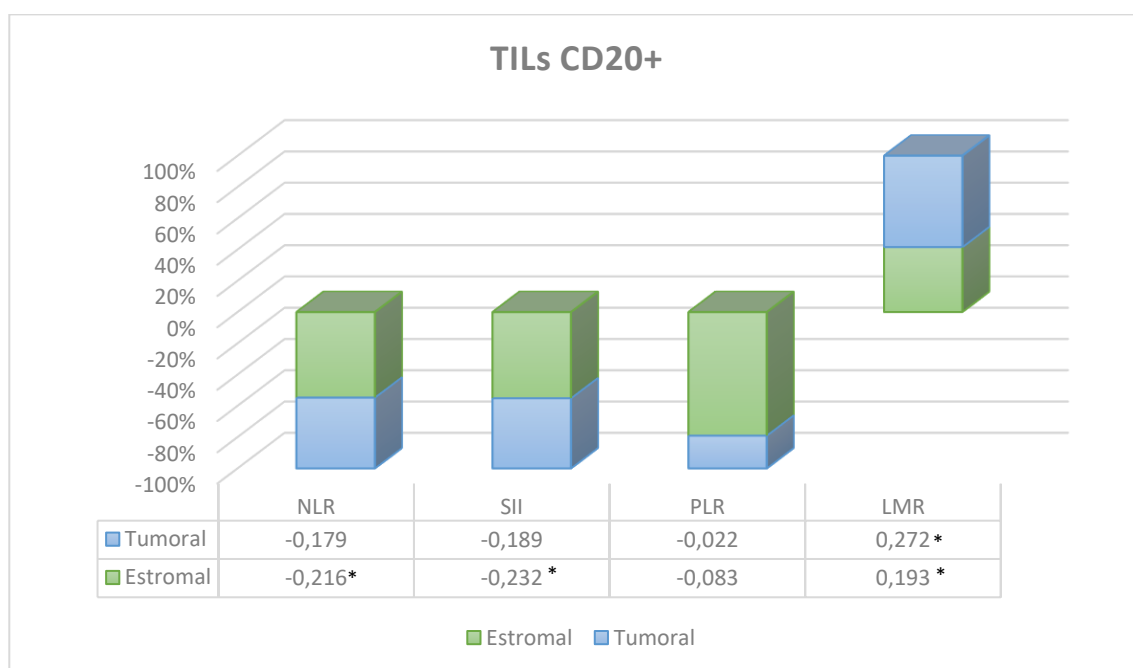


Figura 15. Correlación entre TILsCD20+ con los índices NLR, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Spearman.

* Significación estadística (<0,05).

Por último, en relación con los macrófagos asociados a tumores, solo se encontró relación estadísticamente significativa entre las densidades estromales de CD68+ y CD163+ con el índice LMR (0,326, $p = 0,001$; y 0,316, $p = 0,001$, respectivamente). Tanto el NRL, SII y el PLR, no mostraron asociación ninguna con la concentración de MATs tanto en el estroma como en el tejido tumoral (figura 16).

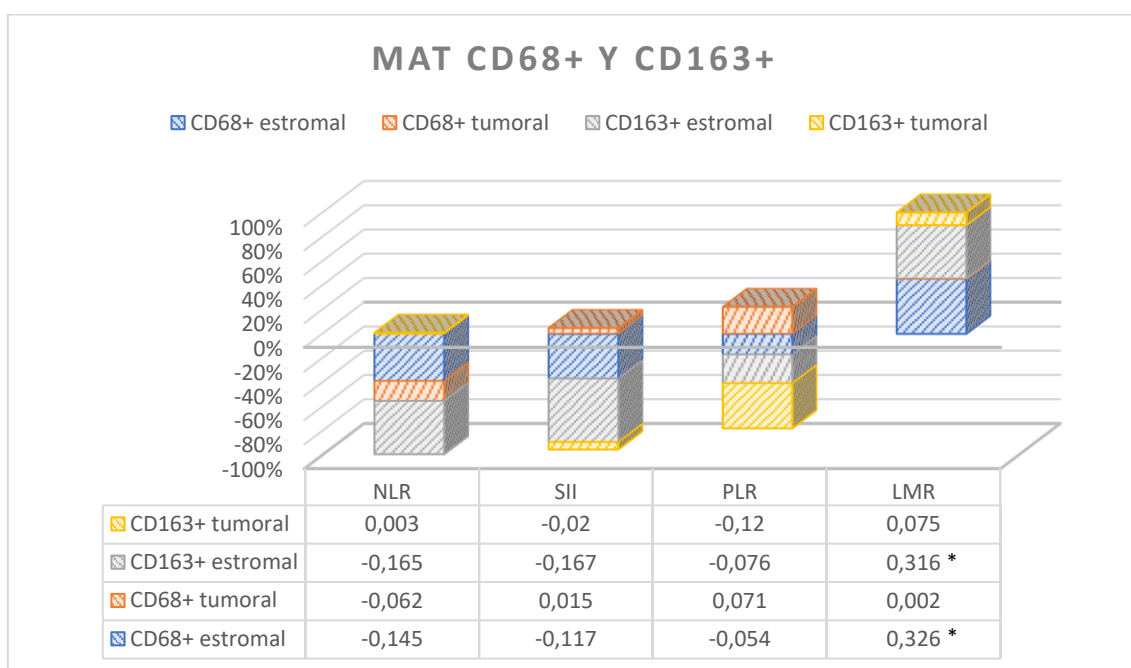


Figura 16. Correlación entre MATs CD68+ y CD163+ con los índices NRL, SII, PLR, LMR, tanto en el estroma como en el tejido tumoral. Coeficientes de Spearman. * Significación estadística (<0,05).

Como breve resumen, cabe destacar que la mayoría de las correlaciones mencionadas fueron con células inmunitarias localizadas en el estroma tumoral, siendo el cociente LMR el que se asoció de manera positiva con la densidad de linfocitos y macrófagos, a diferencia de los valores de NLR y SII que se relacionaban de manera mayoritariamente negativa. EL PLR no se relacionó con ninguna de las densidades de células inflamatorias a nivel estromal ni tumoral según muestran los resultados.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

En este estudio, se ha investigado cuatro marcadores inflamatorios sistémicos previos al tratamiento, su relevancia clínica y su posible potencial pronóstico en el OSCC.

Asociación pronóstica del NLR con el OSCC

El sistema inmune actúa como freno de la progresión tumoral, entre otras cosas debido a que previene infecciones por microorganismos, muchas de las cuales están asociadas de manera clásica con la carcinogénesis, como las infecciones por *Helicobacter pylori* en el cáncer gástrico o los VHB y VHB con el hepatocarcinoma (119). A su vez, las células tumorales regulan el sistema inmunitario en torno al tumor, de manera que estas comienzan a tener actividad protumoral, jugando entonces un doble papel en la progresión tumoral (72). La evidencia publicada indica que numerosos marcadores inflamatorios pueden predecir el pronóstico en varios tipos de cáncer, entre los que se encuentran los cánceres de cabeza y cuello (105).

Dentro de esta inmunidad, los neutrófilos juegan un papel fundamental en esta respuesta (118). Uno de los indicadores más estudiados en relación con los neutrófilos es el NLR. Estudios recientes han demostrado que el NLR puede reflejar fehacientemente el estado inflamatorio e inmunitario en pacientes con cáncer (120), informando del equilibrio entre la inflamación protumoral y el estado inmunitario antitumoral que mencionábamos previamente (121). El NLR es indicativo de neutrofilia y linfopenia, y valores elevados del mismo se han

relacionado con menor tiempo de supervivencia en pacientes con cáncer (107) (117) (118) (122). Los neutrófilos secretan factores de crecimiento y citoquinas que promueven la activación y desarrollo del cáncer, como son el VEGF y IL-6 que se han relacionado a su vez con peor pronóstico en pacientes con OSCC (123) (124). Por otro lado, los neutrófilos secretan proteasas que ayudan a degradar la matriz extracelular y las proteínas de la membrana basal, facilitando la migración de las células tumores (112), e inhiben la actividad citolítica de las células T y de las células NK (112). La linfopenia podría ser consecuencia de una respuesta inmunitaria deficiente por parte del huésped, debido a la destrucción de los linfocitos por parte de las células tumorales (99). La reducción en el número de linfocitos tiene como resultado una menor cantidad de citoquinas, como el INF y el TNF α , relacionados con los MATs, que de manera fisiológica promueven la apoptosis de las células tumorales, cuyo resultado final es una atenuación o disfunción del sistema inmunitario (112). Esto se refleja en un estudio llevado a cabo por *Diao et al.* (125) en el que observaron que recuentos altos de leucocitos y bajos de linfocitos en sangre periférica de pacientes con OSCC se asociaban con peor supervivencia global y menos tiempo de supervivencia libre de enfermedad. Con resultados similares, *Huang et al.* (126) confirmaron que recuentos elevados de leucocitos en pacientes con carcinoma de orofaringe se asociaban con menor supervivencia global a los 3 años, no encontrando en este caso significación en relación con los recuentos bajos de linfocitos. En este estudio, también comprobaron que de manera general el recuento de neutrófilos en sangre periférica se encontraba elevado en pacientes con cáncer oral. *Rachidi et al.* (127) analizaron de manera separada los recuentos absolutos de neutrófilos y linfocitos, demostrando que valores

elevados de neutrófilos se correlacionaban con recuentos bajos de linfocitos en HNSCC. Además, determinaron que a medida que se incrementaba el valor de neutrófilos, claramente se incrementaba el riesgo de mortalidad (por cada 1% de incremento en el porcentaje de neutrófilos, se incrementaba un 1% el HR de OS). De manera contraria, a medida que se incrementaban los valores de linfocitos, disminuía el riesgo de muerte (por cada 1% más de recuento de linfocitos, disminuía un 2% el HR de OS).

El valor pronóstico de NLR se ha demostrado en numerosos cánceres sólidos como tumores del tracto urinario, (108) el cáncer gástrico (128), el hepatocarcinoma (129), el cáncer de mama (130), el cáncer de ovario (131) y el cáncer de pulmón (132). Recientemente, en relación con HNSCC, *Kumarasamy et al.* (105) llevaron a cabo un metaanálisis donde la mayoría de los estudios incluidos (26 de 27) mostraron una correlación positiva entre niveles elevados de NLR y un peor pronóstico. En un estudio retrospectivo realizado por *Rassouli et al.* (111) se observó que valores elevados de NLR frente a valores bajos de NLR se asociaban con mayor recurrencia tumoral en HNSCC con una tasa del 35% frente a un 7%, respectivamente. *Diao et al.* (125) en su cohorte de 309 pacientes con OSCC observaron que el NLR también se asociaba con el tamaño tumoral. En otro metaanálisis llevado a cabo por *Takenaka et al.* (118) que incluía HRs para la supervivencia global en 16 estudios, con un total de 3.770 pacientes, encontraron que dos tercios de los estudios mostraban que niveles altos de NLR se asociaban significativamente con peor pronóstico, menor OS (HR = 1,69) y menor DSS (HR = 1,88) en HNSCC, mientras en el tercio restante no se obtuvo significación estadística. Dentro de este

metaanálisis solo 3 estudios incluían OSCC de manera aislada, encontrando que el NLR era un factor de mal pronóstico en el cáncer oral. De manera similar, *Tham et al.* (117) encontraron un peor pronóstico, con menor supervivencia global (HR 1,51) y específica por enfermedad (HR 1,50) en pacientes con HNSCC. *Mascarella et al.* (122) obtuvieron un HR para OS de 1,78 en pacientes con HNSCC y niveles elevados de NLR; frente a 1,56 en el caso de pacientes con OSCC y niveles elevados de NLR. De acuerdo con lo anterior, en un metaanálisis que incluía 5.475 pacientes con HNSCC realizado por *Yu et al.* (112) obtuvieron un HR de 1,84 para OS en pacientes con valores altos de NLR, y de 2,17 para DSS, respectivamente. Estos mismos autores, analizaron las mismas variables dividiendo la cohorte en subgrupos étnicos, viendo que tanto la población asiática como la caucásica conservaban esta relación pronóstica. Y en el caso de la tasa de recurrencia y metástasis tras el tratamiento, determinaron que pacientes con valores mayores de NLR presentaban un mayor riesgo de recurrencia (HR 1,63) y mayor probabilidad de metástasis a distancia (HR = 1,63) que pacientes con menor NLR. *Fang et al.* (133) estudiaron de manera específica la posible influencia de los niveles en sangre periférica de la proteína C reactiva y del NLR en pacientes con OSCC, encontrando que tanto los niveles elevados de PCR (>5 mg/L) y los índices de NLR por encima de 2,44 eran factores pronósticos independientes en pacientes con OSCC, relacionándose a su vez niveles altos de NLR con estadios avanzados, con la existencia de ganglios metastásicos, con la invasión de la piel adyacente, y con la profundidad de invasión. A diferencia de lo dicho previamente, *Ye et al.* (134) no encontraron ninguna asociación entre valores preoperatorios elevados de NLR y la supervivencia en pacientes con HNSCC.

En 2014 *Templeton et al.* (107) propusieron que la magnitud pronóstica del impacto del NLR pudiera estar influenciado por la localización del tumor. En 2016 en el estudio citado previamente llevado a cabo por *Rachidi et al.* (127) encontraron que en la cohorte de pacientes con valores altos de NLR, de todas las localizaciones posibles incluidas en cabeza y cuello, eran más frecuentes los localizados en cavidad oral, no estando claro si esto pudiera estar influenciado por la flora específica intraoral, por enfermedades periodontales concomitantes, por el tabaco o por otros múltiples factores. Posteriormente y en contraposición, *Takenaka et al.* (118) observaron que la magnitud del impacto pronóstico de NLR en OS fue diferente según la localización del tumor, teniendo un valor más alto en el caso del cáncer de orofaringe (HR = 4,6), seguida de la hipofaringe y la laringe, y menor para el OSCC (HR = 1,5). Estos resultados difieren entre estudios, por lo que la influencia pronóstica del NLR en función de la localización del tumor sigue no estando clara en la literatura y requiere de más estudios.

En nuestro estudio el NLR se asociaba con mayor tamaño tumoral, peor estadio clínico y peor OS. El HR encontrado en el presente estudio fue de 1,840, el cual se aproxima el descrito en la literatura que oscila en función de los artículos publicados desde un 1,92 a un 5,56 (117) (122). Cuando se estudian estos parámetros y su relación pronóstica con el cáncer, es importante tener en cuenta que los valores de NLR también se pueden encontrar elevados en trastornos benignos como la patología renal y coronaria (135), o estar alterados por factores de confusión como enfermedades inflamatorias sistémicas o autoinmunes o medicamentos antiinflamatorios, como los corticosteroides (122) (127).

En nuestro estudio, se realizó un análisis multivariable utilizando variables que se consideraron clínicamente relevantes y/o estadísticamente significativas a partir de un análisis univariable previo. Con ello, se encontró que pacientes con un valor de NLR mayor de 4,08 presentan un mayor riesgo de mortalidad global. Por el contrario, el SII, el PLR y el LMR no se asociaban con mayor riesgo de mortalidad en el análisis de regresión de COX multivariable, concluyendo que los valores elevados de NLR son un factor pronóstico independiente para la OS en pacientes con OSCC, siendo superior a los otros marcadores estudiados. De acuerdo con estos resultados, podríamos suponer que el impacto de estos marcadores inflamatorios en el pronóstico de este tipo de pacientes pueda estar relacionado con una respuesta deficiente del sistema inmunitario, con estadios avanzados de la enfermedad y con comorbilidades como enfermedades cardiovasculares o malnutrición. De hecho, todas estas condiciones afectan a la supervivencia global pero no a la supervivencia específica por enfermedad. La malnutrición en sí misma está relacionada con un mayor número de complicaciones postoperatorias, con mayor tasa de recurrencia del cáncer, mayor riesgo de infección postoperatoria y peor pronóstico (136). Además, varios parámetros bioquímicos como la albumina o la transferrina, o incluso los linfocitos, se pueden utilizar como marcadores nutricionales de manera rutinaria (137).

Asociación pronóstica del PLR con el OSCC

Se ha demostrado que los recuentos elevados de plaquetas, incluso dentro de los rangos normales, están asociados con una mayor incidencia

de cáncer (116), lo que sugiere que las plaquetas no solo están involucradas en la carcinogénesis, sino también en la progresión tumoral. Las plaquetas influyen en el crecimiento de las células tumorales, interactúan con estas activando vías de señalización que inducen la transición epitelio-mesénquimal a través de la secreción de TGF- β , favorecen la invasión vascular y diseminación hematológica (125) protegiendo a las CTCs del estrés de cizallamiento en el interior de los vasos sanguíneos, promueven la extravasación de las células tumorales (51), facilitan la evasión del sistema inmunitario y el establecimiento de un nicho metastásico (99) (115) (138), e incluso modulan la respuesta inmunitaria (116). Adicionalmente, se genera una trombocitosis paraneoplásica al aumentar la síntesis de trombopoyetina a nivel hepático, debido a secreción de IL-6 por parte de las células tumorales (138). Dichas células tumorales aumentan el número de plaquetas en sangre, no solo debido a la trombopoyetina y a la IL-6 mencionadas, sino también gracias a la secreción del factor inhibidor de la leucemia (LIF, por sus siglas en inglés *leukemia inhibitory factor*) (138) (139). Además, las plaquetas secretan TGF- β para suprimir las células NK, y VEGF para promover la angiogénesis tumoral, lo cual contribuye a la proliferación y metástasis del tumor (3) (140).

Ye et al. (134) determinaron que recuentos plaquetarios mayores de $248 \times 10^9 /L$, era un factor pronóstico independiente para la OS en HNSCC (HR 2,16), y cuando se combinaba con valores altos de NLR, el pronóstico era aún peor. Similares resultados obtuvieron *Diao et al.* (125), con peor pronóstico en el caso de pacientes con altos recuentos de plaquetas y bajos de linfocitos.

El PLR se ha utilizado para intentar predecir la supervivencia en pacientes con cáncer, pero según los estudios más recientes, existe cierta controversia sobre esta asociación. Algunos autores, han relacionado índices elevados de PLR con peor pronóstico en algunos cánceres sólidos como el cáncer de ovario (141), el cáncer de mama (142) o en cáncer colorectal (143). Concretamente en el HNSCC, el impacto de la trombocitosis y el PLR difiere significativamente entre los diferentes estudios. En un metaanálisis realizado por *Takenaka et al.* (138) que incluía 2293 pacientes, se encontró que un mayor recuento de plaquetas se relacionaba con peor OS (HR 1,81), pero no alcanzaba la significación estadística en el caso de la DSS. En este mismo análisis, incluyeron 7 estudios que hacían referencia al PLR, pero solo en dos de ellos los resultados fueron estadísticamente significativos, no correlacionándose en la mayoría de los estudios el PLR con la supervivencia en pacientes con HNSCC. De la misma forma, otros estudios similares referentes al cáncer de laringe no identificaron el PLR como un marcador pronóstico independiente (140). A diferencia de los anteriores, existen autores que sí observaron relación entre el PLR y mayor supervivencia (144) (145). Posteriormente, en un metaanálisis llevado a cabo por *Kumarasamy et al.* (105), se observó que en 23 de los 25 estudios incluidos para PLR en HNSCC, la mayoría encontraban una correlación positiva entre niveles elevados de PLR con peor pronóstico (HR 1,461), siendo solo 2 estudios los que no mostraron dicha correlación. Concretamente, *Ong et al.* (146) estudiaron estos parámetros en estadios precoces de cáncer de lengua, encontrando que en el análisis multivariable, tanto el recuento de linfocitos como el de plaquetas y el cociente PLR fueron factores pronósticos independientes. En un estudio retrospectivo, realizado por

Rassouli et al. (111) que incluía a 273 pacientes con HNSCC, se observó que pacientes con metástasis locoregionales tenían recuentos de plaquetas mayores previos al tratamiento, y que los índices elevados de PLR se asociaban significativamente con un mayor tamaño tumoral (T) y con peor supervivencia, pero no con un mayor riesgo de recidiva. A diferencia de ellos, *Szilasi et al.* (147) sí relacionaron una mayor mortalidad y una mayor tasa de recidivas con valores de PLR mayores de 170 en pacientes con HNSCC, pero no obtuvieron significación estadística cuando se incluyeron en el análisis multivariable. Además, estos dos autores investigaron la relación pronóstica de ambos índices mencionados de manera conjunta (NLR y PLR) y obtuvieron que la mortalidad global y la supervivencia libre de enfermedad era significativamente mayores cuando ambos valores estaban elevados y significativamente menores cuando estaban disminuidos, siendo la combinación de ambos un factor pronóstico independiente, y concluyen que la relación PLR/NLR es al menos tan buena como el estadiaje clásico TNM en cuanto a predictor de supervivencia en HNSCC (111) (147). Sin embargo, estos no son los primeros estudios que combinan el PRL con otros parámetros inflamatorios. Por ejemplo, *Caruntu et al.* (3) investigaron la asociación del PLR con el fibrinógeno en sangre, y observaron que pacientes con valores elevados de PLR y de fibrinógeno en sangre tiene mayor tasa de recidivas. Por ello, describieron un nuevo parámetro que combina el fibrinógeno en sangre con este índice de PLR (el FiPLA, por sus siglas en inglés *fibrinogen-PLR algorithm*), y concluyen que puede ser un parámetro útil para detectar pacientes con OSSC de alto riesgo, ya que nos aporta información conjunta sobre la inmunidad, inflamación y coagulación del paciente.

Al igual que pasaba con el NLR, algunos autores han evidenciado que la proporción de pacientes con valores altos de PRL varían en función de la localización primaria del tumor, siendo mayor el porcentaje en cáncer de hipofaringe, y menor en el caso de los tumores de orofaringe (147). Lo cual, como veremos posteriormente, influye en los valores de corte utilizados para cada tipo de cáncer, no debiéndose utilizar el mismo valor para diferentes localizaciones.

En síntesis, actualmente existe bastante controversia sobre la significación pronóstica de PLR en el OSCC. En general, la mayoría de los estudios muestran una tendencia hacia la significación, aunque parte no llega a alcanzarla. Al igual que en la literatura, en nuestro estudio no logramos demostrar una relación entre el PLR y el pronóstico en pacientes con OSCC. Por todo ello, es imprescindible continuar realizando estudios para aclarar esta relación pronóstica de las plaquetas con el cáncer, ya que puede ser útil de cara a utilizar fármacos con acción antiplaquetaria como puede ser la aspirina, ya utilizada como medicamento protector en determinados tipos de tumores sólidos (134).

Asociación pronóstica del LMR con el OSCC

Los monocitos también se encuentran entre las células sanguíneas implicadas en la relación inmunidad-inflamación con el cáncer. A lo largo de los últimos años, se ha estudiado su posible relación pronóstica en algunos tumores, como el cáncer de piel (148) o el hepatocarcinoma (149). Una posible explicación a la relación de los monocitos con la progresión tumoral es la activación progresiva de la inmunidad innata por parte de las células tumorales, ya que, por ejemplo, algunas proteínas que

atraen a los monocitos, como la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) se ha visto que está regulada al alza en determinados tumores (150). Además, la monocitosis puede estar asociada a un mayor número de células mielomonocíticas derivadas de la médula ósea, las cuales pueden infiltrarse en el tumor y diferenciarse en macrófagos asociados a tumores, los cuales liberan factores angiogénicos favoreciendo la progresión tumoral (150). Algunos autores defienden que los monocitos participan en la respuesta antitumoral de manera fisiológica, gracias a sus efectos citotóxicos y mediante la presentación de los antígenos tumorales a los linfocitos, pero que a medida que aumentan su número, las células tumorales mediante la secreción de citoquinas inhibitorias de INF γ , TNF α e IL2, modifican la función de estos monocitos, contribuyendo a la progresión tumoral (113). Por lo tanto, la búsqueda de dianas terapéuticas que bloqueen el reclutamiento de células mieloides, como los neutrófilos y los monocitos, pueden ser de utilidad para mejorar el pronóstico de los tumores de cabeza y cuello.

Se ha descrito que los niveles de monocitos se incrementan a medida que se incrementa el estadio clínico en OSCC, estando relacionado tanto con el tamaño tumoral (T) como con la presencia de metástasis ganglionares (N), siendo un factor pronóstico independiente en este tipo de tumores (150). De manera similar, en un estudio reciente realizado por *Takahashi et al.* (113) se vio que el recuento total de monocitos era un factor pronóstico independiente en carcinomas de orofaringe para OS, y que los niveles bajos de LMR se relacionaban con menor supervivencia a los 3 años. *Huang et al.* (126) encontraron la misma correlación en pacientes con cáncer de orofaringe VPH+ tratados con RT o QRT. En el caso de estadios precoces de cáncer de lengua, *Ong et al.* (146)

observaron que valores altos de monocitos y bajos de LMR estaban correlacionados con invasión perineural y con una mayor tasa de metástasis a distancia durante el seguimiento. En este mismo estudio, a diferencia de los anteriores, el recuento total de monocitos no alcanzó una relación estadísticamente significativa con la OS, pero esta sí se obtuvo en el caso de los linfocitos y el LMR. Vieron además que la gran mayoría de los pacientes que murieron a consecuencia de la progresión tumoral (88,9%) tenían valores altos de PLR y valores bajos de LMR, por lo que recomiendan realizar un seguimiento estrecho de estos pacientes a pesar de un tratamiento con márgenes libres y vaciamiento cervical, por ser pacientes de alto riesgo. De acuerdo con todo lo anterior, *Tham et al.* (151) en su metaanálisis que incluyó a 4260 pacientes con HNSCC en 7 cohortes, confirmaron que un valor elevado de LMR se asociaba con una mayor supervivencia (HR 0,5). Adicionalmente, otros autores como *Eltohami et al.* (152) observaron que valores bajos de LMR en pacientes con OSCC se asociaban con factores de mal pronóstico, como ENE o mayor espesor tumoral, y con estadios más avanzados, además de tener peor supervivencia a los 5 años. Pero posteriormente, y tras realizar un análisis multivariable, vieron que el LMR no tenía una relación estadísticamente significativa con la OS y ni la DSS. De la misma forma y en contraposición a los artículos inicialmente mencionados, *Tham et al.* (153) en otro estudio posterior de 2019 no encontraron correlación entre niveles de LMR y la OS en pacientes con HNSCC. Esta controversia se refleja en el metaanálisis llevado a cabo por *Kumarasamy et al.* (105) en 2021 con un total de 12 estudios para LMR de HNSCC, donde encontraron que 7 de ellos obtenían una correlación negativa entre niveles elevados de LMR y peor pronóstico, frente a 5 estudios que no obtuvieron resultados significativos.

En nuestro estudio, a pesar de que en el estudio univariable los pacientes por encima del percentil 75 de LMR se asociaban con mejor supervivencia global, cuando se analizaron los parámetros en el análisis multivariable, el HR obtenido no alcanzó la significación estadística. Lo mismo ocurría con el tamaño tumoral y el estadio tumoral. Por todo ello, aunque la evidencia tiende a relacionar valores altos de LMR con mejor pronóstico en pacientes con HNSCC, la relación pronóstica del LMR sigue sin estar clara hoy en día.

Asociación pronóstica del SII con el OSCC

Recientemente, en un estudio publicado por *Qi et al.* (154) en relación con el cáncer de páncreas se propuso un nuevo parámetro basado en la combinación de los recuentos totales de plaquetas, linfocitos y neutrófilos como factor pronóstico. Posteriormente, se ha visto que esta combinación es mejor que los recuentos aislados de células sanguíneas, ya que refleja mejor el equilibrio entre inflamación e inmunidad en pacientes con cáncer (155) (156). En nuestro estudio los datos analizados revelan una relación entre el SII, por un lado, y el consumo de alcohol, el tamaño tumoral y el estadio clínico, por otra parte, además de una correlación con la supervivencia global, no así con la específica por cáncer. Al analizar el SII en el análisis multivariable, este no mostró una relación estadísticamente significativa, no pudiendo considerarse un factor pronóstico independiente en OSCC. En la literatura, se ha relacionado el SII con peor pronóstico en el hepatocarcinoma (157), en tumores de células germinales de testículo ¹¹⁹ y en el cáncer de páncreas (158). En cuanto al SII en HNSCC, valores altos en el preoperatorio se han asociado con niveles más

altos de CTC (159), estableciendo una relación con el tamaño tumoral y estadios avanzados de OSCC (155). *Diao et al.* (155) en su estudio retrospectivo de 309 pacientes con OSCC observaron que los pacientes con un SII superior a un valor de corte de 484,5, tenían una supervivencia global y una supervivencia libre de enfermedad significativamente más bajas. Además, defiende que los parámetros inflamatorios (NLR, PLR, SII) son superiores o al menos comparables, en términos de capacidad predictiva para el pronóstico, a los parámetros tradicionales como son el tamaño tumoral, la presencia de ganglios metastásicos, el grado histopatológico o el estadio clínico; siendo el SII con diferencia el mejor predictor con una mayor sensibilidad y especificidad comparado con el resto. Estos resultados se soportan en lo dicho anteriormente, ya que se ha asociado la trombocitosis, neutrofilia y linfopenia con una inflamación sistémica y un sistema inmune disfuncional, que favorece el crecimiento tumoral, la invasión y metástasis, además de la resistencia terapéutica de las células tumorales.

En cuanto a las posibles combinaciones de los recuentos de plaquetas, linfocitos y neutrófilos, la mayoría utilizan el SII ya mencionado, mientras que otros autores, describieron otros parámetros inflamatorios sistémicos. Por ejemplo, *Valero et al.* (156) en un estudio que incluía 824 pacientes con HNSCC describieron el SIRI (por sus siglas en inglés, *systemic inflammation response index*), el cual se calcula multiplicando los neutrófilos por lo monocitos y dividiendo el resultado entre el recuento total de linfocitos. Observaron que el valor de SIRI se incrementaba a medida que aumentaba el estadio tumoral y la extensión de la enfermedad, y mantenía su valor pronóstico en el análisis multivariable como factor pronóstico independiente, aumentando el riesgo de muerte

hasta 2 veces si los valores se situaban entre 1,1 y 2,8, o hasta 4 veces si el valor de SIRI era mayor de 2,8, frente a un valor de SIRI menor de 1,1. Además, vieron que los tumores localizados en la cavidad oral o en la laringe, se asociaban con valores más bajos de SIRI, frente a tumores de orofaringe o hipofaringe. Esto se podía explicar, basándose en el hecho de que casi la mitad de los tumores de la cavidad oral o de la laringe se diagnosticaban en estadios precoces frente a un escaso 11% de los tumores de orofaringe o hipofaringe. A pesar de que el AUC de los factores pronósticos estudiados (SII, NLR, PLR, LMR) por *Valero et al.* (156) no mostraron diferencias significativas, sí observaron que el SIRI era el que mayor área bajo la curva obtenía, proponiendo este parámetro como uno de los mejores predictores de supervivencia. Otros autores como *Diao et al.* (125) utilizan otro parámetro como el PNL ($\text{Plaquetas} \times 0.006 + \text{neutrófilos} \times 0.016 - \text{linfocitos} \times 0.856$), concluyendo que es un factor pronóstico independiente de supervivencia en pacientes con OSCC, estando los valores altos de PNL relacionados con peor supervivencia global. Otro parámetro de similares características es el índice sistémico de inflamación (SIS, por sus siglas en inglés *systemic inflammation score*) descrito, entre otros por *Eltohami et al.* (152), que está basado en los niveles de albumina en sangre y LMR, encontrando que valores elevados de SIS se asociaban con peor pronóstico en pacientes con OSCC.

Asociación pronóstica de NLR, PLR, LMR y SII con el infiltrado de células inmunitarias en el microambiente tumoral en OSCC

Por lo que sabemos, en este estudio, los marcadores inflamatorios sistémicos se han correlacionado con las células inmunitarias en el TME en pacientes con OSCC por primera vez. En nuestro caso y en relación con los MATs, hemos encontrado que solo el LMR se correlaciona significativamente con los marcadores de macrófagos CD68+ y CD163+ en el estroma tumoral, pero no así en el tejido tumoral. El resto de variables estudiadas (PLR, NLR y SII) no se relacionaron con los MATs en ninguna de las dos localizaciones. En cuanto a los TILs, el NLR y el SII se correlacionaron negativamente con la infiltración en el estroma de CD8+, CD4+, y con la densidad de CD20+ en el TME, mientras que el LMR se correlacionó positivamente con la infiltración estromal de CD8+, la infiltración tumoral y estromal de CD4+ y la densidad de CD20+ TILs en el TME de pacientes con OSCC.

Los neutrófilos asociados a tumores (NATs) son un elemento crucial en el microambiente tumoral, ya que promueven el crecimiento tumoral y la supresión del sistema inmune antitumoral, demostrando ser un factor pronóstico en numerosos tipos de cáncer (118). De la misma forma, los macrófagos asociados a tumores (MATs), derivados de los monocitos, se han asociado con peor supervivencia en pacientes oncológicos (71). En un estudio realizado por *Lu et al.* (119) observaron que a medida que aumentaba el grado de malignidad (desde displasia leve, moderada, o grave a carcinoma infiltrante) en las muestras de mucosa oral estudiadas, se incrementaba de manera progresiva el número de MATs infiltrantes;

relacionándose este infiltrado de MATs con mayor T, N, estadio clínico y tasa de recidivas. Por todo ello, estos autores concluyen que los MATs son un factor pronóstico independiente en relación con la OS en pacientes con OSCC (119).

En cuanto a sus dos fenotipos, el CD68 es un marcador común a todos los macrófagos, lo que permite identificar a todos ellos independientemente de su fenotipo, a diferencia del CD163 que es un marcador específico de los macrófagos M2 (73). En relación con el CD68, hay que tener en cuenta que no es específico de macrófagos, ya que algunos fibroblastos y células tumorales pueden ser detectadas también con este marcador (77). En líneas generales podemos considerar que los macrófagos M1 antitumorales, expresan CD68; y los macrófagos M2 protumorales e inmunosupresores, se caracterizan por la coexpresión de CD68 y CD163 (80). Ohri et al. (160) reportaron que el número de macrófagos M1 en el tejido tumoral se asociaba con mejor pronóstico, mientras otros estudios demuestran que niveles elevados de macrófagos M2 tanto en el infiltrado tumoral como en el estroma tumoral se relacionaba con peor pronóstico en cánceres sólidos (161). Lo mismo sucede en el caso del OSCC, ya que un número alto de macrófagos positivos para CD163 se han correlacionado con una menor supervivencia en algunos estudios publicados (77) (162). Wehrhan et al. (163) analizaron la infiltración de macrófagos M2 en ganglios linfáticos cervicales metastásicos en pacientes con OSCC y observaron que su concentración era mayor en el caso de tumores de mayor tamaño (T2) y con bajo grado histológico (G3) frente a tumores de menor tamaño (T1) y con mayor grado de diferenciación (G2), lo cual nos indica que los MATs participan de alguna forma en la progresión tumoral modificando el nicho

premetastásico en los ganglios para albergar las células metastásicas. A pesar de ello, no consiguieron evidencia suficiente para afirmar que la presencia de metástasis o no a nivel ganglionar está determinada por el tipo de polarización de sus MATs (163).

Esta influencia de los MATs M2 con la supervivencia se ha investigado en numerosos estudios, pudiéndose explicar por las siguientes causas. Primero, los macrófagos M2 facilitan la expresión de PD-L1 por parte de las células tumorales (164) y la interacción entre el PD-1 y el PD-L1, promoviendo así la supresión del sistema inmune (165). Segundo, estos macrófagos M2 secretan factores de crecimiento como el VEGF (*vascular endothelial growth factor*), PDGF (*platelet-derived growth factor*), TGF- β (*transforming growth factor*), y el FGF (*fibroblast growth factor*) que promueven la angiogénesis (77). Y por último, recientemente se ha demostrado que los exosomas derivados de los macrófagos M2 promueven la viabilidad celular, la migración y la invasión celular en determinados cánceres de pulmón (166).

Las concentraciones de MATs en el estroma o en el tejido tumoral tienen un significado clínico distinto según diferentes estudios. En algunos, solo la expresión estromal, no la tumoral de CD163 resultó estar asociada con la supervivencia. (79) (119) (162).

Tanto los monocitos como los linfocitos tienen efectos antitumorales (140), pero en particular los linfocitos T son esenciales en el control inmunológico de las células tumores. Estos están involucrados no solo en la apoptosis de las células tumores, sino también en la producción de citoquinas que inhiben la proliferación de células tumorales y metastásicas (69). En este sentido, una menor densidad de linfocitos en el

estroma tumoral se ha asociado con un peor pronóstico en OSCC (90) y, análogamente, un mayor número de linfocitos infiltrantes (TILs) se ha relacionado con mejor pronóstico en numerosos tipos de cáncer (75) (118). Cuando se estudian los diferentes subgrupos de linfocitos por separado (CD8+, CD4+, CD20+ o FOXP3+), algunos autores encuentran relación con la supervivencia en el caso de un mayor número de linfocitos T CD8+ (153), mientras que otros como *Hadler-Olsen et al.* (162), no han encontrado relación pronóstica para los diferentes subgrupos.

Los linfocitos T CD8+, identifican y eliminan las células tumorales, jugando un papel esencial en la respuesta inmunitaria anti-tumoral (167). Por lo general, cuentan con la ayuda de células T helper CD4+ que liberan interferón gamma (IFN γ) e interleuquina 2 (IL-2) (168). Las células tumorales expresan antígenos específicos que generalmente provocan una respuesta inmunitaria mediada por células B CD20+, tanto como inmunidad humoral como moduladora de células T (104). En consecuencia, la neutrofilia y/o la linfopenia se correlacionan con una reducción de las células T helper CD4+ y las células T citotóxicas CD8+ en el estroma tumoral.

La mielopoyesis mediada por cáncer se ha relacionado con la estimulación de la angiogénesis tumoral, con la invasión celular, con las metástasis (159), y con la persistencia de células mieloides inmaduras (169). Por otro lado, las células tumorales pueden secretar citoquinas que atraen a los neutrófilos quienes, a su vez, contribuyen a la destrucción de las membranas basales y la invasión de los tejidos circundantes (84), a través de factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), o interleuquinas, como IL-6 e IL-8, que promueven el crecimiento tumoral,

la invasión y las metástasis (66). Sin embargo, los neutrófilos también son necesarios para el reclutamiento de linfocitos T que están asociados con efectos citotóxicos en células tumorales (122). Además, los neutrófilos pueden liberar óxido nítrico, arginasa y especies reactivas de oxígeno que conducen a trastornos de activación de las células T (159). Se ha demostrado que los neutrófilos contribuyen a la angiogénesis tumoral, la mutagénesis, la inmunosupresión y la proliferación de células tumorales (83) (134).

En este estudio, NLR, PLR y SII mostraron coeficientes de correlación negativos con las diferentes densidades celulares de linfocitos (CD4+, CD8+, CD20+) en el TME de pacientes con OSCC, si bien estas relaciones no fueron estadísticamente significativas. Esto podría deberse a que la inflamación sistémica conduce a un aumento de neutrófilos y plaquetas circulantes, lo cual reduce el número de linfocitos disponibles para actuar contra las células tumorales (156).

Determinación de los valores de corte de NLR, PLR, LMR y SII

Con respecto a los valores de corte de los diferentes marcadores pronósticos, estos variaron ampliamente y fueron inconsistentes entre los diferentes estudios encontrados en la literatura. Por ello, antes de introducir su uso en la práctica clínica, debiera ser un requisito previo el establecimiento de valores óptimos para cada tipo de cáncer (155). Para traducir una variable continua como el NLR, PLR, LMR o SII en una herramienta de decisión clínica, es necesario determinar un punto de

corte para diferenciar a los pacientes en distintos grupos (170), optimizando así la correlación con los resultados clínicos. La mayoría de los autores utilizaron un análisis de ROC para determinar el valor de corte ideal en sus respectivas muestras (147) (155). Sin embargo, algunos autores basaron sus valores de corte en la media (133), en terciles (127), cuartiles (171), mediana (133), o valores referidos en la literatura de diferentes órganos sólidos (150) (172), o incluso, algunos no dejaron constancia del punto de corte utilizado (146). En nuestro estudio, no pudimos concretar puntos de corte fiables que correlacionaran el NLR, PLR, LMR o SII con la OS ni DSS mediante el análisis de ROC. Por ello, basamos nuestros análisis en percentiles, encontrando que el percentil 90 sí fue capaz de definir grupos significativamente diferentes en cuanto a relevancia pronóstica en el caso del NLR y SII; y el percentil 70, en el caso del LMR.

Los puntos de corte de NLR, PLR y LMR registrados en la literatura para la OS en HNSCC también mostraban esta importante variabilidad. El punto de corte del NLR para HNSCC varía desde 1.92 a 5.56 en los diferentes artículos publicados (117) (122). Algunos ejemplos son, Szilasi et al. (147) con un punto de corte de 3.9, otros como Ye et al. (134) con uno de 2.77, o Diao et al. (155), que establecieron su punto de corte en 2.9. En el metaanálisis llevado a cabo por Takenaka et al. (118) que incluye 16 estudios, los valores de corte también oscilaban entre 1.92 y 5; con una media de 2.69. En otro metaanálisis, Yu et al. (112) obtuvieron valores de corte entre 2.1 y 4,39, por lo que dividieron la muestra en 3 grupos, obteniendo claramente un peor pronóstico en el caso de valores de NLR por encima de 4. Estos autores destacaron que el valor pronóstico del NLR en pacientes con cáncer de cabeza y cuello está influenciado por

el valor de corte y, por lo tanto, recomiendan la utilización de un rango continuo de valores de NLR, más que un valor concreto. Algunos autores como Tham et al. (117) realizaron su análisis excluyendo los estudios que utilizaban puntos de corte de ambos extremos (12.5% o 25% de la distribución) y observaron que los rangos resultantes eran más estrechos (2.17 a 3 y 2.38 a 2.79; respectivamente), y además mantenían la relación pronóstica con una peor supervivencia (HR 1.47).

En el caso del PLR, ocurre algo similar. En la literatura se han descrito puntos de corte desde 105.3 a 170 (111) (173). Dentro de este amplio rango, encontramos estudios como el llevado a cabo por Szilasi et al. (147) o el realizado por Diao et al. (155) donde los puntos de corte fueron de los más altos (PLR de 170 y 170.2; respectivamente), frente a otros como Ong et al. (146) o Caruntu et al. (3) donde el punto de corte era menor (PLR de 129 y 120, respectivamente). En el metaanálisis realizado por Takenaka et al. (118) el rango era menor, con puntos de corte que oscilaban entre 112 y 150.

En lo referente al LMR se han descrito puntos de corte desde 2.475 a 5.3 (117) (151) (153) (146), en este caso la mayoría de ellos calculados con un análisis de ROC, y solo un estudio basado en terciles. Todas estas diferencias en los puntos de corte hacen difícil realizar un metaanálisis que permita la comparación precisa de los estudios publicados.

Los valores de corte utilizados en este estudio para NLR, PLR y LMR fueron de 4.08, 162 y 4.58, respectivamente, valores que se encuentran dentro de los rangos publicados, teniendo en cuenta que los valores de corte y la importancia clínica diferían significativamente según la localización del tumor primario (111) (147). Esto podría deberse a que los

valores de corte están condicionados por el entorno genético de las células de origen del tumor, así como de factores etiológicos, existiendo por tanto diferentes valores de corte para diferentes poblaciones y etnias (151). De hecho, la mayoría de los estudios publicados, se han realizado utilizando a población de Asia oriental como referencia (105) (151). En consecuencia, los puntos de corte ideales para los marcadores inflamatorios sistémicos aún se desconocen.

Al revisar la literatura nos encontramos con un posible sesgo de publicación por estudios publicados con resultados estadísticamente significativos frente a los estudios que no obtienen significación estadística. Estos problemas se refleja de manera clara en los metaanálisis que se han publicado sobre el tema (107) (112) (117) (118) (122). Adicionalmente, hay que tener en cuenta que los parámetros inflamatorios en sangre periférica son recogidos durante el preoperatorio, siendo esperable que estos marcadores puedan variar en el postoperatorio inmediato o en el seguimiento a medio plazo, pudiendo también influir en la supervivencia de estos pacientes con cáncer.

Actualmente, el estudio de estos parámetros inflamatorios sistémicos y su relación con el pronóstico en OSCC, puede ser de utilidad en la práctica clínica de cara a determinar el pronóstico previo al tratamiento, y así establecer un plan de tratamiento específico para el paciente, identificando pacientes de alto riesgo que se puedan beneficiar de determinadas terapias adyuvantes. Además de contribuir a la búsqueda de fármacos específicos cuyas dianas terapéuticas sean las células inflamatorias mencionadas, y ayudar a predecir su respuesta a dicha inmunoterapia.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En el contexto del presente estudio, el análisis de los datos permite establecer las siguientes conclusiones:

- 1) No se observó relación estadísticamente significativa entre los índices NLR, PLR, LMR y SII con variables clínicas de significado pronóstico, excepto con el consumo de alcohol que se relacionó con el SII, la localización del tumor primario con el PLR y LMR, y el índice de masa corporal con el SII y el PLR, respectivamente.
- 2) Hemos observado la existencia de una relación significativa entre valores elevados de NLR y SII con el tamaño tumoral (T) y con un avanzado estadio tumoral.
- 3) Se observó que valores por encima del percentil 90 en el caso del NLR y SII, y del percentil 75 en el LMR, se asociaban con peor supervivencia global en el análisis univariable, pero solo el NLR permanecía como predictor pronóstico independiente en el análisis multivariable con un HR de 1,626.
- 4) Ninguno de los parámetros inflamatorios sistémicos obtuvo relación pronóstica con la supervivencia específica por cáncer.
- 5) Se observó la existencia de una correlación negativa entre el infiltrado estromal de linfocitos T CD8+, CD4+ y linfocitos B CD20+ con los índices NLR y el SII.

- 6) Se observó una correlación positiva entre el LMR y el infiltrado estromal de linfocitos T CD8+, T CD4+, linfocitos B CD20+, macrófagos CD68+ y CD163+, así como con el infiltrado tumoral de linfocitos T CD4+ y B CD20+.

Son necesarios más estudios prospectivos para terminar de aclarar y validar tanto los valores de corte ideales como el valor pronóstico exacto de los marcadores inflamatorios sistémicos, antes de incluirlos en nuestra práctica clínica habitual.

REFERENCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma-an update. *CA Cancer J Clin.* 2015; 65(5):401–421. doi:10.3322/caac.21293
2. Chamoli A, Gosavi AS, Shirwadkar UP, Wangdale KV, Behera SK, Kurrey NK. Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. *Oral Oncol.* 2021; 121:105451. doi:10.1016/j.oraloncology.2021.105451
3. Caruntu A, Moraru L, Lupu M, Taubner L, Caruntu C, Tanase C. The Hidden Treasures of Preoperative Blood Assessment in Oral Cancer: A Potential Source of Biomarkers. *Cancers.* 2021; 13(17):4475. doi:10.3390/cancers13174475
4. Elaiwy O, El Ansari W, AlKhalil M, Ammar A. Epidemiology and pathology of oral squamous cell carcinoma in a multi-ethnic population: Retrospective study of 154 cases over 7 years in Qatar. *Ann Med Surg.* 2020; 60:195–200. doi:10.1016/j.amsu.2020.10.029
5. World Health Organization. Cancer fact sheets - lip, oral cavity. *Int agency Res cancer.* 2020; 895:0–5.
6. Kalavrezos N, Scully C. Mouth cancer for clinicians part 2: epidemiology. *Dent Update.* 2015; 42(4):354–359. doi:10.12968/denu.2015.42.4.354
7. Silverman S. Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. *J Am Dent Assoc.* 2001; 132:75-115. doi:10.14219/jada.archive.2001.0382
8. Rodríguez-Santamarta T, Rodrigo JP, García-Pedrero JM, Álvarez-Teijeiro S, Ángeles Villaronga M, Suárez-Fernández L, Álvarez-Argüelles M, Astudillo A, De Vicente JC. Prevalence of human papillomavirus in oral squamous cell carcinomas in northern Spain. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2016; 273(12):4549–4559. doi:10.1007/s00405-016-4152-9
9. Piemonte ED, Lazos JP, Belardinelli P, Castillo G del V, Talavera AD, Secchi DG. Effect of the accumulation of risk factors on the risk of oral squamous cell carcinoma. *Rev Fac Cienc Med Cordoba.* 2021; 78(2):158–165. doi:10.31053/1853.0605.v78.n2.31247
10. Gandini S, Botteri E, Iodice S, Boniol M, Lowenfels AB, Maisonneuve P.. Tobacco smoking and cancer: A meta-analysis. *Int J Cancer.* 2008; 122(1):155–164. doi:10.1002/ijc.23033

11. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. *Tob Smoke Involuntary Smok.* 2004; 83:83.
12. IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks to Humans.* 2010; 93:9–38.
13. Guha N, Warnakulasuriya S, Vlaanderen J, Straif K. Betel quid chewing and the risk of oral and oropharyngeal cancers: A meta-analysis with implications for cancer control. *Int J Cancer.* 2014; 135(6):1433–1443. doi:10.1002/ijc.28643
14. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsagué X, Laporte L. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014; 15(12):1319–1331. doi:10.1016/S1470-2045(14)70471-1
15. Kalavrezos N, Scully C. Mouth cancer for clinicians part 5: risk factors (other). *Dent Update.* 2015; 42(8):766–778. doi:10.12968/denu.2015.42.8.766
16. Nieminen MT, Uittamo J, Salaspuro M, Rautemaa R. Acetaldehyde production from ethanol and glucose by non-Candidaalbicans yeasts in vitro. *Oral Oncol.* 2009; 45(12):e245–8. doi:10.1016/j.oraloncology.2009.08.002
17. Puñal-Riobóo J, Varela-Lema L, Barros-Dios JM, Juiz-Crespo MA, Ruano-Raviña A. Occupation as a risk factor for oral and pharyngeal cancer. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2010; 61(5):375–383. doi:10.1016/j.otorri.2009.03.009
18. Awan KH, Hegde R, Cheever VJ, Carroll W, Khan S, Patil S. Oral and pharyngeal cancer risk associated with occupational carcinogenic substances: Systematic review. *Head Neck.* 2018; 40(12):2724–2732. doi:10.1002/hed.25486
19. Manoharan S, Nagaraja V, Eslick GD. Ill-fitting dentures and oral cancer: a meta-analysis. *Oral Oncol.* 2014; 50(11):1058–1061. doi:10.1016/j.oraloncology.2014.08.002
20. Kalavrezos N, Scully C. Mouth Cancer for Clinicians Part 7: Cancer Diagnosis and Pre-treatment Preparation. *Dent Update.* 2016; 43(1):50–65. doi:10.12968/denu.2016.43.1.50
21. Sebastian JVB. *Medicina Bucal.* 1. Valencia: Edita. Medicina Oral, S.L. 2010. p. 153–162
22. Arya S, Chaukar D, Pai P. Imaging in oral cancers. *Indian J Radiol Imaging.* 2012;

22(03):195–208. doi: 10.4103/0971-3026.107182

23. Huang SH, Hwang D, Lockwood G, Goldstein DP, O’Sullivan B. Predictive value of tumor thickness for cervical lymph-node involvement in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer*. 2009; 115(7):1489–1497. doi:10.1002/cncr.24161
24. Bugshan A, Farooq I. Oral squamous cell carcinoma: metastasis, potentially associated malignant disorders, etiology and recent advancements in diagnosis. *F1000Research*. 2020; 9:229. doi:10.12688/f1000research.22941.1
25. Broders AC. Carcinoma. Grading and practical application. *Arch Pathol*. 1926; 2:376-381.
26. Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, van der Waal I. Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa. *Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa*. 2. Berlin:Springer. 1997. p. 11-13
27. Matsushita Y, Yanamoto S, Takahashi H, Yamada S, Naruse T, Sakamoto Y. A clinicopathological study of perineural invasion and vascular invasion in oral tongue squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(5):543–548. doi:10.1016/j.ijom.2015.01.018
28. Lydiatt WM, Patel SG, O’Sullivan B, Brandwein MS, Ridge JA, Migliacci JC, Loomis AM, Shah JP. Head and neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017; 67(2):122–137. doi:10.3322/caac.21389
29. Cheng YL, Rees T, Wright J. A review of research on salivary biomarkers for oral cancer detection. *Clin Transl Med*. 2014; 3(1):1–10. doi:10.1186/2001-1326-3-3
30. Law CP, Chandra RV, Hoang JK, Phal PM. Imaging the oral cavity: key concepts for the radiologist. *Br J Radiol*. 2011; 84(1006):944–957. doi:10.1259/bjr/70520972
31. Pfister D, Spencer S, Adelstein D, Adkins D, Brixel DM, Burtness B. Head and neck cancers. *NCCN Clin Pract Guidel Oncol*. 2018; 2.
32. De Vicente JC, Rodriguez-Santamarta T, Pena I, Villalain L, Fernandez-Valle Á, Gonzalez-Garcia M. Relevance of level IIb neck dissection in oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal*. 2015; 20(5):e547–553. doi:10.4317/medoral.20491
33. Díaz RG, Alamillos Granados FJ. Técnicas de disección ganglionar completa. En: López-

- Cedrún JL. Cirugía Oral y Maxilofacial Atlas procedimientos y técnicas quirúrgicas. 1. Madrid: Panamericana; 2019; 653–659.
34. Lea J, Bachar G, Sawka AM, Lakra DC, Gilbert RW, Irish JC, Brown DH, Gullane PJ, Goldstein DP. Metastases to level IIb in squamous cell carcinoma of the oral cavity: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2009; NA-NA. doi:10.1002/hed.21163
 35. Weiss MH, Harrison LB, Isaacs RS. Use of Decision Analysis in Planning a Management Strategy for the Stage NO Neck. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 1994; 120(7):699–702. doi:10.1001/archotol.1994.01880310005001
 36. Van Hinte G, Sancak T, Weijs WLJ, Merx MAW, Leijendekkers RA, Nijhuis-van der Sanden MWG, Takes MWG, Speksnijder CM. Effect of elective neck dissection versus sentinel lymph node biopsy on shoulder morbidity and health-related quality of life in patients with oral cavity cancer: A longitudinal comparative cohort study. *Oral Oncol*. 2021; 122(July):105510. doi:10.1016/j.oraloncology.2021.105510
 37. Govers TM, Hannink G, Merx MAW, Takes RP, Rovers MM. Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: A diagnostic meta-analysis. *Oral Oncol*. 2013; 49(8):726–732. doi:10.1016/j.oraloncology.2013.04.006
 38. Torrecillas V, Shepherd HM, Francis S, Buchmann LO, Monroe MM, Lloyd S, Cannon D, Hitchcock YJ, Weis JR, Hunt JP, Canon RB. Adjuvant radiation for T1-2N1 oral cavity cancer survival outcomes and utilization treatment trends: Analysis of the SEER database. *Oral Oncol*. 2018; 85:1–7. doi:10.1016/j.oraloncology.2018.07.019
 39. Mesia R, Iglesias L, Lambea J, Martínez-Trufero J, Soria A, Taberna M, Trigo J, Chaves M, Carcía-Castaño A, Cruz J. SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2020). *Clin Transl Oncol*. 2021; 23(5):913–921. doi:10.1007/s12094-020-02533-1
 40. Caballero M, Grau JJ, Casellas S, Bernal-Sprekelsen M, Blanch JL. The role of chemotherapy in advanced oral cavity cancer. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2009; 60(4):260–267. doi:10.1016/j.otorri.2009.01.005
 41. Pignon JP, Maître A, Maillard E, Bourhis J. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): An update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother Oncol*. 2009; 92(1):4–14. doi:10.1016/j.radonc.2009.04.014
 42. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kaweckki A, Rottey S, Erfan J, Zabolotnyy D,

- Kinzer HR, Cupissol D, Peyrade F, Benasso M, Vynnychenko I, De Raucourt D, Bokemeyer C, Schueler A, Amellal N, Hitt R. Platinum-Based Chemotherapy plus Cetuximab in Head and Neck Cancer. *N Engl J Med*. 2008; 359(11):1116–1127. doi:10.1056/NEJMoa0802656
43. Johnson DE, Burtneess B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Prim*. 2020; 6(1):92. doi:10.1038/s41572-020-00224-3
 44. De Vicente JC, Rodríguez-Santamarta T, Rodrigo JP, Blanco-Lorenzo V, Allonca E, García-Pedrero JM. PD-L1 Expression in Tumor Cells Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2019;28(3):546–554. doi:10.1158/1055-9965.EPI-18-0779
 45. Liu L, Chen J, Cai X, Yao Z, Huang J. Progress in targeted therapeutic drugs for oral squamous cell carcinoma. *Surg Oncol*. 2019; 31:90–97. doi:10.1016/j.suronc.2019.09.001
 46. Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. *Lancet*. 2008; 371(9625):1695–1709. doi:10.1016/S0140-6736(08)60728-X
 47. Massano J, Regateiro FS, Januário G, Ferreira A. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; 102(1):67–76. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.038
 48. Suresh G, RaviKoppad, Prakash B, Sabitha K, Dhara P. Prognostic indicators of oral squamous cell carcinoma. *Ann Maxillofac Surg*. 2019; 9(2):364. doi:10.4103/ams.ams_253_18
 49. Rogers SN, Brown JS, Woolgar JA, Lowe D, Magennis P, Shaw RJ, Sutton D, Errington D, Vauhan D. Survival following primary surgery for oral cancer. *Oral Oncol*. 2009; 45(3):201–211. doi:10.1016/j.oraloncology.2008.05.008
 50. Garavello W, Spreafico R, Somigliana E, Gaini L, Pignataro L, Gaini RM. Prognostic influence of gender in patients with oral tongue cancer. *Otolaryngol Neck Surg*. 2008; 138(6):768–771. doi:10.1016/j.otohns.2008.02.026
 51. Schumacher D, Strilic B, Sivaraj KK, Wettschureck N, Offermanns S. Platelet-Derived Nucleotides Promote Tumor-Cell Transendothelial Migration and Metastasis via P2Y2 Receptor. *Cancer Cell*. 2013; 24(1):130–137. doi:10.1016/j.ccr.2013.05.008

52. Larsen SR, Johansen J, Sørensen JA, Krogdahl A. The prognostic significance of histological features in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2009; 38(8):657–662. doi:10.1111/j.1600-0714.2009.00797.x
53. Zhao D, Xu Q, Chen X, Fan M. Human papillomavirus as an independent predictor in oral squamous cell cancer. *Int J Oral Sci.* 2009; 1(3):119–125. doi:10.4248/IJOS.09015
54. Brockmeyer P, Hemmerlein B, Kruppa J, Kauffmann P, Tröltzsch M, Schliephake H, Bruber RM. The time interval between primary surgery and adjuvant therapy determines prognosis of oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol.* 2015; 51(11):e82–e85. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.08.016
55. Shaw RJ, McGlashan G, Woolgar JA, Lowe D, Brown JS, Vaughan ED, Rogers SN. Prognostic importance of site in squamous cell carcinoma of the buccal mucosa. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 47(5):356–359. doi:10.1016/j.bjoms.2008.09.017
56. Diaz EM, Holsinger FC, Zuniga ER, Roberts DB, Sorensen DM. Squamous cell carcinoma of the buccal mucosa: One institution's experience with 119 previously untreated patients. *Head Neck.* 2003; 25(4):267–273. doi:10.1002/hed.10221
57. Moore C, Flynn MB, Greenberg RA. Evaluation of size in prognosis of oral cancer. *Cancer.* 1986; 58(1):158–162. doi:10.1002/1097-0142(19860701)58:1<158::aid-cncr2820580127>3.0.co;2-b
58. Ash CS, Nason RW, Abdoh AA, Cohen MA. Prognostic implications of mandibular invasion in oral cancer. *Head Neck.* 2000; 22(8):794–798. doi:10.1002/1097-0347(200012)22:8<794::aid-hed8>3.0.co;2-w
59. Shaw RJ, Brown JS, Woolgar JA, Lowe D, Rogers SN, Vaughan ED. The influence of the pattern of mandibular invasion on recurrence and survival in oral squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2004; 26(10):861–869. doi:10.1002/hed.20036
60. Sutton D, Brown J, Rogers S, Vaughan E, Woolgar J. The prognostic implications of the surgical margin in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003; 32(1):30–34. doi:10.1054/ijom.2002.0313
61. Batsakis JG. Surgical excision margins: a pathologist's perspective. *Adv Anat Pathol.* 1999; 6(3):140–148. doi:10.1097/00125480-199905000-00002
62. Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer. *Cancer.* 2009; 115(15):3379–3391. doi:10.1002/cncr.24396

63. Laske RD, Scholz I, Ikenberg K, Meerwein C, Vital DG, Studer G, Rössle M, Huber GF. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the oral cavity: histology, tumor stage, and outcome. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.* 2016; 1(1):13–18. doi:10.1002/lio2.4
64. Rajapakshe RMAR, Pallegama RW, Jayasooriya PR, Siriwardena BSMS, Attygalla AM, Hewapathirana S, Weerasinghe JU, Dias DK, Tilakratne WM. A retrospective analysis to determine factors contributing to the survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol.* 2015; 39(3):360–366. doi:10.1016/j.canep.2015.02.011
65. Wreesmann VB, Katabi N, Palmer FL, Montero PH, Migliacci JC, Gönen M, Carlson D, Ganly I, Shah J, Ghossein R, Patel SG. Influence of extracapsular nodal spread extent on prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2016; 38(S1):e1192–e1199. doi:10.1002/hed.24190
66. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 2011;144(5):646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
67. Smith BD, Smith GL, Carter D, Sasaki CT, Haffty BG. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2000; 18(10):2046–2052. doi:10.1200/JCO.2000.18.10.2046
68. Couture C, Raybaud-Diogène H, Têtu B, Bairati I, Murry D, Allard J, Fortin A. p53 and Ki-67 as markers of radioresistance in head and neck carcinoma. *Cancer.* 2002; 94(3):713–722. doi:10.1002/cncr.10232
69. Smith HA, Kang Y. The metastasis-promoting roles of tumor-associated immune cells. *J Mol Med.* 2013; 91(4):411–429. doi:10.1007/s00109-013-1021-5
70. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet.* 2001; 357(9255):539–545. doi:10.1016/S0140-6736(00)04046-0
71. Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2004; 4(1):71–78. doi:10.1038/nrc1256
72. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010; 140(6):883–899. doi:10.1016/j.cell.2010.01.025
73. Suárez-Sánchez FJ, Lequerica-Fernández P, Suárez-Canto J, Rodrigo JP, Rodríguez-Santamarta T, Domínguez-Iglesias F, García-Pedrero JM, De Vicente JC. Macrophages in Oral Carcinomas: Relationship with Cancer Stem Cell Markers and PD-L1 Expression.

- Cancers. 2020; 12(7):1–14. doi:10.3390/cancers12071764
74. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009; 30(7):1073–1081. doi:10.1093/carcin/bgp127
 75. Gooden MJM, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer*. 2011; 105(1):93–103. doi:10.1038/bjc.2011.189
 76. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev*. 1989; 8(2):98–101.
 77. Alves AM, Diel LF, Lamers ML. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. *J Oral Pathol Med*. 2018; 47(5):460–467. doi:10.1111/jop.12643
 78. Hu Y, He MY, Zhu LF, Yang CC, Zhou ML, Wang Q, Zhang W, Zheng YY, Wang DM, Xu ZQ, Wu YN, Liu LK. Tumor-associated macrophages correlate with the clinicopathological features and poor outcomes via inducing epithelial to mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016; 35(1):12. doi:10.1186/s13046-015-0281-z
 79. Troiano G, Caponio VCA, Adipietro I, Tepedino M, Santoro R, Laino L, Russo LL, Cirillo N, Muzio LL. Prognostic significance of CD68+ and CD163+ tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*. 2019; 93:66–75. doi:10.1016/j.oraloncology.2019.04.019
 80. Evrard D, Szturz P, Tijeras-Raballand A, Astorgues-Xerri L, Abitbol C, Paradis V, Raymond E, Albert S, Barry B, Faivre S. Macrophages in the microenvironment of head and neck cancer: potential targets for cancer therapy. *Oral Oncol*. 2019; 88:29–38. doi:10.1016/j.oraloncology.2018.10.040
 81. Kubota K, Moriyama M, Furukawa S, Rafiul HASM, Maruse Y, Jinno T, Tanaka A, Ohta M, Ishiguro N, Yamauchi M, Sakamoto M, Maehara T, Hayashida JN, Kawano S, Kiyoshima T, Nakamura S. CD163+CD204+ tumor-associated macrophages contribute to T cell regulation via interleukin-10 and PD-L1 production in oral squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2017; 7(1):1755. doi:10.1038/s41598-017-01661-z
 82. Weber M, Moebius P, Büttner-Herold M, Amann K, Preidl R, Neukam FW, Wehrhan F.

- Macrophage polarisation changes within the time between diagnostic biopsy and tumour resection in oral squamous cell carcinomas—an immunohistochemical study. *Br J Cancer*. 2015; 113(3):510–519. doi:10.1038/bjc.2015.212
83. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-Associated Neutrophils as a New Prognostic Factor in Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2014; 9(6):e98259. doi:10.1371/journal.pone.0098259
84. Dumitru CA, Gholaman H, Trellakis S, Bruderek K, Dominas N, Gu X, Bankfalvi A, Whiteside TL, Lang S, Brandau S. Tumor-derived macrophage migration inhibitory factor modulates the biology of head and neck cancer cells via neutrophil activation. *Int J Cancer*. 2011; 129(4):859–869. doi:10.1002/ijc.25991
85. Jensen HK, Donskov F, Marcussen N, Nordmark M, Lundbeck F, Von der Maase H. Presence of Intratumoral Neutrophils Is an Independent Prognostic Factor in Localized Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009; 27(28):4709–4717. doi:10.1200/JCO.2008.18.9498
86. Jensen TO, Schmidt H, Møller HJ, Donskov F, Høyer M, Sjoegren P, Christensen IJ, Steiniche T. Intratumoral neutrophils and plasmacytoid dendritic cells indicate poor prognosis and are associated with pSTAT3 expression in AJCC stage I/II melanoma. *Cancer*. 2012; 118(9):2476–2485. doi:10.1002/cncr.26511
87. Li YW, Qiu SJ, Fan J, Zhou J, Gao Q, Xiao YS, Xu YF. Intratumoral neutrophils: A poor prognostic factor for hepatocellular carcinoma following resection. *J Hepatol*. 2011; 54(3):497–505. doi:10.1016/j.jhep.2010.07.044
88. Rao HL, Chen JW, Li M, Xiao YB, Fu J, Zeng YX, Cai MY, Xie D. Increased Intratumoral Neutrophil in Colorectal Carcinomas Correlates Closely with Malignant Phenotype and Predicts Patients' Adverse Prognosis. *PLoS One*. 2012; 7(1):e30806. doi:10.1371/journal.pone.0030806
89. Boxberg M, Leising L, Steiger K, Jesinghaus M, Alkhamas A, Mielke M, Pfarr N, Götz C, Dietrich-Wolff K, Weichert W, Kolk A. Composition and Clinical Impact of the Immunologic Tumor Microenvironment in Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Immunol*. 2019; 202(1):278–291. doi:10.4049/jimmunol.1800242
90. Spector ME, Bellile E, Amlani L, Zarins K, Smith J, Brenner JC, Rozek L, Nguyen A, Thomas D, McHuhg JB, Taylor JMG, Wolf GT. Prognostic Value of Tumor-Infiltrating

- Lymphocytes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *JAMA Otolaryngol Neck Surg.* 2019; 145(11):1012. doi:10.1001/jamaoto.2019.2427
91. De Ruiter EJ, Ooft ML, Devriese LA, Willems SM. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology.* 2017; 6(11):e1356148. doi:10.1080/2162402X.2017.1356148
 92. Wissinger E. T CD8+ cells. *Br Soc Immunol.* 2013:8.
 93. Lequerica-Fernández P, Suárez-Canto J, Rodriguez-Santamarta T, Rodrigo JP, Suárez-Sánchez FJ, Blanco-Lorenzo V, Domínguez-Iglesias F, García-Pedrero JM, De Vicente JC. Prognostic Relevance of CD4+, CD8+ and FOXP3+ TILs in Oral Squamous Cell Carcinoma and Correlations with PD-L1 and Cancer Stem Cell Markers. *Biomedicines.* 2021; 9(6):653. doi:10.3390/biomedicines9060653
 94. García-Muñoz R. Immunologic aspects related to the generation of lymphomas and autoimmunity. *Inmunología.* 2010; 29(1):34–49.
 95. Bell L. T CD4 + cells. *Br Soc Immunol.* 2013:25.
 96. Suárez-Sánchez FJ, Lequerica-Fernández P, Rodrigo JP, Hermida-Prado F, Suárez-Canto J, Rodríguez-Santamarta T, Domínguez-Iglesias F, García-Pedrero JM, De Vicente JC. Tumor-Infiltrating CD20+ B Lymphocytes: Significance and Prognostic Implications in Oral Cancer Microenvironment. *Cancers.* 2021; 13(3):395. doi:10.3390/cancers13030395
 97. Halima Moncrieffe. Regulatory T cells (Tregs). *Br Soc Immunol.* 2013.
 98. Troiano G, Rubini C, Togni L, Caponio VCA, Zhurakivska K, Santarelli A, Cirillo N, Lo Muzio L, Mascitti M. The immune phenotype of tongue squamous cell carcinoma predicts early relapse and poor prognosis. *Cancer Med.* 2020; 9(22):8333–8344. doi:10.1002/cam4.3440
 99. Ménétrier-Caux C, Ray-Coquard I, Blay JY, Caux C. Lymphopenia in Cancer Patients and its Effects on Response to Immunotherapy: an opportunity for combination with Cytokines? *J Immunother Cancer.* 2019; 7(1):85. doi:10.1016/s0009-9260(87)80232-5
 100. Borsetto D, Tomasoni M, Payne K, Polesel J, Deganello A, Bossi P, Tysome JR, Masterson L, Tirelli G, Tofanelli M, Boscolo-Rizzo P. Prognostic Significance of CD4+ and CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Meta-

- Analysis. *Cancers*. 2021; 13(4):781. doi:10.3390/cancers13040781
101. Tao H, Mimura Y, Aoe K, Kobayashi S, Yamamoto H, Matsuda E, Okabe K, Matsmoto T, Sugi K, Ueoka H. Prognostic potential of FOXP3 expression in non-small cell lung cancer cells combined with tumor-infiltrating regulatory T cells. *Lung Cancer*. 2012; 75(1):95–101. doi:10.1016/j.lungcan.2011.06.002
 102. Sayour EJ, McLendon P, McLendon R, De Leon G, Reynolds R, Kresak J, Sampson JH, Mitchell DA. Increased proportion of FoxP3+ regulatory T cells in tumor infiltrating lymphocytes is associated with tumor recurrence and reduced survival in patients with glioblastoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2015; 64(4):419–427. doi:10.1007/s00262-014-1651-7
 103. Kindt N, Descamps G, Seminerio I, Bellier J, Lechien JR, Mat Q, Pottier C, Delvenne P, Journée F, Suassez S. High stromal Foxp3-positive T cell number combined to tumor stage improved prognosis in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2017; 67:183–191. doi:10.1016/j.oraloncology.2017.02.023
 104. Lund FE. Cytokine-producing B lymphocytes—key regulators of immunity. *Curr Opin Immunol*. 2008; 20(3):332–328. doi:10.1016/j.coi.2008.03.003
 105. Kumarasamy C, Tiwary V, Sunil K, Suresh D, Shetty S, Muthukaliannan GK, Baxi S, Jayaraj R. Prognostic Utility of Platelet–Lymphocyte Ratio, Neutrophil–Lymphocyte Ratio and Monocyte–Lymphocyte Ratio in Head and Neck Cancers: A Detailed PRISMA Compliant Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers*. 2021; 13(16):4166. doi:10.3390/cancers13164166
 106. Bone G, Lauder I. Cellular Immunity, Peripheral Blood Lymphocyte Count and Pathological Staging of Tumours in the Gastrointestinal Tract. *Br J Cancer*. 1974; 30(3):215–221. doi:10.1038/bjc.1974.184
 107. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, Leibowitz-Amit R, Sonpavde G, Knox JJ, Tran B, Tannock IF, Amir E. Prognostic Role of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Solid Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2014;106(6). doi:10.1093/jnci/dju124
 108. Wei Y, Jiang Y, Qian W. Prognostic Role of NLR in Urinary Cancers: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2014; 9(3):e92079. doi:10.1371/journal.pone.0092079
 109. Trédan O, Manuel M, Clapissou G, Bachelot T, Chabaud S, Bardin-dit-Courageot C, Rigal

- C, Biota C, Bajard A, Pasqual N, Blay JY, Cauz C, Ménétrier-Caux C. Patients with metastatic breast cancer leading to CD4+ T cell lymphopaenia have poor outcome. *Eur J Cancer*. 2013; 49(7):1673–1682. doi:10.1016/j.ejca.2012.11.028
110. Péron J, Cropet C, Tredan O, Bachelot T, Ray-Coquard I, Clapisson G, Chabaud S, Philip I, Borg C, Cassier P, Galy IL, Sebban C, Perol D, Biron P, Cauz C, Menetrier-Caux C, Blay JY. CD4 lymphopenia to identify end-of-life metastatic cancer patients. *Eur J Cancer*. 2013; 49(5):1080–1089. doi:10.1016/j.ejca.2012.11.003
 111. Rassouli A, Saliba J, Castano R, Hier M, Zeitouni AG. Systemic inflammatory markers as independent prognosticators of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2015; 37(1):103–110. doi:10.1002/hed.23567
 112. Yu Y, Wang H, Yan A, Wang H, Li X, Liu J, et al. Pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio in determining the prognosis of head and neck cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2018; 18(1):383. doi:10.1186/s12885-018-4230-z
 113. Takahashi H, Sakakura K, Tada H, Kaira K, Oyama T, Chikamatsu K. Prognostic significance and population dynamics of peripheral monocytes in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2019; 41(6):1880–1888. doi:10.1002/hed.25625
 114. Honn KV, Tang DG, Crissman JD. Platelets and cancer metastasis: A causal relationship? *Cancer Metastasis Rev*. 1992; 11(3–4):325–351. doi:10.1007/BF01307186
 115. Menter DG, Tucker SC, Kopetz S, Sood AK, Crissman JD, Honn KV. Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev*. 2014; 33(1):231–269. doi:10.1007/s10555-014-9498-0
 116. Ankus E, Price SJ, Ukoumunne OC, Hamilton W, Bailey SER. Cancer incidence in patients with a high normal platelet count: a cohort study using primary care data. *Fam Pract*. 2018; 35(6):671–675. doi:10.1093/fampra/cmz018
 117. Tham T, Bardash Y, Herman SW, Costantino PD. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2018; 40(11):2546–2557. doi:10.1002/hed.253244
 118. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K, Yamamoto Y, Uno A. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer: A meta-analysis. *Head Neck*. 2018; 40(3):647–655. doi:10.1002/hed.24986

119. Lu CF, Huang CS, Tjiu JW, Chiang CP. Infiltrating macrophage count: A significant predictor for the progression and prognosis of oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *Head Neck*. 2009 ;36(10):NA-NA. doi:10.1002/hed.21138
120. Guo Q, Shao Z, Xu D, Fan L, Xiong H, Ding X, You C, Zhang L. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in peripheral blood and pathological tissue in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Medicine*. 2020; 99(29):e21306. doi:10.1097/MD.00000000000021306
121. Song S, Chen H, Dong W, Zhou H. The prognostic value of preoperative derived neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients undergoing total laryngectomy with laryngeal carcinoma. *Acta Otolaryngol*. 2019; 139(3):294–298. doi:10.1080/00016489.2019.1566780
122. Mascarella MA, Mannard E, Silva SD, Zeitouni A. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2018; 40(5):1091–1100. doi:10.1002/hed.25075
123. Chang KP, Chang YT, Liao CT, Yen TC, Chen IH, Chang YL, Liu YL, Chang YS, Yu JS, Wu CC. Prognostic cytokine markers in peripheral blood for oral cavity squamous cell carcinoma identified by multiplexed immunobead-based profiling. *Clin Chim Acta*. 2011; 412(11–12):980–987. doi:10.1016/j.cca.2011.02.002
124. Chang KP, Kao HK, Wu CC, Fang KH, Chang YL, Huang YC, Liu SC, Cheng MH. Pretreatment Interleukin-6 Serum Levels Are Associated with Patient Survival for Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Otolaryngol Neck Surg*. 2013; 148(5):786–791. doi:10.1177/0194599813478573
125. Diao P, Wu Y, Ge H, Li J, Zhang W, Huang R, Wang Y, Cheng J. Preoperative circulating platelet, neutrophil, and lymphocyte counts predict survival in oral cancer. *Oral Dis*. 2019; 25(4):1057–1066. doi:10.1111/odi.13049
126. Huang SH, Waldron JN, Milosevic M, Shen X, Ringash J, Su J, Tong L, Perez-Ordoñez B, Weinreb I, Bayley AJ, Kim J, Hope A, Cho BCJ, Giuliana M, Razak A, Goldstein D, Shi W, Liu FF, Xu W, O’Sullivan B. Prognostic value of pretreatment circulating neutrophils, monocytes, and lymphocytes in oropharyngeal cancer stratified by human papillomavirus status. *Cancer*. 2015; 121(4):545–555. doi:10.1002/cncr.29100
127. Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Neutrophil-to-lymphocyte

- ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016; 38(S1):e1068–e1074. doi:10.1002/hed.24159
128. Yamanaka T, Matsumoto S, Teramukai S, Ishiwata R, Nagai Y, Fukushima M. The Baseline Ratio of Neutrophils to Lymphocytes Is Associated with Patient Prognosis in Advanced Gastric Cancer. *Oncology*. 2007; 73(3–4):215–220. doi:10.1159/000127412
129. Xiao WK, Chen D, Li SQ, Fu SJ, Peng BG, Liang LJ. Prognostic significance of neutrophil-lymphocyte ratio in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2014; 14(1):117. doi:10.1186/1471-2407-14-117
130. Azab B, Shah N, Radbel J, Tan P, Bhatt V, Vonfrolio S, Habeshy A, Picon A, Bloom S. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer patients. *Med Oncol*. 2013; 30(1):432. doi:10.1007/s12032-012-0432-4
131. Cho H, Hur HW, Kim SW, Kim SH, Kim JH, Kim YT, lee K. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio is elevated in epithelial ovarian cancer and predicts survival after treatment. *Cancer Immunol Immunother*. 2009; 58(1):15–23. doi:10.1007/s00262-008-0516-3
132. Duan GC, Zhao QT, Yang Y, Xu S, Zhang XP, Wang HE, Yuan K, Duan GC . Prognostic role of neutrophil to lymphocyte ratio in lung cancers: a meta-analysis including 7,054 patients. *Onco Targets Ther*. 2015; 8:2731. doi:10.2147/OTT.S90875
133. Fang H-Y, Huang XY, Chien H-T, Chang JT-C, Liao C-T, Huang J-J, Wei FC, Wang HM, Chen IH, Kang CJ, Huang SF. Refining the role of preoperative C-reactive protein by neutrophil/lymphocyte ratio in oral cavity squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2013; 123(11):2690–2699. doi:10.1002/lary.24105
134. Ye J, Liao B, Jiang X, Dong Z, Hu S, Liu Y, Xiao M. Prognosis Value of Platelet Counts, Albumin and Neutrophil-Lymphocyte Ratio of Locoregional Recurrence in Patients with Operable Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Manag Res*. 2020; 12:731–741. doi:10.2147/CMAR.S234618
135. Turkmen K, Erdur FM, Ozcicek F, Ozcicek A, Akbas EM, Ozbicer A, Akbas EM, Ozbicer A, Demirtas L, Turk S, Tonbul HZ. Platelet-to-lymphocyte ratio better predicts inflammation than neutrophil-to-lymphocyte ratio in end-stage renal disease patients. *Hemodial Int*. 2013; 17(3):391–396. doi:10.1111/hdi.12040

136. Bossola M. Nutritional Interventions in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Chemoradiotherapy: A Narrative Review. *Nutrients*. 2015; 7(1):265–276.
doi:10.3390/nu7010265
137. León-Idougourram S, Pérez-Gómez JM, Muñoz Jiménez C, L-López F, Manzano García G, Molina Puertas MJ, Herman-Sánchez N, Alonso-Echague R, Calañas-Continente A, Gálvez-Moreno MA, Luque RM, Gahete MD, Herrero-Martínez AD. Morphofunctional and Molecular Assessment of Nutritional Status in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Systemic Treatment: Role of Inflammasome in Clinical Nutrition. *Cancers*. 2022; 14(3):494. doi:10.3390/cancers14030494
138. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K, Yamamoto Y, Uno A. Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis. *Head Neck*. 2018; 40(12):2714–2723.
doi:10.1002/hed.25366
139. Stone RL, Nick AM, McNeish IA, Balkwill F, Han HD, Bottsford-Miller J, Rupairmoole R, Armaiz-Pena GN, PEcot CV, Coward J, Deavers MT, Vasquez HG, Urbauer D, Landen CN, Hu W, Gershenson H, Matsuo K, Shazad MMK, King ER, Tekedereli I, Ozpolat B, Ahn EH, Bond VK, Wang R, Drew AF, Gushiken F, Lamkin D, Collins K, Koen DeGees, Lutgendorf DK, Chiu W, Lopez-Bersteins G, Afshar-Kharghan V, Sood AK. Paraneoplastic Thrombocytosis in Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 2012; 366(7):610–618.
doi:10.1056/NEJMoa1110352
140. Chen L, Zeng H, Yang J, Lu Y, Zhang D, Wang J, Kuang C, Zhu S, Wang M, Ma X. Survival and prognostic analysis of preoperative inflammatory markers in patients undergoing surgical resection for laryngeal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2018; 18(1):816.
doi:10.1186/s12885-018-4730-x
141. Zhu Y, Zhou S, Liu Y, Zhai L, Sun X. Prognostic value of systemic inflammatory markers in ovarian Cancer: a PRISMA-compliant meta-analysis and systematic review. *BMC Cancer*. 2018; 18(1):443. doi:10.1186/s12885-018-4318-5
142. Zhu Y, Si W, Sun Q, Qin B, Zhao W, Yang J. Platelet-lymphocyte ratio acts as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(1):1023–1030.
doi:10.18632/oncotarget.13714
143. Zhang J, Zhang HY, Li J, Shao XY, Zhang CX. The elevated NLR, PLR and PLT may predict the prognosis of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis.

- Oncotarget. 2017; 8(40):68837–68846. doi:10.18632/oncotarget.18575
144. Wang J, Wang S, Song X, Zeng W, Wang S, Chen F, Ding H. The prognostic value of systemic and local inflammation in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Onco Targets Ther.* 2016; 9:7177–7185. doi:10.2147/OTT.S113307
 145. Hsueh C, Tao L, Zhang M, Cao W, Gong H, Zhou J, Zhou L. The prognostic value of preoperative neutrophils, platelets, lymphocytes, monocytes and calculated ratios in patients with laryngeal squamous cell cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(36):60514–60527. doi:10.18632/oncotarget.16234
 146. Ong HS, Gokavarapu S, Wang LZ, Tian Z, Zhang CP. Low Pretreatment Lymphocyte-Monocyte Ratio and High Platelet-Lymphocyte Ratio Indicate Poor Cancer Outcome in Early Tongue Cancer. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017; 75(8):1762–1774. doi:10.1016/j.joms.2016.12.023
 147. Szilasi Z, J6sa V, Zrubka Z, Mezei T, Vass T, Merkel K, Helfferich F, Baranyai Z. Neutrophil-To-Lymphocyte and Platelet-To-Lymphocyte Ratios as Prognostic Markers of Survival in Patients with Head and Neck Tumours—Results of a Retrospective Multicentric Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(5):1742. doi:10.3390/ijerph17051742
 148. Schmidt H, Bastholt L, Geertsen P, Christensen IJ, Larsen S, Gehl J, Maarse H. Elevated neutrophil and monocyte counts in peripheral blood are associated with poor survival in patients with metastatic melanoma: a prognostic model. *Br J Cancer.* 2005; 93(3):273–278. doi:10.1038/sj.bjc.6602702
 149. Sasaki A, Iwashita Y, Shibata K, Matsumoto T, Ohta M, Kitano S. Prognostic value of preoperative peripheral blood monocyte count in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery.* 2006; 139(6):755–764. doi:10.1016/j.surg.2005.10.009
 150. Tsai YD, Wang CP, Chen CY, Lin LW, Hwang TZ, Lu LF, Hsu HF, Chung FM, Lee YJ, Houg JY. Pretreatment circulating monocyte count associated with poor prognosis in patients with oral cavity cancer. *Head Neck.* 2014; 36(7):947–953. doi:10.1002/hed.23400
 151. Tham T, Olson C, Khaymovich J, Herman SW, Costantino PD. The lymphocyte-to-monocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2018; 275(7):1663–1670. doi:10.1007/s00405-018-4972-x

152. Eltohami YI, Kao HK, Lao WWK, Huang Y, Abdelrahman M, Liao CT, Yen TC, Chang KP. The Prediction Value of the Systemic Inflammation Score for Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Otolaryngol Neck Surg.* 2018; 158(6):1042–1050. doi:10.1177/0194599817751678
153. Tham T, Wotman M, Chung C, Ahn S, Dupuis H, Gliagias V, Movsesova T, Kraus D, Constatino P. Systemic immune response in squamous cell carcinoma of the head and neck: a comparative concordance index analysis. *Eur Arch OtoRhinoLaryngology.* 2019; 276(10):2913–2922. doi:10.1007/s00405-019-05554-x
154. Qi Q, Zhuang L, Shen Y, Geng Y, Yu S, Chen H, Liu L, Meng Z, Wang P, Chen Z. A novel systemic inflammation response index (SIRI) for predicting the survival of patients with pancreatic cancer after chemotherapy. *Cancer.* 2016; 122(14):2158–2167. doi:10.1002/cncr.30057
155. Diao P, Wu Y, Li J, Zhang W, Huang R, Zhou C, Wang Y, Cheng J. Preoperative systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma after curative resection. *J Transl Med.* 2018; 16(1):365. doi:10.1186/s12967-018-1742-x
156. Valero C, Pardo L, Sansa A, Garcia Lorenzo J, López M, Quer M, León X. Prognostic capacity of Systemic Inflammation Response Index (SIRI) in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2020; 42(2):336–343. doi:10.1002/hed.26010
157. Hu B, Yang XR, Xu Y, Sun YF, Sun C, Guo W, Zhang X, Wang WM, Qiu SJ, Zhou J, Fan J. Systemic Immune-Inflammation Index Predicts Prognosis of Patients after Curative Resection for Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2014; 20(23):6212–6222. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-0442
158. Aziz MH, Sideras K, Aziz NA, Mauff K, Haen R, Roos D, Saida L, Suker M, Harst E, Mieog JS, Bonsing BA, Klaver Y, Koerkamp BG, Eijck CH. The Systemic-immune-inflammation Index Independently Predicts Survival and Recurrence in Resectable Pancreatic Cancer and its Prognostic Value Depends on Bilirubin Levels. *Ann Surg.* 2019; 270(1):139–146. doi:10.1097/SLA.0000000000002660
159. Geng Y, Shao Y, Zhu D, Zheng X, Zhou Q, Zhou W, Ni X, Wu C, Jiang J. Systemic Immune-Inflammation Index Predicts Prognosis of Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Propensity Score-matched Analysis. *Sci Rep.* 2016; 6(1):39482. doi:10.1038/srep39482

160. Ohri CM, Shikotra A, Green RH, Waller DA, Bradding P. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival. *Eur Respir J.* 2009; 33(1):118–126. doi:10.1183/09031936.00065708
161. Jackute J, Zemaitis M, Pranys D, Sitkauskiene B, Miliauskas S, Vaitkiene S, Sakalauskas R. Distribution of M1 and M2 macrophages in tumor islets and stroma in relation to prognosis of non-small cell lung cancer. *BMC Immunol.* 2018; 19(1):3. doi:10.1186/s12865-018-0241-4
162. Hadler-Olsen E, Wirsing AM. Tissue-infiltrating immune cells as prognostic markers in oral squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2019; 120(7):714–727. doi:10.1038/s41416-019-0409-6
163. Wehrhan F, Büttner-Herold M, Hyckel P, Moebius P, Preidl R, Distel L, Ries J, Amann K, Schmitt C, Neukam FW, Weber M. Increased malignancy of oral squamous cell carcinomas (oscc) is associated with macrophage polarization in regional lymph nodes – an immunohistochemical study. *BMC Cancer.* 2014; 14(1):522. doi:10.1186/1471-2407-14-522
164. Sumitomo R, Hirai T, Fujita M, Murakami H, Otake Y, Huang C. PD-L1 expression on tumor-infiltrating immune cells is highly associated with M2 TAM and aggressive malignant potential in patients with resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2019; 136:136–144. doi:10.1016/j.lungcan.2019.08.023
165. Li Z, Wang YJ, Zhou J, Umakoshi M, Goto A. The prognostic role of M2 tumor-associated macrophages in non-small-cell lung cancer. *Histol Histopathol.* 2022; 18474. doi:10.14670/HH-18-474
166. Li X, Chen Z, Ni Y, Bian C, Huang J, Chen L, Xie X, Wang J. Tumor-associated macrophages secrete exosomal miR-155 and miR-196a-5p to promote metastasis of non-small-cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.* 2021; 10(3):1338–1354. doi:10.21037/tlcr-20-1255
167. Naito Y, Saito K, Shiiba K, Ohuchi A, Saigenji K, Nagura H, Ohtani H. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998; 58(16):3491–3494.
168. Wang T, Niu G, Kortylewski M, Burdelya L, Shain K, Zhang S, Bhattacharya R, Gabrilovich D, Heller R, Coppola D, Dalton W, Jove R, Pardoll D, Yu H. Regulation of the innate and

- adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nat Med.* 2004; 10(1):48–54. doi:10.1038/nm976
169. Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol.* 2012; 12(4):253–268. doi:10.1038/nri3175
170. Mazumdar M, Glassman JR. Categorizing a prognostic variable: review of methods, code for easy implementation and applications to decision-making about cancer treatments. *Stat Med.* 2000; 19(1):113–132. doi:10.1002/(sici)1097-0258(20000115)19:1<113::aid-sim245>3.0.co;2-o
171. Wong BYW, Stafford ND, Green VL, Greenman J. Prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2016; 38(10): e1903-e1908. doi:10.1002/hed.24346
172. Selzer E, Grah A, Heiduschka G, Kornek G, Thurnher D. Primary radiotherapy or postoperative radiotherapy in patients with head and neck cancer. *Strahlentherapie und Onkol.* 2015; 191(6):486–494. doi:10.1007/s00066-014-0803-1
173. Jiang K, Lei J, Chen W, Gong Y, Luo H, Li Z, Gong R, Zhu J. Association of the preoperative neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios with lymph node metastasis and recurrence in patients with medullary thyroid carcinoma. *Medicine.* 2016; 95(40):e5079. doi:10.1097/MD.0000000000005079

ANEXO

ARTÍCULOS PUBLICADOS:



OPEN ACCESS

EDITED BY

Franz Rödel,
University Hospital Frankfurt, Germany

REVIEWED BY

Panagiotis Balermias,
University Hospital Zürich, Switzerland
A. Thirumal Raj,
Sri Venkateswara Dental College, India

*CORRESPONDENCE

Juan C. de Vicente
jvicente@uniovi.es
Juana M. García-Pedrero
juanagp.finba@gmail.com

SPECIALTY SECTION

This article was submitted to
Cancer Immunity
and Immunotherapy,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

RECEIVED 11 May 2022

ACCEPTED 15 June 2022

PUBLISHED 26 July 2022



CITATION

Ruiz-Ranz M, Lequerica-Fernández P,
Rodríguez-Santamarta T, Suárez-
Sánchez FJ, López-Pintor RM, García-
Pedrero JM and de Vicente JC (2022)
Prognostic implications of
preoperative systemic inflammatory
markers in oral squamous cell
carcinoma, and correlations with the
local immune tumor
microenvironment.
Front. Immunol. 13:941351.
doi: 10.3389/fimmu.2022.941351

COPYRIGHT

© 2022 Ruiz-Ranz, Lequerica-
Fernández, Rodríguez-Santamarta,
Suárez-Sánchez, López-Pintor, García-
Pedrero and de Vicente. This is an
open-access article distributed under
the terms of the [Creative Commons
Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use,
distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright
owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is
cited, in accordance with accepted
academic practice. No use,
distribution or reproduction is
permitted which does not comply with
these terms.

Prognostic implications of preoperative systemic inflammatory markers in oral squamous cell carcinoma, and correlations with the local immune tumor microenvironment

Marta Ruiz-Ranz¹, Paloma Lequerica-Fernández^{2,3},
Tania Rodríguez-Santamarta^{1,3}, Faustino J. Suárez-Sánchez⁴,
Rosa M. López-Pintor⁵, Juana M. García-Pedrero ^{3,6,7*}
and Juan C. de Vicente ^{1,3,8*}

¹Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo, Spain, ²Department of Biochemistry, Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo, Spain, ³Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA), Universidad de Oviedo, Oviedo, Spain, ⁴Department of Pathology, Hospital Universitario de Cabueñes, Gijón, Spain, ⁵ORALMED Research Group, Department of Dental Clinical Specialties, School of Dentistry, Complutense University, Madrid, Spain, ⁶Department of Otolaryngology, Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo, Spain, ⁷Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, ⁸Department of Surgery, University of Oviedo, Oviedo, Spain

Purpose: The aim of this study was to investigate the prognostic significance of preoperative inflammatory markers in peripheral blood of patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC), and to establish correlations with the infiltrate of macrophages and lymphocytes in the local immune tumor microenvironment (TME).

Materials and Methods: Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR), lymphocyte-monocyte ratio (LMR), and systemic immune-inflammation index (SII) were retrospectively evaluated in a cohort of 348 OSCC patients, and correlated with overall (OS) and disease-specific survival (DSS). Immunohistochemical analysis of tumoral and stromal infiltration of CD8+, CD4+, FOXP3+ and CD20+ lymphocytes and CD68+ and CD163+ macrophages was performed in a subset of 119 OSCC patient samples, and correlations further assessed.

Results: NLR, SII, and LMR were significantly associated with a poorer OS in univariate analysis; however, only NLR remained a significant independent predictor in the multivariate analysis (HR = 1.626, $p = 0.04$). NLR and SII were inversely and significantly correlated with stromal infiltration of CD8+, CD4+,

and CD20+ lymphocytes. Moreover, a significant correlation between LMR was also found to significantly associate with stromal infiltration of CD8+, CD4+, and CD20+ lymphocytes, stromal CD68+ and CD163+ macrophages, and also tumoral infiltration of CD4+ and CD20+ lymphocytes.

Conclusions: Preoperative NLR, SII, and LMR may serve as valuable systemic markers to predict OSCC patient survival, with NLR emerging as an independent predictor of poor OS. Moreover, strong significant correlations were exclusively observed between systemic inflammatory markers and the local stromal infiltration of lymphocytes in the TME.

KEYWORDS

LMR, NLR, oral cancer, PLR, prognosis, systemic immune-inflammation index, tumor microenvironment

Introduction

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is one of the most common tumors in the world, with a global incidence of 377,713 new cases in 2020 (1). Due to the lack of specific symptoms in the early stage of this entity, most OSCC patients are in an advanced stage at the time of diagnosis, more than half of them suffer from a recurrence within 2 years of the initial surgical treatment (2), and the 5-year survival remains approximately 60% (3). Tumor node metastasis (TNM) stage has been established as the main determinant of prognosis and treatment planning for OSCC (3). However, this factor is far from optimal in predictive accuracy, because patients with the same TNM stages often exhibit significant differences in prognosis (4, 5).

Chronic inflammation was firstly linked to carcinogenesis by Rudolf Virchow in 1863 (6). Nowadays, it is recognized as one of the hallmarks of cancer (7), since inflammation induces angiogenesis, cell proliferation, DNA damage caused by reactive oxygen species, and inhibits apoptosis of cancer cells (8). In the tumor microenvironment (TME), tumor cells reprogram surrounding stromal cells, leading to an inflammatory response with expansion and recruitment of different immune cells to support cancer progression (9). Moreover, it has been hypothesized that local inflammatory conditions lead to a systemic inflammatory state that could be measured through peripheral blood markers. In fact, various systemic markers have been correlated with worse clinical outcomes in a broad spectrum of cancers, including head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), colorectal, non-small cell lung, stomach, esophageal, liver, gallbladder, and prostate

cancers, among others (10–17). The magnitude of the inflammatory response can be thoroughly explored by malnutrition and several indicators, among which the counts of neutrophils, lymphocytes, monocytes, and platelets in peripheral blood are readily available. Moreover, systemic ratios between the aforementioned cells, such as neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR), and lymphocyte-monocyte ratio (LMR) have been shown to correlate with survival in cancer patients (8, 10, 12, 18). Recently, the systemic immune-inflammation index (SII) based on neutrophils, lymphocytes and platelets has been proposed as a joint tool to offer helpful prognostic information in patients with hepatocellular carcinoma, pancreatic cancer and germ-cell tumor (19–21), and it has also been tested in OSCC (22). Despite the studies published, the prognostic value of NLR, PLR, LMR, and SII in patients with HNSCC and in OSCC based on multivariate analysis remains unclear, or even controversial (11, 14, 23). Inconsistent findings may be attributed to differences in sample sizes, tumor sites and progression, cutoff values used among the studies, which require further verification. Noteworthy, these markers are rarely studied together in the same patient series, and the relationships between cell numbers and ratios in blood and those locally detected in tumor samples for the intrinsic TME have not yet been properly assessed in OSCC.

The aim of this study was to compare the prognostic performance of preoperative NLR, PLR, LMR, and SII in a large homogeneous cohort of 348 patients with OSCC treated with radical surgery. In addition, we further assessed the correlations between these systemic inflammatory markers in peripheral blood with the stromal and tumoral infiltrate of

macrophages, T and B lymphocytes locally detected by immunohistochemistry in OSCC tissue samples.

Materials and methods

Patients

The present retrospective study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and following approval by the Regional Ethics Committee from Principado de Asturias (date of approval 14th of May 2019; approval number: 136/19, for the project PI19/01255), encompassing all cases of patients with OSCC treated by surgery between January 1996 and November 2007 at the Hospital Universitario Central de Asturias, Spain. Inclusion criteria were defined as follows: (1) histologically confirmed OSCC, (2) no previous history of other head and neck cancer, (3) no radiotherapy and/or chemotherapy treatment prior to surgery, (4) a minimum follow-up time of 3 years in the censored cases, and (5) availability of complete clinical, pathological and laboratory information. Exclusion criteria include inflammatory conditions, corticosteroid therapy, and treatment with platelet aggregation inhibitors.

A total of 348 OSCC patients were included in the study, and their clinicopathologic data were collected from clinical records. Data related to laboratory tests were extracted from electronic medical records. Clinical and pathological characteristics included age, gender, body mass index (BMI), smoking and or drinking habits, tumor, neck node and clinical stages, histological grade of differentiation, and tumor location. Patients were staged according to the 8th edition of the TNM classification of malignant tumors (24).

Determination of blood counts

Complete blood count was preoperatively ordered 1 week before the treatment. Neutrophil, lymphocyte, monocyte and platelet count were obtained. NLR was calculated by dividing the absolute neutrophil (N) count by the absolute lymphocyte (L) count ($NLR = N/L$). PLR was calculated by dividing the absolute platelet (P) count by the absolute lymphocyte count ($PLR = P/L$). LMR by dividing the absolute lymphocyte (L) count by the absolute monocyte (M) count as determined from the complete blood cell count ($LMR = L/M$). The SII index was calculated by multiplying the absolute platelet (P) and neutrophil (N) counts and then dividing this product by the absolute lymphocyte (L) count ($SII = P \times N/L$). Accordingly, SII can also be calculated by multiplying the absolute platelet (P) count and the NLR.

Immunohistochemical analysis in OSCC tissue specimens

Immunohistochemical evaluation was performed in a subset of 119 patients in order to determine the densities of tumor-infiltrating T- and B-cell lymphocytes and macrophages in the OSCC TME, thereby separately evaluating different immune cell populations (CD4+, CD8+, FOXP3+, CD20+, CD68+ and CD163+) in the tumor nests and also the surrounding tumor stroma. The immunohistochemical (IHC) analysis was carried out using OSCC tissue microarrays (TMAs), as previously described (25). The TMAs were cut into 3 μm sections and dried on Flex IHC microscope slides (DakoCytomation, Glostrup, Denmark). The sections were deparaffinized in xylene and rehydrated through a graded alcohol series. Antigen retrieval was performed by heating the sections with Envision Flex Target Retrieval solution, high pH (Dako, Glostrup, Denmark). Staining was done at room temperature on an automatic staining workstation (Dako Autostainer Plus, Dako). The following primary antibodies were used: mouse monoclonal anti-CD4 (Dako, clone 4B12, 1:80 dilution), mouse monoclonal anti-CD8 (Dako, clone C8/144B, prediluted), rabbit monoclonal anti-FoxP3 (Cell Signalling Technology, clone D6O8R, 1:100 dilution), mouse monoclonal anti-CD20 (Dako, clone L26, catalogue number M0755; 1:200 dilution), anti-CD68 (Agilent-Dako, clone KP1, prediluted), and anti-CD163 (Biocare Medical, Pacheco, CA, USA; clone 10D6, 1:100 dilution), by using the Dako EnVision Flex + Visualization System (Dako Autostainer) and diaminobenzidine chromogen as substrate. Negative controls were prepared by omitting the primary antibody. Positive controls were prepared using appropriate positive control slides. Counterstaining with hematoxylin was the final step. CD4, CD8, FOXP3, CD20, CD68, and CD163 immunostainings in both the tumor nests and the surrounding stroma were scored using the average of positively stained cells in each 1 mm^2 area from three independent high-power representative microscopic fields (HPFs, 400 x; 0.0625 μm^2).

Statistical analysis

Continuous normally distributed variables were presented as mean and standard deviation, and the categorical data were expressed as percentage. Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation between continuous variables, and the non-parametric Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used to study the associations between the continuous variables NLR, PLR, SII, LMR with the subgroups

of patients. Receiver operating curve (ROC) analysis was applied to determine ideal cutoff values of NLR, PLR, LMR and SII. Survival curves were performed by Kaplan-Meier analysis and log-rank test. Univariate and multivariate Cox proportional hazard regression model was also performed. Hazard ratios (HR) with 95% confidence intervals were calculated. The endpoints of the survival analysis were overall survival (OS) and disease-specific survival (DSS). OS was measured as the time interval from the initial treatment to the time of death from any cause or the last date of observation, and DSS as the time interval from the initial treatment to the date of death caused by disease progression. p values less than 0.05 was considered statistically significant. The statistical analysis was undertaken using SPSS version 21.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA).

Results

Patient characteristics

Detailed demographic and clinicopathological characteristics of 348 patients are shown in [Table 1](#). In short, patients were predominantly men (63.5%) and ranged in age from 28 to 92 years (mean/median 62 years). Smoking habit and alcohol consumption were respectively reported in 58% and 46% of patients. The most common primary site was the tongue ($n = 144$, 41.4%), followed by the floor of the mouth ($n = 77$, 22.1%). Clinical stages were as follows: stage I ($n = 75$, 21.6%); stage II ($n = 98$, 28.2%); stage III ($n = 62$, 17.8%); and stage IV ($n = 113$, 32.5%). A majority of the enrolled patients had pN0 disease ($n = 211$, 63.2%), and well-differentiated tumors ($n = 216$, 62%). All patients underwent surgery of the primary tumor with curative intention, and none of them received preoperative treatment with radiotherapy and/or chemotherapy. A total of 174 (50%) patients received adjuvant radiotherapy, and 35 (10%) of them, received also chemotherapy.

Determination of NLR, PLR, SII, LMR and associations with clinicopathologic characteristics of OSCC patients

Differential white blood cell and platelet counts were preoperatively determined in peripheral blood from 348 OSCC patients, and the ratios of NLR, PLR, SII, LMR were calculated and summarized in [Table 2](#). High levels of NLR and SII were robustly and significantly associated with larger tumor size ($p = 0.001$, $p < 0.0001$, respectively) and higher American Joint Committee on Cancer (AJCC) stage ($p = 0.009$, $p = 0.003$, respectively) ([Table 3](#)). Moreover, mean values for NLR and SII gradually increased from early to late clinical stages. There was a trend to association between high mean values of NLR, PLR, SII and LMR, and the presence of lymph neck node

metastasis, although none reached statistical significance. No significant associations between NLR, PLR, SII, LMR and other clinicopathological variables (age, sex, tobacco or alcohol consumption, histological grade of differentiation and clinical status at the end of the follow-up) were observed, with the only exceptions of SII and alcohol consumption ($p = 0.039$), and PLR and LMR with tumor location ($p = 0.002$). All four studied inflammatory ratios showed an inverse correlation with the body mass index; however, only led to significant differences in the case of SII and PLR ([Table 3](#)).

Determination of cutoff values for NLR, PLR, SII, LMR and associations with patient prognosis

Patients were followed up for 280 months (median 54 months). The median DSS and OS times were 141 months (range 108 to 173 months) and 70 months (range 48 to 91 months), respectively. The 1-year, 3-year and 5-year survival rates were 78%, 63% and 54%, respectively. The areas under curve (AUC) for NLR, PLR, SII and LMR were 0.520, 0.519, 0.532 and 0.447, respectively. Receiver operating curve (ROC) analyses were performed for all calculated ratios, but significant cutoff values based on the ROC analyses failed to show any prognostic relevance. Thus, in order to find any relevant prognostic significance of these ratios, the cohort was divided according to the different percentiles of cell ratios. When the percentile 90 was used as cutoff value a significant association with OS in NLR and SII (4.08 and 1,137, respectively) was observed, and the same was found with the percentile 75 of LMR (4.58) ([Table 4](#)).

Consequently, patients were divided into two groups based on these cutoff points (low vs high values). As summarized in [Table 4](#), results from univariate Cox analysis show that age, T, N, clinical stage, postoperative radiotherapy, NLR, SII, and LMR, but not PLR, were significantly associated with OS. Even though all four inflammatory ratios showed trend to association with DSS, T, N, stage, and postoperative radiotherapy were the only parameters significantly associated with DSS. Mean and median OS rates were consistently and significantly longer in patients with low NLR and SII values (below their respective cutoff values of 4.08 and 1,137; HR = 1.847 and 1.979, respectively), while longer OS was found in patients with high LMR value (above its respective cutoff value of 4.58; HR = 0.668). A multivariate Cox regression analysis was performed using those variables that were statistically significant from univariate statistical analyses. This analysis showed that age higher than 65 years (HR = 1.498, $p = 0.003$), clinical stages III (HR = 2.140, $p = 0.005$) and IV (HR = 3.708, $p < 0.0001$), postoperative radiotherapy (HR = 1.431, $p < 0.0001$) and NLR higher than 4.08 (HR = 1.626, $p = 0.04$) were independent predictors of a worse OS. Only clinical stages III and IV, and postoperative radiotherapy retained a

TABLE 1 Clinical and pathological characteristics of the cohort of 348 OSCC patients selected for study.

Variable	Number (%)
Age (year) (mean \pm SD; median; range)	62.36 \pm 13.19; 62; 28 – 92
<65 years	192 (55)
>65 years	156 (45)
BMI (kg/m ²) (mean \pm SD; median; range)	26.34 \pm 4.68; 26.34; 16.90 – 51.75
Gender	
Men	221 (63.5)
Women	127 (36.5)
Tobacco use	
Smoker	202 (58)
Non-smoker	127 (36.5)
Unknown	19 (5.5)
Alcohol use	
Drinker	160 (46)
Non-drinker	172 (49.4)
Unknown	16 (4.6)
Location of primary tumor	
Tongue	144 (41.4)
Floor of the mouth	77 (22.1)
Gingiva	61 (17.5)
Palate	18 (5.2)
Buccal cheek mucosa	24 (6.9)
Retromolar trigone	22 (6.3)
Multicenter	2 (0.6)
AJCC pT	
pT1	89 (26.2)
pT2	142 (41.8)
pT3	49 (14.4)
pT4	60 (17.6)
AJCC pN	
pN0	211 (63.2)
pN1	57 (17.1)
pN2	64 (19.2)
pN3	2 (0.6)
AJCC	
I	75 (21.6)
II	98 (28.2)
III	62 (17.8)
IV	113 (32.5)
G status	
G1	216 (62.1)
G2	118 (33.9)
G3	14 (4.0)
Clinical status at the end of the follow-up	
Alive and without recurrence	143 (41.1)
Dead of index cancer	140 (40.2)
Lost or died of other causes (censored)	61 (17.5)
Second primary tumor	4 (1.1)

significant independent association with DSS in the multivariate analysis (Table 5). Finally, we performed a subgroup analysis of the oncological endpoints in postoperatively irradiated patients only, due to this could be a more homogeneous cohort in terms of stage and risk factors, and response to irradiation strongly

depends on the immune system. Results from this new analysis are now provided as [Supplementary Information Table S1](#). As a brief summary of these new data, only age and the tumor size were significantly associated with OS and DSS in the subgroup of irradiated OSCC patients. Even though there was a trend

TABLE 2 Evaluation of inflammatory markers and ratios in peripheral blood from 348 OSCC patients.

Parameter	Mean \pm SD, median (range)
White blood cell count	
Neutrophil count, $10^9/L$	4.72 \pm 1.78, 4.30 (1.10 – 10.70)
Lymphocyte count, $10^9/L$	2.15 \pm 0.97, 2.00 (0.40 – 11.70)
Platelet count, $10^9/L$	254.97 \pm 79.24; 249; 67 – 659
Monocyte count, $10^9/L$	0.65 \pm 0.70, 0.55 (0.00 – 9.00)
Calculated ratios	
NLR	2.48 \pm 1.26; 2.22 (0.25 – 7.86)
PLR	135.35 \pm 58.35, 123.84 (18.03 – 416.25)
SII	639.87 \pm 408.57, 524.85 (38.75 – 2,634.05)
LMR	3.96 \pm 2.45 (0.255 – 27.00)

NLR, neutrophil-lymphocyte ratio; SII, systemic immune-inflammation index; LMR, monocyte-lymphocyte ratio; PLR, platelet lymphocyte ratio.

between high NLR and SII and a poorer OS, differences did not reach statistical significance. Moreover, major poor prognostic factors such as pN classification failed not show significant associations with OS and DSS for this subset of patients, probably because the effect of these clinical variables was lost by specifically selecting for analysis only the subgroup of irradiated patients.

Correlation analysis between systemic NLR, PLR, SII, LMR, and the tumor immune infiltrate in OSCC tissue samples

We next evaluated by immunohistochemistry the densities of tumor-infiltrating T- and B-cell lymphocytes and macrophages in the OSCC TME in a subset of 119 patients, to correlate the IHC data from OSCC tissue samples with the systemic inflammatory ratios determined in peripheral blood from the same subset of OSCC patients. Thus, density numbers of infiltrating CD8+, CD4+, and FOXP3+ T-cell lymphocytes, CD20+ T-cell lymphocytes, and CD68+ and CD163+ macrophages were separately evaluated in both the tumor nests and surrounding stroma, and the mean numbers were correlated with the mean values for NLR, PLR, SII and LMR (Table 6). We found inverse significant correlations between NLR and SII with stromal CD8+, CD4+, and CD20+ infiltrating lymphocytes. In addition, positive significant correlations were observed between LMR and stromal infiltration of CD8+, CD4+, CD20+ lymphocytes, stromal infiltration of CD68+ and CD163+ macrophages, as well as tumoral CD4+ and CD20+ infiltrating lymphocytes (Table 6). PLR did not show any significant correlation with the immune tumor infiltrate, nor FOXP3+ TILs were correlated with any of the systemic inflammatory ratios (Table 6). Noteworthy, strong significant correlations between systemic inflammatory markers and the immune cell infiltrate in the OSCC TME were exclusively observed with

immune cells infiltrating the tumor stroma, but not the tumor nests.

Discussion

In the present study we investigated the clinical relevance of four preoperative systemic inflammatory markers and their potential prognostic significance in OSCC. According to our results, NLR, SII and LMR showed prognostic value in the univariate analysis; however, only NLR remained an independent prognostic biomarker in the multivariate analysis. Recent studies have demonstrated that NLR may comprehensively reflect the inflammation and immune status of cancer patients (26), thereby representing a balance between the protumor inflammation and the anti-tumor immune status (27). The NLR indicates relative neutrophilia and lymphopenia, which has been related to shorter survival rates (11–13). Neutrophilia is known to inhibit the cytolytic activity of T- and NK cells (12), while a lymphopenia might underlie an insufficient host immune response due to destruction of lymphocytes by cancer cells (28). A recent meta-analysis conducted by Kumarasamy et al. (10) showed an overall positive correlation between increased NLR levels and a poorer prognosis in all but one included studies. In another meta-analysis, Takenaka et al. (11) found that two-thirds of studies demonstrated that a higher NLR was significantly associated with poor prognosis, whereas others led to non-significant results. Additionally, Ye et al. (29) failed to find any association between an elevated pre-treatment NLR and HNSCC patient survival, whereas Templeton et al. (15) reported that the prognostic impact of NLR might depend on the tumor site. Concordantly, using a multivariate analysis and adjusted HR we found that patients with a NLR value higher than 4.08 presented an enhanced risk of overall mortality. By contrast, SII, PLR and LMR had no influence on mortality risk in

TABLE 3 Relationships between the clinicopathological variables and inflammatory ratios calculated for the cohort of 348 OSCC patients.

Variable	Total No.	NLR Mean (SD)	<i>p</i>	SII Mean (SD)	<i>p</i>	LMR Mean (SD)	<i>p</i>	PLR Mean (SD)	<i>p</i>
BMI	321	-0.114 *	0.054	-0.140 *	0.019	0.11 *	0.063	-0.131 *	0.027
Age (years)									
< 65	177	2.57 (1.80)	0.65	666.53 (455.23)	0.17	4.04 (2.76)	0.53	132.51 (59.84)	0.08
≥ 65	135	2.49 (1.18)		604.98 (336.44)		3.87 (1.99)		139.18 (56.23)	
Gender									
Female	116	2.46 (1.15)	0.44	658.49 (373.57)	0.54	4.15 (1.71)	0.30	143.53 (55.88)	0.31
Male	196	2.59 (1.76)		628.87 (428.46)		3.85 (2.81)		130.03 (59.14)	
Tobacco									
No	112	2.47 (1.11)	0.48	615.55 (320.71)	0.37	3.95 (1.97)	0.84	140.20 (56.00)	0.81
Yes	181	2.59 (1.80)		655.80 (442.30)		4.01 (2.79)		132.03 (59.41)	
Alcohol consumption									
No	155	2.42 (1.19)	0.25	584.77 (317.14)	0.039	4.01 (2.04)	0.99	134.31 (53.08)	0.80
Yes	141	2.62 (1.86)		681.55 (459.21)		4.01 (2.93)		136.08 (62.90)	
Location of primary tumor									
Tongue	144	2.58 (1.87)	0.87	645.92 (409.32)	0.72	3.77 (1.87)	0.002	140.17 (63.14)	0.001
Floor of the mouth	77	2.37 (1.26)		601.63 (404.32)		4.47 (3.55)		121.86 (53.93)	
Gingiva	61	2.57 (1.32)		709.17 (484.22)		3.79 (2.38)		142.61 (50.44)	
Palate	18	2.83 (1.53)		649.75 (458.42)		3.54 (1.38)		139.87 (62.29)	
Buccal cheek mucosa	24	2.59 (1.48)		584.10 (266.51)		4.32 (1.87)		134.55 (65.71)	
Retromolar trigone	22	2.58 (1.00)		621.37 (263.82)		3.39 (1.25)		134.33 (44.36)	
Multicenter	2	1.44 (1.68)		336.89 (421.64)		10.59 (5.75)		0	
AJCC pT									
pT1	80	2.09 (1.02)	0.001	536.59 (346.73)	< 0.0005	4.49 (2.36)	0.06	123.82 (50.84)	0.24
pT2	131	2.44 (1.24)		579.87 (357.65)		3.91 (2.01)		126.07 (52.60)	
pT3	42	2.97 (1.14)		841.22 (401.80)		3.27 (1.11)		165.73 (51.28)	
pT4	52	3.05 (2.67)		744.63 (495.79)		4.03 (3.96)		152.20 (76.96)	
AJCC pN									
pN0	193	2.46 (1.22)	0.37	628.05 (384.10)	0.80	3.94 (2.07)	0.58	138.47 (59.07)	0.10
pN+	107	2.62 (2.00)		639.94 (398.37)		4.10 (3.12)		129.02 (56.24)	
Stage									
I	70	2.03 (1.04)	0.009	516.28 (352.15)	0.003	4.62 (2.76)	0.06	122.79 (54.21)	0.37
II	89	2.52 (1.23)		598.56 (328.90)		3.84 (1.85)		132.63 (48.28)	
III	52	2.74 (1.23)		694.15 (371.66)		3.53 (1.45)		135.22 (50.52)	
IV	101	2.81 (2.11)		738.41 (497.74)		3.84 (3.00)		148.16 (71.55)	
Postoperative radiotherapy									
No	153	2.51 (1.33)	0.57	626.10 (425.25)	0.55	3.84 (2.11)	0.37	136.39 (59.47)	0.32
Yes	151	2.53 (1.76)		647.07 (381.10)		4.16 (2.80)		127.97 (52.79)	
Grade									
Well	191	2.44 (1.29)	0.17	629.15 (425.72)	0.56	4.08 (2.80)	0.27	132.71 (58.41)	0.45
Moderate + Poor	121	2.69 (1.91)		656.80 (381.03)		3.77 (1.77)		139.78 (57.77)	
Clinical status at the end of the follow-up									
Alive and without recurrence	130	2.44 (1.15)	0.71	602.56 (326.49)	0.45	4.03 (2.07)	0.86	132.36 (54.21)	0.13
Dead of index cancer	120	2.66 (1.93)		676.69 (457.15)		3.98 (2.98)		134.65 (48.28)	
Lost or died of other causes	58	2.56 (1.53)		636.85 (447.01)		3.75 (2.07)		144.11 (50.52)	
Second primary tumor	4	2.27 (1.68)		800.10 (699.74)		4.52 (2.09)		152.74 (72.79)	

BMI, Body mass index. * Pearson correlation coefficient.

the multivariate Cox regression analysis. According to these results, we could hypothesize that the impact of these inflammatory markers on patient prognosis could plausibly be related to a surrogate role for poor performance status, advanced disease stage, and various comorbidities like cardiovascular disease and malnutrition. In fact, all these conditions affect OS but not DSS, as observed for the inflammatory markers.

Malnutrition itself is related to a higher rate of postsurgical complications, higher tumor recurrence, increased risk of infections and poor prognosis (30). Moreover, various biochemical parameters, such as albumin or transferrin, but also blood cells like lymphocytes are markers commonly used in nutritional evaluation (31). The PLR, in turn, can be considered as a balance between the status of tumor growth

TABLE 4 Univariate Cox regression analysis of overall and disease-specific survival in the cohort of 348 OSCC patients.

Variable	Overall survival		Disease-specific survival	
	HR (95% CI)	<i>p</i>	HR (95% CI)	<i>p</i>
Age (years)				
<65	1 (reference)	0.01	1 (reference)	0.10
≥65	1.439 (1.086 – 1.908)		1.325 (0.948 – 1.852)	
Gender				
Female	1 (reference)	0.06	1 (reference)	0.46
Male	1.316 (0.978 – 1.771)		1.140 (0.805 – 1.614)	
Tobacco				
No	1 (reference)	0.60	1 (reference)	0.77
Yes	1.099 (0.854 – 1.413)		1.046 (0.770 – 1.413)	
Alcohol				
No	1 (reference)	0.07	1 (reference)	0.62
Yes	1.222 (0.958 – 1.558)		1.075 (0.800 – 1.430)	
AJCC pT				
pT1	1 (reference)	<0.0001	1 (reference)	<0.0001
pT2	1.383 (0.936 – 2.045)	0.10	1.362 (0.835 – 2.220)	0.21
pT3	2.027 (1.250 – 3.288)	0.004	2.202 (1.223 – 3.963)	0.008
pT4	3.519 (2.280 – 5.430)	<0.0001	4.477 (2.691 – 7.446)	<0.0001
AJCC pN				
pN0	1 (reference)	<0.0001	1 (reference)	<0.0001
pN+	2.583 (1.938 – 3.442)		3.158 (2.236 – 4.461)	
Stage				
I	1 (reference)	<0.0001	1 (reference)	<0.0001
II	1.377 (0.862 – 2.201)	0.18	1.594 (0.854 – 2.975)	0.14
III	1.967 (1.203 – 3.215)	0.007	1.967 (1.431 – 5.059)	0.002
IV	3.603 (2.349 – 5.526)	<0.0001	5.069 (2.893 – 8.881)	<0.0001
Postoperative radiotherapy				
No	1 (reference)	<0.0001	1 (reference)	<0.0001
Yes	1.422 (1.228 – 1.647)		1.572 (1.336 – 1.849)	
Grade				
Well	1 (reference)	0.17	1 (reference)	0.11
Moderate + Poor	1.216 (0.915 – 1.616)		1.315 (0.940 – 1.841)	
NLR				
≤4.08	1 (reference)	0.007	1 (reference)	0.07
>4.08	1.847 (1.179 – 2.895)		1.644 (0.956 – 2.829)	
PLR				
≤205	1 (reference)	0.11	1 (reference)	0.08
>205	1.465 (0.908 – 2.363)		1.617 (0.939 – 2.784)	
SII				
≤1,137	1 (reference)	0.003	1 (reference)	0.18
>1,137	1.979 (1.260 – 3.108)		1.479 (0.829 – 2.638)	
LMR				
≤4.58	1 (reference)	0.02	1 (reference)	0.07
>4.58	0.668 (0.466 – 0.957)		0.665 (0.426 – 1.036)	

and tumor suppression (32). It has been shown that elevated platelet counts are associated with an increased cancer incidence (33), hence suggesting that platelets could be involved in both carcinogenesis and tumor progression. The PLR has been used in predicting survival outcome, but according to the most recent studies, there is some controversy regarding the correlations between PLR and prognosis in cancer patients. Thus, the

reported impact of thrombocytosis and PLR in HNSCC differs significantly among studies (34). In some reports, the PLR was associated with a better survival in multivariate analysis (35, 36), whereas PLR was not an independent prognostic biomarker in laryngeal cancer (37). As an extension of these data, in this study we did not find a relationship between the PLR and OSCC prognosis. High preoperative SII, which is related to high levels

TABLE 5 Multivariate Cox regression analysis of overall and disease-specific survival in the cohort of 348 OSCC patients.

Variables	Overall survival		Disease-specific survival	
	HR (95% CI)	<i>p</i>	HR (95% CI)	<i>p</i>
Age				
≤65 years	1 (reference)	0.017		
>65 years	1.498 (1.095 – 2.051)			
Stage		< 0.0001		< 0.0001
I	1 (reference)		1 (reference)	
II	1.459 (0.956 – 2.227)	0.08	1.470 (0.855 – 2.526)	0.16
III	2.140 (1.255 – 3.649)	0.005	2.690 (1.399 – 5.170)	0.003
IV	3.708 (2.290 – 6.002)	<0.0001	5.112 (2.873 – 9.095)	<0.0001
Radiotherapy				
No	1 (reference)	< 0.0001	1 (reference)	< 0.0001
Yes	1.431 (1.212– 1.689)		1.598 (1.313 – 1.945)	
NLR				
≤4.08	1 (reference)	0.04		
>4.08	1.626 (1.004 – 2.633)			

of circulating tumor cells (CTCs) (38), has been significantly associated with tumor size and advanced pathological grade in OSCC (22). The NLR was also associated with tumor size, while no significant associations were found between PLR and clinicopathological parameters. Also, patients with a high SII

(above a cutoff value of 484.5) consistently showed a significant lower OS and DSS (22).

In the literature, low LMR has been associated with a poor prognosis in numerous solid cancers. Tham et al. (39) conducted a meta-analysis that included 4,260 patients with HNSCC in

TABLE 6 Correlations between systemic NLR, SII, PLR, and LMR, and the immune tumor infiltrate in OSCC tissue samples from 119 patients.

Variable	NLR	SII	PLR	LMR
Stromal CD8+ TILs	-0.318 < 0.001	-0.26 < 0.001	-0.170 0.09	0.442 < 0.0001
Tumoral CD8+ TILs	-0.132 0.18	-0.041 0.68	-0.034 0.73	0.143 0.14
Stromal CD4+ TILs	-0.211 0.03	-0.198 0.04	-0.030 0.76	0.373 < 0.0001
Tumoral CD4+ TILs	-0.101 0.30	-0.024 0.80	0.058 0.56	0.256 0.008
Stromal FOXP3+ TILs	0.072 0.46	-0.066 0.51	-0.016 0.87	-0.23 0.81
Tumoral FOXP3+ TILs	0.068 0.49	-0.014 0.88	0.010 0.92	-0.81 0.41
Stromal CD20+ B-cells	-0.216 0.02	-0.232 0.02	-0.083 0.41	0.193 0.04
Tumoral CD20+ B-cells	-0.179 0.07	-0.189 0.06	-0.022 0.83	0.272 0.005
Stromal CD68+ TIMs	-0.145 0.14	-0.117 0.24	-0.054 0.59	0.326 0.001
Tumoral CD68+ TIMs	-0.062 0.53	0.015 0.88	0.071 0.47	0.022 0.82
Stromal CD163+ TIMs	-0.165 0.09	-0.167 0.09	-0.076 0.44	0.316 0.001
Tumoral CD163+ TIMs	0.033 -0.73	-0.020 0.84	-0.12 0.90	0.075 0.445

TILs, Tumor-infiltrating lymphocytes; TIMs, Tumor-infiltrating macrophages. The numbers of infiltrating CD8+, CD4+, and FOXP3+ T-cell lymphocytes, CD20+ B-cell lymphocytes, and CD68+ and CD163+ macrophages were evaluated by immunohistochemistry in both the tumor nests and surrounding stroma, and the mean numbers were correlated with the four systemic inflammatory ratios. The Pearson's coefficients and the corresponding *p* values are shown.

seven cohorts and found that an elevated LMR was significantly associated with improved OS. Higher amounts of lymphocytes in the TME have been correlated with improved prognosis (40), and conversely, macrophages derived from monocytes have been associated with poorer survival outcomes (41). Here we found that LMR calculated in peripheral blood specifically and significantly correlated with stromal infiltration of CD68+ and CD163+ macrophages but not tumor tissue infiltration. Macrophages represent an interface between innate and acquired immunity, and can be polarized into two phenotypes, proinflammatory and antitumor M1 and M2, which in turn increases inflammation and promotes tumor progression, immunosuppression, angiogenesis, migration, and metastasis (25). The prognostic role of tumor-associated macrophages (TAM) in tumors remains to be fully elucidated. Ohri et al. (42) reported that the number of M1 macrophages in the tumor tissue is associated with a better prognosis, whereas high infiltration of M2 macrophages in tumor tissue and stroma is associated with unfavorable prognosis (43). The mechanism by which M2 macrophages could be associated with a poor prognosis is strongly supported by their role in the promotion of tumor progression. Thus, M2 macrophages may facilitate PD-L1 expression by tumor cells (44), and the interaction between PD-1 and PD-L1 promotes immune suppression (45). Moreover, it has been recently demonstrated that exosomes derived from M2 TAMs promote cell viability, migration, and invasion in non-small-cell lung cancer (46).

CD68 is a pan-macrophage marker that allows to identify all macrophages regardless of their phenotype, while the CD163 is a marker for M2 macrophages. It has been reported that a high number of CD163+ macrophages was significantly correlated with a worse survival in OSCC. Various studies showed that only stromal CD163+ expression resulted to be significantly associated with survival, whereas intratumoral CD163+ expression was not significant (47–49). As far as we know, this study is the first to assess and demonstrate the correlations between systemic inflammatory biomarkers and the local immune TME in OSCC tissue samples. Thus, NLR and SII were negatively correlated with stromal CD8+, CD4+, and CD20+ TIL density in the local TME. In addition, LMR was positively correlated with stromal infiltration of CD8+ TILs, tumoral and stromal infiltration of CD4+ and CD20+ TILs, as well as with stromal CD68+ and CD163+ macrophage densities in the local OSCC TME. CD8+ T lymphocytes identify and kill tumor cells playing a role in the anticancer immune response (50), and are usually supported by CD4+ T helper cells that release interferon-gamma (IFN γ) and interleukin-2 (IL-2) (51). Cancer cells express tumor-specific antigens that usually elicit an immune response mediated by CD20+ B cells, both as humoral immunity and modulating T cell responses to antigens (52). Consequently, neutrophilia and/or lymphopenia are correlated with the reduction of CD4+ T helper cells and cytotoxic CD8+ T cells in the tumoral stroma. Moreover,

tumor-associated macrophages (TAMs) can be polarized into antitumoral M1 macrophages, expressing CD68, and protumoral and immunosuppressive M2 macrophages, characterized by coexpression of CD68 and CD163 (53). NLR, PLR and SII showed negative correlation coefficients with the different immune cell densities in the local OSCC TME. This could be due to systemic inflammatory response that leads to an increase in circulating neutrophils and platelets thereby reducing the number of lymphocytes available to act against tumor cells (54).

The mechanism behind the association between a high NLR, PLR, LMR or SII and poor cancer prognosis is not well understood (15). It is well known that cancer progression requires interactions between tumor cells and their microenvironment, including inflammatory, immune, and metabolic responses. It is therefore conceivable that immune cells execute their diverse functions both locally and systemically, boosting cancer initiation and progression (22).

Monocytes and lymphocytes have anti-tumoral effects (37). In particular, T cells are critical in the immune surveillance of cancer cells, and are involved not only in cytotoxic cell death, but also in cytokine production, which inhibits tumor cell proliferation and metastasis (55). In this regard, decreased lymphocyte density in tumor tissue has been associated with a poor outcome in OSCC (56). Cancer-mediated myelopoiesis has been related to the promotion of tumor angiogenesis, cell invasion and metastasis (38), and with persistence of immature myeloid cells (57). On the other hand, tumor cells can attract neutrophils that contribute to the destruction of the basement membranes and the invasion into surrounding tissues (58) through the secretion of epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukins IL-6 and IL-8 to promote tumor growth, invasion and metastasis (7).

However, neutrophils are also necessary for the recruitment of T cells that are associated with cytotoxic effects on tumor cells (13). In addition, neutrophils may release nitric oxide, arginase, and reactive oxygen species leading to T cell activation disorders (38). Neutrophils have been shown to contribute to tumor angiogenesis, mutagenesis, immunosuppression, and promotion of tumor cell proliferation (29, 59). Platelets promote tumor cell growth, epithelial-mesenchymal transition through secretion of TGF- β , vascular invasion, hematogenous dissemination, tumor cell extravasation (60), immune system evasion and the establishment of a metastatic niche (28), and even modulate the immune response (33). Neutrophil counts in the peripheral blood are elevated in OSCC patients (61). Tumor cells can increase the number of platelets in blood *via* thrombopoietin, IL-6 or leukemia inhibitory factor (62), and in turn, platelets facilitate tumor cell survival and escape from immune clearance mechanisms (63). Moreover, platelets could secrete transforming growth factor-beta (TGF- β) to suppress NK cells, and VEGF to promote tumor angiogenesis, ultimately contributing to tumor progression and

metastasis (1, 37). In this study, our data reveal a relationship between NLR and SII with tumor size and clinical stage, which is in line with the aforementioned promotion of tumor growth and spreading. High NLR and SII might result from neutrophilia, thrombocytopenia and lymphopenia, reflecting a combination of inflammation and dysfunctional immune system.

Interestingly, our study unveils high NLR as an independent prognostic factor for OS in OSCC, being superior to the other studied markers in predicting clinical outcomes.

In relation to the cutoff values for the different prognostic markers, they varied widely and were inconsistent among different individual studies. Hence, to define the optimal values for each cancer type might be a prerequisite for biomarker translation into clinical practice (22). In order to translate a continuous variable such as NLR, PLR, LMR or SII into a clinical decision tool, it is necessary to determine a cut-off point to stratify patients into distinct groups (64), optimizing the correlation with clinical outcomes by using minimization of p values or maximization of sensitivity and specificity tests. The majority of authors use a ROC analysis to determine optimal cutoff points; however, studies also often use cutoff values based on tertiles (65), quartiles (66), the median (67), or values referred to previous literature of different solid organs (68, 69). Herein, we were unable to determine reliable cut-off values based on ROC analysis to correlate NLR, PLR, LMR or SII with OS nor DSS. Thus, we based our analyses in percentiles and found that the percentile 90 was able to define statistically relevant prognostic groups for NLR and SII, and percentile 70 for the LMR. In a meta-analysis enrolling 3,770 patients from 16 studies that reported HRs for OS, Takenaka et al. (11) found that a higher NLR was associated with worse OS (HR = 1.69) in 12 studies, whereas non-significant results were observed in the four remaining studies reported. These authors also found that the prognostic magnitude of NLR on OS was different depending on the tumor sites, with a highest value for oropharyngeal cancer (HR = 4.60) and lower for OSCC (HR = 1.50). Mascarella et al. (13) conducted a meta-analysis and found a combined HR for OS of HNSCC patients and an elevated NLR of 1.78, and NLR of 1.56 for OSCC. Yu et al. (14) performed another recent meta-analysis that included 5,475 patients found a HR of 1.84 for OS in patients with a high NLR value. The HR found in the present study was 1.81. It is important to note that NLR may also be elevated in benign disorders such as renal and coronary heart disease (70, 71). The reported NLR cutoff points used for OS in HNSCC patients ranged from 1.92 to 5.56 (12, 13); the PLR cutoff varied in a range of 105.3 to 170 (72–74) including several head and neck tumor locations; and the published LMR cutoff values range from 2.475 to 5.3 (75). The cutoff values used in this study for NLR, PLR, and LMR were 4.08, 162, and 4.58, respectively, values that are within the published ranges, taking into account that threshold values and clinical significance differed significantly by primary sites (76). It is plausible that cutoff values could vary depending on the genetic background for different tumor cell origin, etiological factors or even for different patient populations and ethnicities

(39). In fact, the majority of the studies have been undertaken in East Asian populations (39, 77). Yu et al. (14) inferred that the prognostic value of NLR in HNSCC patients is influenced by the cutoff and recommended to use a continuous range of NLR values, rather than point values. Furthermore, OSCC patients frequently present with ulcerative and infected lesions that lead to an increased neutrophil count. Consequently, the most discriminatory cutoff points for systemic inflammatory markers remain unknown and may differ among different tumor sites and stages.

There are some limitations of this study. This study is retrospective in nature, and there may be selection bias during retrospective data collection. Additionally, our information on hematological markers only reflect the preoperative status, and it is conceivable that post-treatment markers could change and predict clinical outcomes. Moreover, subsites, stages, treatment modalities, cutoff methods, cutoff values, and data analysis were quite different among individual studies. Furthermore, OSCC is often ulcerated, and heavily infiltrated by immune and inflammatory cells when exposed to the microbial environment of the oral cavity. Hence, they could be confounding factors when comparing ulcerated and non-ulcerated tumors in relation to the immune tumor microenvironment.

Conclusion

In conclusion, our results reveal that preoperative determination of the systemic NLR, SII, and LMR may serve as easily and valuable markers to predict OSCC patient prognosis, together with the TNM stage and the patients' age. Moreover, high NLR was found an independent prognostic indicator of poor OS. Notably, these systemic inflammatory markers were well correlated with the local immune cell densities in the stroma of tumor microenvironment. Further prospective studies are warranted to clarify and validate the prognostic value of NLR and the accurate cutoff values before translation into daily clinical practice.

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Ethics statement

The studies involving human participants were reviewed and approved by Regional Ethics Committee from Principado de Asturias (date of approval 14th of May 2019; approval number:

136/19, for the project PI19/01255). The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection, and analysis were performed by MR-R, PL-F, TR-S, FS-S, and RL-P. JMG-P contributed to the design of the study, data interpretation and review of the manuscript. JCV contributed to the design of the study, data analysis and interpretation, and wrote the first draft of the manuscript. All authors read and gave final approval of the final version of the manuscript.

Funding

This study has been funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) through the projects “PI19/01255” and “PI19/00560” and co-funded by the European Union, and also the Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Fundación Bancaria Caja de Ahorros de Asturias-IUOPA, and the FEDER Funding Program from the European Union.

References

- Caruntu A, Moraru L, Lupu M, Taubner L, Caruntu C, Tanase C. The hidden treasures of preoperative blood assessment in oral cancer: A potential source of biomarkers. *Cancers (Basel)* (2021) 13(17):4475. doi: 10.3390/cancers13174475
- Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. *Lancet* (2008) 371(9625):1695–709. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60728-X
- Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update. *CA Cancer J Clin* (2015) 65(5):401–21. doi: 10.3322/caac.21293
- Okuyemi OT, Piccirillo JF, Spitznagel E. TNM staging compared with a new clinicopathological model in predicting oral tongue squamous cell carcinoma survival. *Head Neck* (2014) 36(10):1481–9. doi: 10.1002/hed.23486
- Diao P, Wu Y, Ge H, Li J, Zhang W, Huang R, et al. Preoperative circulating platelet, neutrophil, and lymphocyte counts predict survival in oral cancer. *Oral Dis* (2019) 25(4):1057–66. doi: 10.1111/odi.13049
- Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to virchow? *Lancet* (2001) 357(9255):539–45. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* (2011) 144(5):646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
- Takahashi H, Sakakura K, Tada H, Kaira K, Oyama T, Chikamatsu K. Prognostic significance and population dynamics of peripheral monocytes in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2019) 41(6):1880–8. doi: 10.1002/hed.25625
- Alves AM, Diel LF, Lamers ML. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. *J Oral Pathol Med* (2018) 47(5):460–7. doi: 10.1111/jop.12643
- Kumarasamy C, Tiwary V, Sunil K, Suresh D, Shetty S, Muthukaliannan GK, et al. Prognostic utility of platelet-lymphocyte ratio, neutrophil-lymphocyte ratio and monocyte-lymphocyte ratio in head and neck cancers: A detailed PRISMA compliant systematic review and meta-analysis. *Cancers (Basel)* (2021) 16(4):166. doi: 10.3390/cancers13164166
- Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K, et al. Prognostic role of neutrophil-to-Lymphocyte ratio in head and neck cancer: A meta-analysis. *Head Neck* (2018) 40(3):647–55. doi: 10.1002/hed.24986

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.941351/full#supplementary-material>

- Tham T, Bardash Y, Herman SW, Costantino PD. Neutrophil-To-Lymphocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck* (2018) 40(11):2546–57. doi: 10.1002/hed.25324
- Mascarella MA, Mannard E, Silva SD, Zeitouni A. Neutrophil-To-Lymphocyte ratio in head and neck cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck* (2018) 40(5):1091–100. doi: 10.1002/hed.25075
- Yu Y, Wang H, Yan A, Wang H, Li X, Liu J, et al. Pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio in determining the prognosis of head and neck cancer: A meta-analysis. *BMC Cancer* (2018) 18:383. doi: 10.1186/s12885-018-4230-z
- Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-Lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* (2014) 106(6):dju124. doi: 10.1093/jnci/dju124
- Wei Y, Jiang YZ, Qian WH. Prognostic role of NLR in urinary cancers: A meta-analysis. *PLoS One* (2014) 9(3):e92079. doi: 10.1371/journal.pone.0092079
- Xiao WK, Chen D, Li SQ, Fu SJ, Peng BG, Liang LJ. Prognostic significance of neutrophil-lymphocyte ratio in hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *BMC Cancer* (2014) 14:117. doi: 10.1186/1471-2407-14-117
- Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* (2010) 140(6):883–99. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.025
- Hu B, Yang XR, Xu Y, Sun YF, Sun C, Guo W, et al. Systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients after curative resection for hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* (2014) 20(23):6212–22. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0442
- Aziz MH, Sideras K, Aziz NA, Mauf K, Haen R, Roos D, et al. The systemic-Immune-Inflammation index independently predicts survival and recurrence in resectable pancreatic cancer and its prognostic value depends on bilirubin levels: A retrospective multicenter cohort study. *Ann Surg* (2019) 270(1):139–46. doi: 10.1097/SLA.0000000000002660
- Chovanec M, Cierna Z, Miskovska V, Machalekova K, Kalavska K, Rejlekova K, et al. Systemic immune-inflammation index in germ-cell tumours. *Br J Cancer* (2018) 118(6):831–8. doi: 10.1038/bjc.2017.460
- Diao P, Wu Y, Li J, Zhang W, Huang R, Zhou C, et al. Preoperative systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients with oral squamous

cell carcinoma after curative resection. *J Transl Med* (2018) 16(1):365. doi: 10.1186/s12967-018-1742-x

23. Bakshi SS. Letter to the Editor regarding neutrophil-to-Lymphocyte ratio in laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2017) 39(3):614. doi: 10.1002/hed.24661

24. Lydiatt WM, Patel SG, Ridge JA, O'Sullivan B, Shah JP. Staging head and neck cancers. In: *AJCC cancer staging manual, 8th ed.* IL, USA: Springer International Publishing AG Switzerland (2017). p. 55–181.

25. Suárez-Sánchez FJ, Lequerica-Fernández P, Suárez-Canto J, Rodrigo JP, Rodríguez-Santamarta T, Domínguez-Iglesias F, et al. Macrophages in oral carcinomas: Relationship with cancer stem cell markers and PD-L1 expression. *Cancers (Basel)* (2020) 12(7):1764. doi: 10.3390/cancers12071764

26. Guo Q, Shao Z, Xu D, Fan L, Xiong H, Ding X, et al. Prognostic value of neutrophil-to-Lymphocyte ratio in peripheral blood and pathological tissue in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Med (Baltimore)* (2020) 99(29):e21306. doi: 10.1097/MD.00000000000021306

27. Song S, Chen H, Dong W, Zhou H. The prognostic value of preoperative derived neutrophil-to-Lymphocyte ratio in patients undergoing total laryngectomy with laryngeal carcinoma. *Acta Otolaryngol* (2019) 139(3):294–8. doi: 10.1080/00016489.2019.1566780

28. Ménétrier-Caux C, Ray-Coquard I, Blay JY, Caux C. Lymphopenia in cancer patients and its effects on response to immunotherapy: An opportunity for combination with cytokines? *J Immunother Cancer* (2019) 7(1):85. doi: 10.1186/s40425-019-0549-5

29. Ye J, Liao B, Jiang X, Dong Z, Hu S, Liu Y, et al. Prognosis value of platelet counts, albumin and neutrophil-lymphocyte ratio of locoregional recurrence in patients with operable head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Manag Res* (2020) 12:731–41. doi: 10.2147/CMAR.S234618

30. Bossola M. Nutritional interventions in head and neck cancer patients undergoing chemoradiotherapy: A narrative review. *Nutrients* (2015) 7:265–76. doi: 10.3390/nu7010265

31. León-Idougourram S, Pérez-Gómez JM, Muñoz Jiménez C, L-López F, Manzano García G, Molina Puertas MJ, et al. Morphofunctional and molecular assessment of nutritional status in head and neck cancer patients undergoing systemic treatment: Role of inflammasome in clinical nutrition. *Cancers (Basel)* (2022) 14(3):494. doi: 10.3390/cancers14030494

32. Azab B, Shah N, Radel J, Tan P, Bhatt V, Vonfrilio S, et al. Pretreatment Neutrophil/Lymphocyte ratio is superior to Platelet/Lymphocyte ratio as predictor of long-term mortality in breast cancer patients. *Med Oncol* (2013) 30(1):432. doi: 10.1007/s12032-012-0432-4

33. Ankus E, Price SJ, Ukoumunne OC, Hamilton W, Bailey SER. Cancer incidence in patients with a high normal platelet count: A cohort study using primary care data. *Fam Pract* (2018) 35(6):671–5. doi: 10.1093/fampra/cmy018

34. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K, et al. Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis. *Head Neck* (2018) 40(12):2714–23. doi: 10.1002/hed.25366

35. Wang J, Wang S, Song X, Zeng W, Wang S, Chen F, et al. The prognostic value of systemic and local inflammation in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Oncotargets Ther* (2016) 9:7177–85. doi: 10.2147/OTT.S113307

36. Hsueh C, Tao L, Zhang M, Cao W, Gong H, Zhou J, et al. The prognostic value of preoperative neutrophils, platelets, lymphocytes, monocytes and calculated ratios in patients with laryngeal squamous cell cancer. *Oncotarget* (2017) 8(36):60514–27. doi: 10.18632/oncotarget.16234

37. Chen L, Zeng H, Yang J, Lu Y, Zhang D, Wang J, et al. Survival and prognostic analysis of preoperative inflammatory markers in patients undergoing surgical resection for laryngeal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* (2018) 18(1):816. doi: 10.1186/s12885-018-4730-x

38. Geng Y, Shao Y, Zhu D, Zheng X, Zhou Q, Zhou W, et al. Systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma: A propensity score-matched analysis. *Sci Rep* (2016) 6:39482. doi: 10.1038/srep39482

39. Tham T, Olson C, Khaymovich J, Herman SW, Costantino PD. The lymphocyte-to-Monocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2018) 275(7):1663–70. doi: 10.1007/s00405-018-4972-x

40. Gooden MJ, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: A systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer* (2011) 105(1):93–103. doi: 10.1038/bjc.2011.189

41. Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer* (2004) 4(1):71–8. doi: 10.1038/nrc1256

42. Ohri CM, Shikotra A, Green RH, Waller DA, Bradding P. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype

associated with extended survival. *Eur Respir J* (2009) 33(1):118–26. doi: 10.1183/09031936.00065708

43. Jackute J, Zemaitis M, Pranys D, Sitkauskienė B, Miliauskas S, Vaitkienė S, et al. Distribution of M1 and M2 macrophages in tumor islets and stroma in relation to prognosis of non-small cell lung cancer. *BMC Immunol* (2018) 19(1):3. doi: 10.1186/s12865-018-0241-4

44. Sumitomo R, Hirai T, Fujita M, Murakami H, Otake Y, Huang CL. PD-L1 expression on tumor-infiltrating immune cells is highly associated with M2 TAM and aggressive malignant potential in patients with resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* (2019) 136:136–44. doi: 10.1016/j.lungcan.2019.08.023

45. Li Z, Wang YJ, Zhou J, Umakoshi M, Goto A. The prognostic role of M2 tumor-associated macrophages in non-Small-Cell lung cancer. *Histol Histopathol* (2022), 18474. doi: 10.14670/HH-18-474

46. Li X, Chen Z, Ni Y, Bian C, Huang J, Chen L, et al. Tumor-associated macrophages secrete exosomal miR-155 and miR-196a-5p to promote metastasis of non-Small-Cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res* (2021) 10(3):1338–54. doi: 10.21037/tlcr-20-1255

47. Troiano G, Caponio VCA, Adipietro I, Tepedino M, Santoro R, Laino L, et al. Prognostic significance of CD68+ and CD163+ tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol* (2019) 93:66–75. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.04.019

48. Lu CF, Huang CS, Tjiu JW, Chiang CP. Infiltrating macrophage count: A significant predictor for the progression and prognosis of oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *Head Neck* (2010) 32(1):18–25. doi: 10.1002/hed.21138

49. Hadler-Olsen E, Wirsing AM. Tissue-infiltrating immune cells as prognostic markers in oral squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer* (2019) 120(7):714–27. doi: 10.1038/s41416-019-0409-6

50. Naito Y, Saito K, Shiiba K, Ohuchi A, Saigenji K, Nagura H, et al. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res* (1998) 58(16):3491–4.

51. Wang T, Niu G, Kortylewski M, Burdelya L, Shain K, Zhang S, et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by stat-3 signaling in tumor cells. *Nat Med* (2004) 10(1):48–54. doi: 10.1038/nm976

52. Lund FE. Cytokine-producing b lymphocytes-key regulators of immunity. *Curr Opin Immunol* (2008) 20(3):332–8. doi: 10.1016/j.coi.2008.03.003

53. Eyrard D, Szturz P, Tijeras-Raballand A, Astorgues-Xerri L, Abitbol C, Paradis V, et al. Macrophages in the microenvironment of head and neck cancer: Potential targets for cancer therapy. *Oral Oncol* (2019) 88:29–38. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.10.040

54. Valero C, Pardo L, Sansa A, Garcia Lorenzo J, López M, Quer M, et al. Prognostic capacity of systemic inflammation response index (SIRI) in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2020) 42(2):336–43. doi: 10.1002/hed.26010

55. Smith HA, Kang Y. The metastasis-promoting roles of tumor-associated immune cells. *J Mol Med (Berl)* (2013) 91(4):411–29. doi: 10.1007/s00109-013-1021-5

56. Spector ME, Bellile E, Amlani L, Zarins K, Smith J, Brenner JC, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in head and neck squamous cell carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* (2019) 145(11):1012–9. doi: 10.1001/jamaoto.2019.2427

57. Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* (2012) 12(4):253–68. doi: 10.1038/nri3175

58. Dumitru CA, Gholaman H, Trellakis S, Bruderek K, Dominas N, Gu X, et al. Tumor-derived macrophage migration inhibitory factor modulates the biology of head and neck cancer cells via neutrophil activation. *Int J Cancer* (2011) 129(4):859–69. doi: 10.1002/ijc.25991

59. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-associated neutrophils as a new prognostic factor in cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* (2014) 9(6):e98259. doi: 10.1371/journal.pone.0098259

60. Schumacher D, Strlic B, Sivaraj KK, Wetschureck N, Offermanns S. Platelet-derived nucleotides promote tumor-cell transendothelial migration and metastasis via P2Y2 receptor. *Cancer Cell* (2013) 24(1):130–7. doi: 10.1016/j.ccr.2013.05.008

61. Huang SH, Waldron JN, Milosevic M, Shen X, Ringash J, Su J, et al. Prognostic value of pretreatment circulating neutrophils, monocytes, and lymphocytes in oropharyngeal cancer stratified by human papillomavirus status. *Cancer* (2015) 121(4):545–55. doi: 10.1002/cncr.29100:545-55

62. Stone RL, Nick AM, McNeish IA, Balkwill F, Han HD, Bottsford-Miller J, et al. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N Engl J Med* (2012) 366(7):610–8. doi: 10.1056/NEJMoa1110352

63. Menter DG, Tucker SC, Kopetz S, Sood AK, Crissman JD, Honn KV. Platelets and cancer: A casual or causal relationship: Revisited. *Cancer Metastasis Rev* (2014) 33(1):231–69. doi: 10.1007/s10555-014-9498-0
64. Mazumdar M, Glassman JR. Categorizing a prognostic variable: Review of methods, code for easy implementation and applications to decision-making about cancer treatments. *Stat Med* (2000) 19(1):113–32. doi: 10.1002/(sici)1097-0258(2000115)19:1<113::aid-sim245>3.0.co;2-o
65. Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Neutrophil-To-Lymphocyte ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2016) 38Suppl 1(Suppl 1):E1068–74. doi: 10.1002/hed.24159
66. Wong BY, Stafford ND, Green VL, Greenman J. Prognostic value of the neutrophil-to-Lymphocyte ratio in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2016) 38 Suppl 1:E1903–8. doi: 10.1002/hed.24346
67. Fang HY, Huang XY, Chien HT, Chang JT, Liao CT, Huang JJ, et al. Refining the role of preoperative c-reactive protein by Neutrophil/Lymphocyte ratio in oral cavity squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* (2013) 123(11):2690–9. doi: 10.1002/lary.24105
68. Tsai YD, Wang CP, Chen CY, Lin LW, Hwang TZ, Lu LF, et al. Pretreatment circulating monocyte count associated with poor prognosis in patients with oral cavity cancer. *Head Neck* (2014) 36(7):947–53. doi: 10.1002/hed.23400
69. Selzer E, Grah A, Heiduschka G, Kornek G, Thurnher D. Primary radiotherapy or postoperative radiotherapy in patients with head and neck cancer: Comparative analysis of inflammation-based prognostic scoring systems. *Strahlenther Onkol* (2015) 191(6):486–94. doi: 10.1007/s00066-014-0803-1
70. Turkmen K, Erdur FM, Ozcicek F, Ozcicek A, Akbas EM, Ozbicer A, et al. Platelet-To-Lymphocyte ratio better predicts inflammation than neutrophil-to-Lymphocyte ratio in end-stage renal disease patients. *Hemodial Int* (2013) 17(3):391–6. doi: 10.1111/hdi.12040
71. Shah N, Parikh V, Patel N, Patel N, Badheka A, Deshmukh A, et al. Neutrophil lymphocyte ratio significantly improves the framingham risk score in prediction of coronary heart disease mortality: Insights from the national health and nutrition examination survey-III. *Int J Cardiol* (2014) 171(3):390–7. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.12.019
72. Jiang K, Lei J, Chen W, Gong Y, Luo H, Li Z, et al. Association of the preoperative neutrophil-to-Lymphocyte and platelet-to-Lymphocyte ratios with lymph node metastasis and recurrence in patients with medullary thyroid carcinoma. *Med (Baltimore)* (2016) 95(40):e5079. doi: 10.1097/MD.0000000000005079
73. Rassouli A, Saliba J, Castano R, Hier M, Zeitouni AG. Systemic inflammatory markers as independent prognosticators of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2015) 37(1):103–10. doi: 10.1002/hed.23567
74. Turri-Zanoni M, Salzano G, Lambertoni A, Giovannardi M, Karligkiotis A, Battaglia P, et al. Prognostic value of pretreatment peripheral blood markers in paranasal sinus cancer: Neutrophil-To-Lymphocyte and platelet-to-Lymphocyte ratio. *Head Neck* (2017) 39(4):730–36. doi: 10.1002/hed.24681
75. Tham T, Wotman M, Chung C, Ahn S, Dupuis H, Gliagias V, et al. Systemic immune response in squamous cell carcinoma of the head and neck: A comparative concordance index analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2019) 276(10):2913–22. doi: 10.1007/s00405-019-05554-x:2913-2922
76. Szilasi Z, Josa V, Zrubka Z, Mezei T, Vass T, Merkel K, et al. Neutrophil-To-Lymphocyte and platelet-to-Lymphocyte ratios as prognostic markers of survival in patients with head and neck tumours—results of a retrospective multicentric study. *Int J Environ Res Public Health* (2020) 17(5):1742. doi: 10.3390/ijerph17051742
77. Kumarasamy C, Tiwary V, Sunil K, Suresh D, Shetty S, Muthukaliannan GK, et al. Prognostic utility of platelet-lymphocyte ratio, neutrophil-lymphocyte ratio and monocyte-lymphocyte ratio in head and neck cancers: A detailed PRISMA compliant systematic review and meta-analysis. *Cancers (Basel)* (2021) 13(16):4166. doi: 10.3390/cancers13164166