








# Comparación entre la evolución del cáncer de la orofaringe HPV relacionado y no relacionado. Primer estudio observacional de cohortes retrospectivo en la Argentina

## Prognosis of HPV positive and HPV negative oropharyngeal cancer. A first retrospective observational cohort study in Argentina

Mariana C. Vivani , Victoria Santa María , Gustavo Carrizo , Diego Lerner , Jorge González Calderón , Alejandro Rubino , Osvaldo González Aguilar 

Hospital de Oncología  
María Curie. Buenos  
Aires. Argentina

### RESUMEN

**Antecedentes:** el carcinoma escamoso de orofaringe (CEO) ha aumentado su incidencia, particularmente el relacionado con el virus del papiloma humano (HPV) (+). Estos pacientes tienen mejor pronóstico que los HPV (-).

**Objetivo:** comparar las características demográficas, terapéuticas y evolutivas de pacientes tratados por CEO HPV (+) versus HPV (-).

**Materiales y métodos:** estudio observacional de cohortes retrospectivo. Se recolectaron los datos demográficos, clínicos, terapéuticos y seguimiento de los pacientes tratados por CEO entre enero de 2019 y diciembre de 2021. Se utilizaron los registros informáticos de los Servicios de Anatomía Patológica, Cirugía de Cabeza y Cuello y del Archivo General de Historias clínicas.

**Resultados:** se identificaron 45 pacientes, 28 HPV (+) y 17 HPV (-). La localización más frecuente fue la amígdala, 33 casos (73%). Esta ubicación fue significativamente más frecuente en los casos HPV (+) que en los HPV (-): 24 (85,7%) versus 9 (52,9%) ( $p = 0,04$ ). Los casos HPV (+) que recibieron solo tratamiento con radioterapia (24) fue mayor que los HPV (-) (8) ( $p = 0,01$ ). Los casos HPV (-) recibieron más frecuentemente quimioterapia concurrente (41,2) ( $p = 0,00$ ). Los estadios más frecuentes fueron I y III para los HPV (+), sin pacientes en estadio IV, mientras que para en los HPV (-) hubo 10 pacientes en estadio IV.

**Conclusión:** la mayoría de los pacientes con CEO fueron HPV (+) y su localización más frecuente estuvo en la amígdala; se encontraron estadios más avanzados en casos HPV (-). Esto confirma la tendencia encontrada en estudios extranjeros.

■ **Palabras clave:** orofaringe, cáncer HPV relacionado, tratamiento del cáncer de orofaringe.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.  
*Conflicts of interest*  
None declared.

Correspondencia  
Correspondence:  
Mariana Vivani  
E-mail:  
mariana\_vivani@  
hotmail.com

### ABSTRACT

**Background:** The incidence of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) has increased, particularly the one associated with human papillomavirus (HPV+). These patients have better prognosis than those with HPV- OPSCC.

**Objective:** The aim of this study was to compare the demographic and therapeutic characteristics and outcome of a series of patients treated for HPV+ versus HPV- OPSCC.

**Material and methods:** We conducted a retrospective and observational cohort study using demographic, clinical, therapeutic and follow-up data collected from OPSCC patients treated between January 2019 and December 2021. The data were retrieved from the electronic medical records of the Department of Pathological Anatomy, from the general archive of medical records and from the database of the Department of Head and Neck Surgery.

**Results:** A total of 45 patients were identified, 28 with HPV+ and 17 with HPV- OPSCC. The most common tumor location was the tonsil in 33 cases (73%) and was significantly more common in HPV+ cases ( $n = 24$ ; 85.7%) versus HPV- cases ( $n = 9$ ; 52.9%;  $p = 0.04$ ). The proportion of HPV+ cases treated with radiation therapy alone was higher than that of HPV- patients, (24 versus 8;  $p = 0.01$ ). Concurrent chemotherapy was more common in HPV- patients (41.2;  $p = 0.00$ ). The most common stages in HPV+ patients were I and III, with no patients in stage IV, while 10 HPV- patients were in stage IV.

**Conclusion:** Most patients with OPSCC were HPV+ and the tonsil was the most common location; HPV- patients had more advanced disease. This confirms the trend found in international studies.

■ **Keywords:** oropharynx, HPV related cancer, oropharynx cancer treatment.

Recibido | Received  
28-05-24  
Aceptado | Accepted  
19-08-24

ID ORCID: Mariana C. Vivani 0000-0001-7451-6710, Victoria Santa María 0000-0003-3910-8601, Gustavo Carrizo 0009-0004-2964-1706, Diego Lerner 0000-0001-7937-8572, Jorge González Calderón 0000-0002-0984-2541, Alejandro Rubino 0000-0001-5961-8090, Osvaldo González Aguilar 0000-0003-0470-7188

## Introducción

El carcinoma escamoso de cabeza y cuello es la 6ª neoplasia más común, con 500 000 casos y 300 000 muertes anuales; 85 000 (17%) se originan en la orofaringe. El carcinoma escamoso de orofaringe (CEO) HPV (+) tiene una de las tasas de mayor crecimiento: 33%<sup>1</sup>.

El CEO asienta en el área de la faringe que se encuentra posterior a la cavidad oral, comprende base de lengua, complejo amigdalino, pared posterior y paladar blando<sup>2</sup>.

Tradicionalmente, los factores de riesgo asociados al cáncer de orofaringe eran el tabaco y alcohol en más del 70% de los casos. Esta patología se encontraba principalmente en personas mayores de 45 años. Sin embargo, diversos estudios llevados a cabo en Europa occidental y Estados Unidos<sup>3</sup> sugieren un aumento de la incidencia de la enfermedad en personas menores de 45 años en los últimos 20 a 30 años. Este aumento en la incidencia se atribuye en gran medida al aumento de las infecciones por el virus del papiloma humano. Los pacientes con diagnóstico CEO HPV (+) presentan mejor pronóstico y mejores resultados terapéuticos.

La agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) en el año 2007 declaró que el HPV es un factor de riesgo de CEO<sup>1</sup>. A partir de entonces se puede decir que existen dos entidades diferentes con fisiopatología y tratamiento por separado, CEO HPV (+) y HPV (-)<sup>4</sup>. En 2018, la clasificación de TNM de cabeza y cuello de la 8ª edición sufrió cambios que influyeron en el CEO HPV (+) y (-). Estos cambios representan una mejor comprensión de la biología del tumor y el comportamiento clínico, y mejores resultados asociados al diagnóstico y tratamiento.<sup>5-8</sup>

El objetivo del presente trabajo fue comparar las características demográficas, terapéuticas y evolutivas de una serie de pacientes tratados por CEO HPV (+) y HPV (-).

## Material y métodos

Se realizó un estudio observacional de cohortes retrospectivo en el que se recolectaron los datos de los pacientes atendidos por CEO entre enero de 2019 y diciembre de 2021. Se utilizaron los registros informáticos del Servicio de Anatomía Patológica, del Archivo General de Historias clínicas y de la base de datos del Servicio de Cirugía de Cabeza y Cuello del hospital María Curie.

Los criterios de inclusión fueron pacientes con diagnóstico de carcinoma escamoso de orofaringe (base de lengua, amígdala, paladar blando y pared posterior) HPV (+) y (-), ya fueran tumores primarios, segundos primarios o recidivas.

Los criterios de exclusión fueron: menores de 18 años, tumores localizados fuera de la zona en estudio,

mal agrupados por localización de la enfermedad en la base de datos, imposibilidad de acceder a los datos clínicos, y casos sin reserva de material histológico para la detección de HPV (en los casos en los que no se realizó la determinación en el momento del diagnóstico).

El seguimiento fue relevado del registro en las historias clínicas. En los casos en los que la fecha de último control era mayor de 3 meses se intentó contactarlos por vía telefónica. Para aquellos en los que resultó imposible obtener una fecha de control inferior a 3 meses se registró la fecha de la última consulta.

Se registraron los datos filiatorios y comorbilidades de los pacientes (tabaquismo, enolismo, infección por el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), la localización del tumor categorizada en 4 regiones (base de lengua, área amigdalina, pared posterior y paladar blando), estadio tumoral, características del tratamiento (quimioterapia, radioterapia, cirugías, abandono del tratamiento) y el grado de diferenciación histológica.

La presencia del HPV se realizó mediante la detección de P16 por inmunohistoquímica. Según normas internacionales<sup>9</sup> para considerar al CEO HPV relacionado, se deben observar más de 70% de los núcleos citoplasmas positivos. En los casos en los que la detección no se efectuó al momento del diagnóstico, se realizó sobre el material conservado en el Servicio de Patología (Fig. 1).

En aquellos casos en los que el diagnóstico se logró mediante punción-aspiración con aguja fina no fue posible realizar la detección.

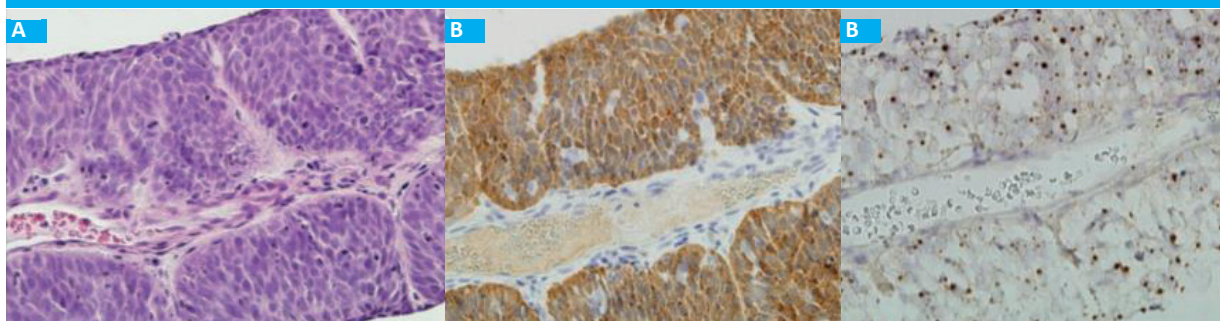
Se utilizó para el análisis el programa estadístico R10<sup>®</sup>. Para describir los datos se utilizaron la media y desvío estándar cuando las variables continuas siguieron una distribución normal; de lo contrario se emplearon la mediana y rango. Los datos categóricos fueron resumidos mediante su porcentaje y frecuencia absoluta. Para las comparaciones univariadas de los datos continuos se utilizó la prueba t dado que la variable presentó una distribución normal y las varianzas entre grupos fueron similares. Para la comparación de los datos categóricos se utilizó la prueba de chi cuadrado, y cuando no se cumplieron los supuestos ( $n \cdot P > = 5$  y  $n[1-p] > = 5$ ) se utilizó la prueba de Fisher. Para el análisis multivariado se realizó regresión logística. El nivel de significación se estableció en  $\alpha = 0,05$  y se tomaron intervalos de confianza del 95%.

## Resultados

Sobre 80 pacientes atendidos, cumplieron los criterios mencionados 45 y constituyen la población del presente estudio.

La distribución de las características demográficas encontradas por grupo HPV (+) y HPV (-) se encuentra en la tabla 1.

■ FIGURA 1



A: Tiras de carcinoma de células escamosas no queratinizado metastásico aspirado de una masa quística en el cuello. B: Tinción con hematoxilina y eosina. La presencia de HPV se visualiza como una fuerte tinción citoplasmática y nuclear para P16 por inmunohistoquímica y C: como señales de hibridación en forma de puntos dentro de los núcleos de las células tumorales por hibridación in situ de VPH<sup>10</sup>.

■ TABLA 1

Características demográficas de pacientes con CEO HPV (+) y HPV (-)

	HPV (+) n = 28	HPV (-) n = 17	p
Tabaquismo [n (%)]	17 (60,7)	11 (64,7)	1*
Alcoholismo [n (%)]	2 (7,1)	5 (29,4)	0,11**
HIV [n (%)]	3 (10,7)	1 (5,9)	1**
Sexo masculino [n (%)]	24 (85,7)	16 (94,1)	0,7*
Edad [media (DE)]	57,2(7,5)	57,3(11,7)	0,5***

DE: desvío estándar; \* prueba de chi cuadrado; \*\* prueba de Fisher; \*\*\* prueba de la t de Student

La localización más frecuente para ambas patologías fue la amígdala en 33 casos (73%). La distribución de las localizaciones tumorales por grupos se detalla en la tabla 2.

Los resultados anatomopatológicos no mostraron diferencias entre los grupos analizados, mientras que se registraron estadios tumorales más avanzados en aquellos con CEO HPV (-), como se detalla en la tabla 3.

Los tratamientos empleados se detallan en la tabla 4. Se encontró que la proporción de casos HPV (+) que recibieron tratamiento con radioterapia sola fue superior a la de los HPV (-), y los pacientes HPV (-) recibieron más frecuentemente quimioterapia concurrente. No se registraron pacientes con vaciamientos selectivos. Tampoco se encontraron diferencias en la proporción de pacientes que recibieron tratamiento quirúrgico (tanto resección del tumor como vaciamiento radical).

Al analizar las variables en forma multivariada no se detectaron diferencias en las variables entre ambos grupos diagnósticos.

Si bien no se pudo realizar análisis de sobrevida debido a la pérdida de datos sesgada por los óbitos, en el grupo HPV hubo un fallecido de 58 años, fumador, alcoholista, localizado en base de lengua, con diagnóstico de cáncer escamoso pobremente diferenciado HPV (+) en estadio 4 inicial, que realizó radioterapia y abandonó el tratamiento. En el grupo HPV (-), hubo 3 fallecidos: el primero, un hombre de 48 años fumador, localizado en úvula con diagnóstico de cáncer escamoso pobremente diferenciado, estadio 4 inicial (T2N2M0), que realizó tratamiento con quimioterapia, radioterapia y vaciamiento radical, y falleció a los 2 años del diagnóstico. El segundo, un paciente de 54 años, localizado en amígdala, inicialmente estadio 3(T3N0M0) que falleció el mismo año del diagnóstico y el último un paciente de 59 años, alcoholista y tabaquista, localizado en pared posterior de orofaringe, estadificación inicial T4N0M0, recibió tratamiento con quimioterapia y radioterapia y falleció a los dos meses del diagnóstico.

En el grupo HPV (+) no se observaron recaídas; en el grupo HPV (-) un paciente presentó recidiva tumoral con diagnóstico de CEO pobremente diferenciado que recibió tratamiento con radioterapia.

■ TABLA 2

Localizaciones tumorales en pacientes con CEO HPV (+) y HPV (-).

Localización tumoral n (%)	HPV (+) n = 28	HPV (-) n = 17	p
Amígdala	24 (85,7)	9 (52,9)	0,04*
Base de lengua	3 (10,7)	4 (23,5)	0,46**
Úvula	0 (0)	2 (11,8)	0,26**
Paladar blando	1 (3,6)	0 (0)	1**
Pared posterior	0(0)	2 (11,8)	0,26**

\* Prueba de chi cuadrado; \*\* prueba de Fisher.

■ TABLA 3

Tipos histológicos y estadios tumorales de pacientes HPV (+) y HPV (-).

Tipos histológicos n (%)	HPV (+) n = 28	HPV (-) n = 17	p
No queratinizante	2 (7,1)	1 (5,9)	1**
Pobrememente diferenciado	17 (60,7)	9 (52,9)	0,84*
Moderadamente diferenciado	7 (25)	4 (23,5)	1**
Bien diferenciado	2 (7,1)	1 (5,9)	1**
Estadios tumorales n (%)			
I	9 (32,1)	3 (17,6)	0,49**
II	9 (32,1)	2 (11,8)	0,16**
III	10 (35,7)	2 (11,8)	0,10**
IVa	0(0)	8 (47)	0,0001**
IVb	0(0)	1 (5,9)	0,38**
IVc	0(0)	1 (5,9)	0,38**

\* Prueba de chi cuadrado; \*\* prueba de Fisher.

■ TABLA 4

Tratamientos realizados a pacientes con CEO HPV (+) y HPV (-)

Tratamientos	HPV (+) n = 28	HPV (-) n = 17	p
Radioterapia [n (%)]	24 (85,7)	8 (47,1)	0,01*
Quimioterapia y radioterapia [n (%)]	1 (3,6)	7 (41,2)	0,00**
Cirugía [n (%)]	6 (21,42)	2 (11,8)	0,68**
Vaciamiento de cuello [n (%)]	7 (25)	1 (5,9)	0,22**

\* Prueba de chi cuadrado; \*\* prueba de Fisher.

## Discusión

La histología de los diferentes subsitios anatómicos del CEO es heterogénea. El paladar, los pilares y la úvula están cubiertos por un epitelio escamoso estratificado sin capa de queratina. Sin embargo, en las amígdalas y la base de la lengua, el epitelio se invagina y forma "criptas" revestidas por un epitelio reticulado, en las que la lámina basal es discontinua y el borde histológico entre el epitelio y el estroma linfoide subyacente es indistinto ("tejido linfoepitelial"), aumentando la superficie epitelial 700% y permitiendo el desarrollo del tumor primario en la profundidad de la amígdala<sup>4</sup>. Existe evidencia que demuestra que los carcinomas relacionados con el virus del papiloma (HPV) se desarrollan dentro de estas criptas, mientras que los carcinomas HPV (-) emergen principalmente del epitelio superficial<sup>2,4</sup>.

Comprender la incidencia de positividad para HPV en los diferentes subsitios del CEO y en las diferentes poblaciones y sexo es fundamental para clasificar correctamente esta neoplasia, y determinar su evolución a largo plazo.

En la serie aquí presentada se observa que, más de la mitad eran HPV (+) (57%), y la localización más frecuente la amígdala. Según la literatura<sup>9</sup>, la mayor proporción de CEO en la actualidad son HPV (+), confirmando así la preocupante epidemia del HPV en la orofaringe en el ámbito mundial<sup>3,11</sup>. Tanto en HPV (+) como HPV (-) se observó una mayor prevalencia en el sexo masculino, como informan otros estudios<sup>3</sup>. Acorde con la bibliografía<sup>8</sup>, la localización más frecuente para ambos grupos fue la amígdala.

El tabaco y el alcohol han sido reconocidos durante muchos años como los agentes etiológicos más relevantes del CEO. Sin embargo, actualmente se considera la infección por HPV como uno de los principales factores predisponentes para el desarrollo de CEO<sup>11,12</sup>. Recientemente se informó que, después de combinar dos estudios con datos de serología de HPV16(+) y el consumo del tabaco, fumar se asoció con mayor riesgo de CEO independientemente del estado de HPV<sup>13</sup>.

El informe presentado reveló que, de los HPV (+), el 60% de los pacientes eran fumador y, de los HPV (-), el 64%, aunque no fue posible analizar dicha asociación. Todos los estudios demostraron que el efecto de fumar se asocia a un mayor riesgo de muerte y aumenta la tendencia de recurrencia local y regional<sup>12</sup>.

Con respecto al tratamiento, el 85% de los pacientes HPV (+) fue diagnosticado en estadios I, II y III; en estos casos se aplicó radioterapia con quimioterapia concomitante o sin ella según el estadio ganglionar. La bibliografía refiere que, en pacientes con CEO HPV (+), la infiltración de los ganglios linfáticos es la principal indicación de quimioterapia concomitante aun en los menos avanzados de la enfermedad, dado que mejora el pronóstico a largo plazo<sup>14</sup>. Como tal, se recomienda precaución al eliminar la quimioterapia concomitante en protocolos de desintensificación que incluyan pacientes con enfermedad en ganglios linfáticos positivos.

Las tasas de infección por HPV continúan aumentando, y la evidencia de que los CEO HPV (+) se convertirán en una prioridad importante en el futuro es convincente<sup>15</sup>. Este estudio mostró que el CEO HPV (+) ha aumentado notoriamente y que resulta crucial la detección del virus del HPV en este tipo de tumores dado que el pronóstico y el tratamiento difieren de los del HPV (-). Aunque la vacunación tiene el potencial de revertir la tendencia de la incidencia, las tasas de vacunación contra el HPV en el mundo siguen siendo bajas y la latencia prolongada del virus hace difícil evaluar el real impacto preventivo de la inmunización con el HPV<sup>16,17</sup>.

Como todo trabajo, el presente tiene debilidades y fortalezas. Entre las primeras se halla su interpretación, dado que la detección de HPV fue realizada en forma indirecta mediante la medición de P16 por inmunohistoquímica. Por otro lado, el tamaño de la muestra, y la pérdida de datos sesgada por los óbitos que no permitió analizar la sobrevivencia. Sin embargo, el estudio tuvo como fortaleza la capacidad de realizar la detección en forma retrospectiva del HPV, el seguimiento estricto y

sistematizado de los pacientes desde el momento del diagnóstico y por ser el primer trabajo en la Argentina que se refiere al tema, realizado íntegramente en un Hospital Público monovalente, por un mismo equipo y en forma multidisciplinaria.

Una infección oral persistente por HPV se considera un factor de riesgo para la transformación maligna y el desarrollo de CEO HPV (+), y sigue siendo un tumor con un pronóstico relativamente bueno, lo que se refleja en la reducción de la estadificación de los estadios TNM correspondientes en comparación con sus contrapartes de HPV (-) en la nueva estadificación de la 8ª edición del *American Joint Committee Cancer Staging Manual*, de 2017<sup>18</sup>.

En conclusión, los pacientes con CEO HPV (+) se encontraron en mayor número que los HPV (-), con una mayor tendencia a localizarse en la amígdala, en

estadios más tempranos, y pudieron ser tratados en más oportunidades con cirugía. Aunque estas diferencias no alcanzan significación estadística por el reducido tamaño de la muestra, coinciden con las mismas características que las de estudios extranjeros más numerosos.

Es necesario realizar más investigaciones sobre los distintos abordajes terapéuticos según la etiología tumoral, la necesidad de hacer diagnóstico etiológico previo al tratamiento y el impacto de la vacunación obligatoria contra el HPV en la prevalencia de la enfermedad.

*Agradecimientos: se agradece la desinteresada colaboración de la Dra. Gabriela Marcerveli, médica oncóloga.*

## ■ ENGLISH VERSION

### Introduction

Squamous cell carcinoma of the head and neck is the sixth most common neoplasm with 500,000 cases and 300,000 deaths per year; 85,000 (17%) of these cases originate in the oropharynx. Human papillomavirus-related (HPV+) oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) has one of the most rapidly increasing incidences: 33%<sup>1</sup>.

Oropharyngeal SCCs comprise tumors of the pharynx area at the back of the oral cavity, which includes the base of the tongue, tonsillar complex, the posterior pharyngeal wall and soft palate<sup>2</sup>.

Traditionally, the risk factors associated with oropharyngeal cancer were tobacco and alcohol in more than 70% of cases. This condition was mainly observed in patients > 45 years. However, over the past 20 to 30 years, several studies in Western Europe and the United States<sup>3</sup> have suggested an increase in the incidence of the disease in people < 45 years. This higher incidence has been attributed mainly to the increase in human papillomavirus infections. Patients with a diagnosis of HPV+ OPSCC have better outcome and therapeutic results.

In 2007, the International Agency for Research on Cancer (IARC) declared HPV to be a risk factor for OPSCC<sup>1</sup>. Since then, HPV+ OPSCC is thought to be a separate clinical entity compared to HPV- OPSCC<sup>4</sup>. In 2018, the 8<sup>th</sup> edition of the TNM staging system for head and neck cancer made significant changes to the staging of HPV+ and HPV- OPSCC. These changes represent a better understanding of tumor biology and clinical progression, and improved outcomes associated with diagnosis and treatment<sup>5-8</sup>.

The aim of this study was to compare the

demographic and therapeutic characteristics and outcome of a series of patients treated for HPV+ and HPV- OPSCC.

### Material and methods

We conducted a retrospective and observational cohort study using data collected from OPSCC patients treated between January 2019 and December 2021. Data were retrieved from the electronic medical records of the Department of Pathological Anatomy, from the general archive of medical records and from the database of the Department of Head and Neck Surgery of Hospital Maria Curie.

Patients diagnosed with HPV+ and HPV- oropharyngeal squamous cell carcinoma (base of tongue, tonsil, soft palate and posterior wall), either primary tumors, second primary tumors or recurrences were included in the study.

Patients < 18 years were excluded. Other exclusion criteria included tumors located outside the study area, poorly grouped by site in the database, inability to access clinical data, and cases without histologic material preserved for HPV detection (if the detection of HPV was not performed at the time of diagnosis).

Follow-up data were obtained from the medical records. If the most recent follow-up visit had taken place more than 3 months before, an attempt was made to contact the patient by telephone. If the previous visit occurred within the previous 3 months, the date of that visit was considered.

The following data were recorded: patient's affiliation and comorbidities [smoking habits,

alcoholism, human immunodeficiency virus (HIV) infection], tumor location categorized into 4 regions (base of tongue, tonsillar area, posterior wall and soft palate), tumor stage, type of treatment (chemotherapy, radiation therapy, surgery, treatment discontinuation) and the degree of histologic differentiation.

The presence of HPV was detected by p16 immunohistochemistry. International standards<sup>9</sup> suggest that HPV+ OPSCC should be considered when more than 70% of tumor cells have strong p16 staining in the nuclei and cytoplasm. In those cases in which HPV was not detected at the time of diagnosis, immunohistochemistry staining was performed using material preserved in the Department of Pathological Anatomy (Fig. 1).

In those cases in which the diagnosis was achieved by fine needle aspiration, HPV detection was not possible.

All the statistical calculations were performed using R10<sup>®</sup> software package. Continuous variables with normal distribution were expressed as mean and standard deviation; median and range were used for variables with non-normal distribution. Categorical data were expressed as percentage and absolute frequency. Univariate comparisons of continuous data were made using the t-test, since the variable presented a normal distribution and the variances between groups were similar. Categorical data were compared using the chi-square test, and when the assumptions were not met ( $n \cdot P > 5$  and  $n[1-p] > 5$ ), Fisher's test was used. Multivariate analysis was performed using logistic regression. Differences were considered significant when the p value was  $< 0.05$  with a 95% confidence interval.

## Results

Of a total of 80 patients evaluated, 45 met the inclusion criteria and constitute the study population.

The demographic and clinical characteristics of

the HPV+ and HPV- groups are summarized in Table 1.

The tonsil was the most common location of both types of OPSCC, with 33 cases (73%). The different tumor locations are detailed in Table 2.

The pathological results showed no differences between the groups analyzed; however, tumor stages were more advanced in HPV- OPSCC patients (Table 3).

The treatments used are detailed in Table 4. The proportion of HPV+ cases treated with radiation therapy alone was higher than that of HPV- patients, and HPV- patients more frequently received concurrent chemotherapy. None of the patients underwent selective dissections. Also, there were no differences in the proportion of patients who received surgical treatment (both tumor resection and radical dissection).

Multivariate analysis did not reveal any differences between both diagnostic groups.

Although we could not perform survival analysis due to loss of data biased by deaths, a 58-year-old patient with a history of tobacco use and alcoholism died in the HPV+ group. The patient was diagnosed with poorly differentiated HPV-associated SCC, stage 4 at initial presentation, had received radiation therapy, and discontinued treatment. Three deaths occurred in the HPV- group. A 48-year-old smoker man with a poorly differentiated SCC, stage 4 at initial presentation (T2N2M0), who was treated with chemotherapy, radiation therapy and radical dissection, died 2 years after diagnosis. The other patient was a 54-year-old male, with a stage 3 tonsil cancer (T3N0M0) at the time of initial presentation, who died the same year of diagnosis. Finally, a 59-year-old male patient, with a history of alcoholism and tobacco use, and a SCC located in the posterior wall of the oropharynx, stage 4 at initial presentation (T4N0M0) was treated with chemotherapy and radiation therapy and died two months after diagnosis.

There were no recurrences in the HPV+ group, while one patient in the HPV-group presented tumor recurrence with a diagnosis of poorly differentiated OPSCC who was treated with radiation therapy.

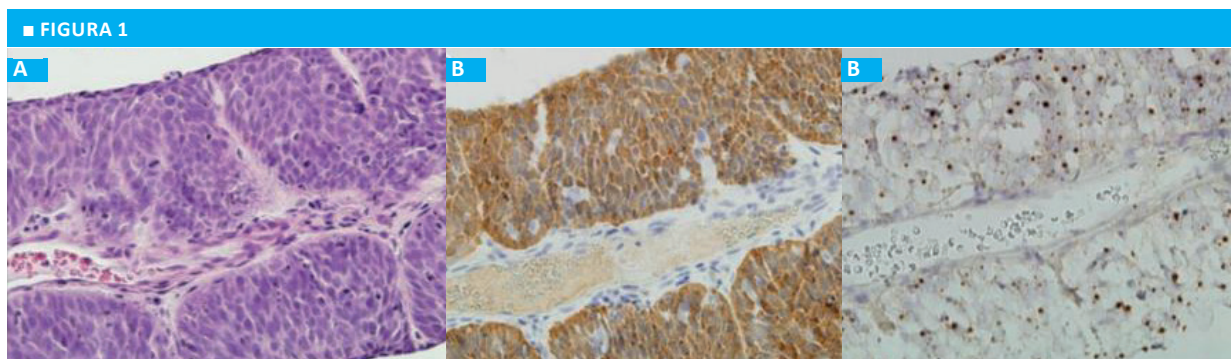


Figure 1. Strips of metastatic non-keratinizing squamous cell carcinoma aspirated from a cystic mass in the neck (A). Section stained with hematoxylin and eosin. The presence of HPV is visualized as strong p16 staining in the cytoplasm and nuclei by immunohistochemistry (B) and as dot-like signals in tumor cell nuclei by in situ hybridization (C)<sup>10</sup>.

■ TABLE 1

Demographic characteristics of the patients with HPV+ and HPV- OPSCC

	HPV+ n = 28	HPV- n = 17	p
Tobacco use [n (%)]	17 (60.7)	11 (64.7)	1*
Alcoholism [n (%)]	2 (7.1)	5(29.4)	0.11**
HIV infection [n (%)]	3 (10.7)	1 (5.9)	1**
Male sex [n (%)]	24 (85.7)	16 (94.1)	0.7*
Age [Mean (SD)]	57.2 (7.5)	57.3 (11.7)	0.5***

SD: standard deviation; \*chi-square test; \*\* Fisher's test; \*\*\* Student's t test

■ TABLE 2

Tumor locations in patients with HPV+ and HPV- OPSCC

Tumor location n (%)	HPV+ n = 28	HPV- n = 17	p
Tonsil	24 (85.7)	9 (52.9)	0.04*
Base of the tongue	3 (10.7)	4 (23.5)	0.46**
Uvula	0 (0)	2 (11.8)	0.26**
Soft palate	1 (3.6)	0 (0)	1**
Posterior wall	0 (0)	2 (11.8)	0.26**

\* Chi-square test; \*\* Fisher's test.

■ TABLE 3

Histological types and tumor stages in HPV+ and HPV- patients

Histological types n (%)	HPV+ n = 28	HPV- n = 17	p
Non-keratinizing	2 (7.1)	1(5.9)	1**
Poorly differentiated	17 (60.7)	9 (52.9)	0.84*
Moderately differentiated	7 (25)	4 (23.5)	1**
Well differentiated	2 (7.1)	1 (5.9)	1**
Tumor stages n (%)			
I	9 (32.1)	3 (17.6)	0.49**
II	9 (32.1)	2 (11.8)	0.16**
III	10 (35.7)	2 (11.8)	0.10**
IVa	0(0)	8 (47)	0.0001**
IVb	0(0)	1 (5.9)	0.38**
IVc	0(0)	1 (5.9)	0.38**

\* Chi-square test; \*\* Fisher's test.

■ TABLE 4

Treatments performed on patients with HPV+ and HPV- OPSCC

Treatments	HPV+ n = 28	HPV- n = 17	p
Radiation therapy [n (%)]	24 (85.7)	8 (47.1)	0.01*
Chemotherapy and radiation therapy [n (%)]	1 (3.6)	7 (41.2)	0.00**
Surgery [n (%)]	6 (21.42)	2 (11.8)	0.68**
Neck dissection [n (%)]	7 (25)	1 (5.9)	0.22**

\* Chi-square test; \*\* Fisher's test.

## Discussion

The histology of the different anatomic subsites of OPSCC is heterogeneous. The palate, pillars and uvula are covered by non-keratinized, stratified squamous epithelium. Yet, the tongue base and the tonsillar mucosa invaginate and form “crypts” lined with reticulated epithelium, in which the basal lamina is discontinuous and the histological border between the epithelium and the underlying lymphoid stroma is indistinct (“lymphoepithelial tissue”). Tonsillar crypts increase the epithelial surface area by 700% and allow for the development of a primary tumor deep within the tonsil<sup>4</sup>. There is evidence that HPV-associated carcinomas develop within these crypts, whereas HPV- carcinomas emerge mainly from the superficial epithelium<sup>2,4</sup>.

Understanding the incidence of HPV positivity in the different subsites of the OPSSC and in different populations and sexes is essential for the accurate classification of this neoplasm and for the determination of its long-term outcome.

In the series presented here, more than half of the cases were HPV+ (57%), and the most common site was the tonsil. According to the literature<sup>9</sup>, the highest proportion of OPSCCs are currently HPV+, thus confirming the alarming worldwide epidemic of HPV in the oropharynx<sup>3,11</sup>. Both HPV+ and HPV- OPSCCs were more prevalent in males, as reported in other studies<sup>3</sup>. In agreement with the literature, the tonsil was the most common location of both groups of OPSSC.

Tobacco use and alcohol intake have long been identified as the most significant etiologic agents of OPSSC. However, HPV infection is currently considered as one of the main predisposing factors for the development of OPSSC<sup>11,12</sup>. A recent publication reported after pooling two studies with HPV16 serology data that smoking was consistently associated with increased risk of OPSCC regardless of HPV status<sup>13</sup>.

The report presented revealed that 60% of the patients in the HPV+ group and 64% in the HPV- group were smokers, although it was not possible to analyze this association. All studies showed that smoking is associated with an increased risk of death and increases the tendency of local and regional recurrence<sup>12</sup>.

Regarding treatment, 85% of HPV+ patients were diagnosed at stages I, II and III; in these cases, radiation therapy with or without concomitant chemotherapy was implemented depending on lymph node stage. The literature reports that, in patients with HPV+ OPSSC, lymph node infiltration is the primary indication for concomitant chemotherapy even in less advanced disease because it improves the long-term prognosis<sup>14</sup>. Consequently, caution should be exercised when omitting concomitant chemotherapy in de-intensification protocols for patients with lymph node-positive disease.

The prevalence of HPV infection continues to increase, and the evidence that HPV+ OPSCCs

will become a significant priority in the future is compelling<sup>15</sup>. This study showed that the HPV+ OPSSC has significantly increased and that the detection of HPV virus in this type of tumors is crucial, as the prognosis and treatment differ from those of HPV- tumors. Although vaccination has the potential to reverse the incidence trend, HPV vaccination rates remain low worldwide, and the long latency of the virus poses challenges in assessing the true preventive impact of HPV vaccination<sup>16,17</sup>.

As with all studies, this one has both weaknesses and strengths. First, HPV was detected indirectly by measuring p16 by immunohistochemistry. Second, survival analysis was not possible due to sample size and loss of data biased by deaths. However, the strength of the study was the ability to detect HPV retrospectively, the rigorous and systematic follow-up of patients from the time of diagnosis, and the fact that it was the first study on the subject in Argentina and was carried out entirely in a specialized public hospital, by the same team and in a multidisciplinary manner.

A persistent oral HPV infection is regarded

as a risk factor for malignant transformation and the development of HPV+ OPSCC, and it remains a tumor with a relatively favorable prognosis. This is evidenced by the lower clinical stage of the TNM classification system compared to that of HPV-OPSCC in the new staging system of the 2017 American Joint Committee on Cancer, 8<sup>th</sup> edition<sup>18</sup>.

In conclusion, a higher number of patients were identified with HPV+ OPSCC in comparison to HPV- tumors, with a greater tendency to manifest at earlier stages and to be more often treated with surgery. Although these differences were not statistically significant due to the small sample size, they are similar to those found in larger international studies.

Further research is necessary to determine the most effective therapeutic approaches according to tumor etiology, the necessity of etiologic diagnosis prior to treatment, and the impact of mandatory HPV vaccination on disease prevalence.

*Acknowledgments: We would like to express our gratitude to Dr. Gabriela Marcerveli, oncologist, for her selfless collaboration.*

## Referencias bibliográficas /References

- Seijas-Tamayo R, Fernández-Mateos J, Adansa Klain JC, Mesía R, Pastor Borgoñón M, Pérez-Ruiz E, et al. Epidemiological characteristics of a Spanish cohort of patients diagnosed with squamous cell carcinoma of head and neck: distribution of risk factors by tumor location. Clin Transl Oncol [Internet]. 2016 ;18(11):1114-22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12094-016-1493-1>
- Dalianis T. Human papillomavirus (HPV) and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Presse Med [Internet]. 2014;43(12):e429-34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jlpm.2014.08.010>
- Lehtinen T, Elfström KM, Mäkitie A, Nygård M, Vänskä S, Pawlita M, et al. Elimination of HPV-associated oropharyngeal cancers in Nordic countries. Prev Med [Internet]. 2021;144:106445. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2021.106445>
- Sheedy T, Heaton C. HPV-associated oropharyngeal cancer. JA-APA [Internet]. 2019;32(9):26-31. Available from <http://dx.doi.org/10.1097/O1.jaa.0000578756.52642.cb>
- Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. Lancet Oncol [Internet]. 2010;11(8):781-9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70017-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70017-6)
- Lechner M, Liu J, Masterson L, Fenton TR. HPV-associated oropharyngeal cancer: epidemiology, molecular biology and clinical management. Nat Rev Clin Oncol [Internet]. 2022;19(5):306-27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41571-022-00603-7>
- Sood A, Wykes J, Roshan D, Wang LY, McGuinness J, Fowler A, et al. A critical analysis of the prognostic performance of the 8th edition American Joint Committee on Cancer staging for metastatic cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck. Head Neck [Internet]. 2019;41(6):1591-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/hed.25599>
- Haeggbloom L, Ramqvist T, Tommasino M, Dalianis T, Näsman A. Time to change perspectives on HPV in oropharyngeal cancer. A systematic review of HPV prevalence per oropharyngeal sub-site the last 3 years. Papillomavirus Res [Internet]. 2017;4:1-11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pvr.2017.05.002>
- Carlander AF, Jakobsen KK, Bendtsen SK, Garset-Zamani M, Lynggaard CD, Jensen JS, et al. A contemporary systematic review on report of HPV-positivity in oropharyngeal cancer worldwide. Viruses [Internet]. 2021;9;13(7):1326. Available from: <tp://dx.doi.org/10.3390/v13071326>
- R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2020. Available from: <https://www.R-project.org/>
- Tanaka TI, Alawi F. Human Papillomavirus and oropharyngeal cancer. Dent Clin North Am [Internet]. 2018 ;62(1):111–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2017.08.008>
- Ference R, Liao D, Gao Q, Mehta V. Impact of smoking on survival outcomes in HPV-related oropharyngeal carcinoma: A meta-analysis. Otolaryngol Head Neck Surg [Internet]. 2020 ;163(6):1114-22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/0194599820931803>
- Taberna M, Mena M, Pavón MA, Alemany L, Gillison ML, Mesía R. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. Ann Oncol [Internet]. 2017 ;28(10):2386-98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdx304>
- Yoshida EJ, Luu M, Mallen-St Clair J, Mita AC, Scher KS, Lu DJ, et al. Stage I HPV-positive oropharyngeal cancer: Should all patients receive similar treatments? Cancer [Internet]. 2020 ;126(1):58-66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.32501>
- De Virgilio A, Costantino A, Mercante G, Pellini R, Ferrelli F, Malvezzi L, et al. Transoral robotic surgery and intensity-modulated radiotherapy in the treatment of the oropharyngeal carcinoma: a systematic review and meta-analysis. Eur Arch Otorhinolaryngol [Internet]. 2021 ;278(5):1321-35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00405-020-06224-z>
- De Felice F, Polimeni A, Tombolini V. Human papillomavirus (HPV) vaccine and HPV-related head and neck cancer: What's next? Oral Oncol [Internet]. 2019;93:125-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.04.001>
- Du J, Åhrlund-Richter A, Näsman A, Dalianis T. Human papilloma virus (HPV) prevalence upon HPV vaccination in Swedish youth: a review based on our findings 2008-2018, and perspectives on cancer prevention. Arch Gynecol Obstet [Internet]. 2021;303(2):329-35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/>
- American Joint Committee on Cancer Staging Manual. 8th Edition. Chicago: Springer; 2017.