



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
UMAE HOSPITAL DE ONCOLOGÍA**



TESIS

**ENMIENDA VALIDACIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS AL DESARROLLO Y
PRONÓSTICO DE NEOPLASIAS ATRIBUIDAS A LA INFECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA
HUMANO**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN
RADIO ONCOLOGÍA**

PRESENTA:

DRA. DANIELA ESPERANZA OSUNA ITURRIOS

ASESOR PRINCIPAL

Dra. Patricia Piña Sánchez

Investigador Titular B, Laboratorio de Oncología Molecular Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México.

Dirección: Avenida Cuauhtémoc 330, colonia Doctores, 06720

Correo electrónico: patricia_1307@yahoo.com.mx

Teléfono: 56276900 extensión 22710

ASESOR METODOLÓGICO

M. en C. María Fátima Chilaca Rosas

Médico adscrito en la división de oncología del servicio de radioterapia en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dirección: Avenida Cuauhtémoc 330, colonia Doctores, 06720

Correo electrónico: fatychro@hotmail.com

Teléfono 56276900, extensión 22545

Ciudad de México a 14 de Septiembre 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PROGRAMAS DE POSGRADO**

TITULO:

ENMIENDA VALIDACIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS AL DESARROLLO Y PRONÓSTICO DE NEOPLASIAS ATRIBUIDAS A LA INFECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Que presenta como tema de tesis para obtener el título de la Especialidad de Radio-Oncología.

TESISTA:

DRA. DANIELA ESPERANZA OSUNA ITURRIOS

Matrícula IMSS 97374633 UNAM 51922766

Médico residente de División de Oncología del servicio de Radioterapia en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México.

Correo electrónico: danielaosuna_01@hotmail.com

Teléfono: 56276900 extensión. 22624

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

DRA. PATRICIA PIÑA SÁNCHEZ

Investigador Titular B, Laboratorio de Oncología

Molecular Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México.

Matrícula.IMSS:10100032.

Correo electrónico: patricia_1307@yahoo.com.mx

Teléfono: 56276900 extensión 22710

INVESTIGADORES ASOCIADOS:

DRA. MARÍA FÁTIMA CHILACA ROSAS

Médico Adscrito en División de Oncología del servicio de Radioterapia en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México.

Matrícula IMSS: 98373965.

Correo electrónico: fatychro@hotmail.com

Teléfono: 56276900 extensión: 22624

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
UMAE HOSPITAL DE ONCOLOGÍA**

AUTORIZACIÓN DE TESIS

DRA. YAEL CAZARES ORDOÑEZ

Profesora titular de la Especialidad de Radio Oncología,
Hospital de Oncología
CMN Siglo XXI

DRA. PATRICIA PIÑA SANCHEZ

Investigador Titular B, Laboratorio de Oncología Molecular en Unidad de Investigación Médica en
Enfermedades Oncológicas.
Hospital de Oncología
CMN Siglo XXI

DRA. PATRICIA PÉREZ MARTÍNEZ

Jefe de la División de Educación en Salud
Hospital de Oncología
CMN Siglo XXI

DR. ODILÓN FÉLIX QUIJANO CASTRO

Director de Educación e Investigación en Salud.
Hospital de Oncología CMN Siglo XXI

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Dedico este proyecto a cada uno de los involucrados, principalmente a mis asesoras las doctoras Patricia Piña, Fátima Chilaca, por todas las facilidades otorgadas en el desarrollo de esta tesis, su paciencia, todo su conocimiento y tiempo compartido, así como el desarrollo de pruebas de determinación y genotipificación de VPH.

Contando con financiamiento por CONACyT: Fondos sectoriales de investigación en salud y seguridad social 2017 con número 290427 (FIS/IMSS/PROT/1775).

Primero que nada, quiero agradecer de manera especial a Dios por permitirme mantenerme en este camino a pesar de todas las pruebas y por darme el regalo de estar muy cerca de conseguir una meta y un sueño que parecía imposible.

A mi querido Padre, Daniel, quien a su vez es mi mayor inspiración, gracias por tu amor, apoyo, guía y tus consejos, por ser mi motor y quien siempre está ahí para darme la mano.

A mi madre, Teresa, quien ha creído en mi cuando yo no lo he hecho, siempre con una palabra de aliento, una sonrisa tierna y su apoyo incondicional en las buenas y las malas, este logro también es tuyo.

A mi hermano y mi sobrina Marion a quien amo profundamente.

Alan, tu amistad es un gran tesoro y te agradezco por estar siempre ahí, tu apoyo ha sido fundamental para terminar esta etapa de mi formación.

Yuliana, tu amistad es uno de los más grandes tesoros que me ha dejado esta aventura que se llama residencia.

Coral, Verónica, Tatiana y a todos mis amigos les agradezco por estar a mi lado y ser una luz en mi vida.

Rene, tu apoyo fue fundamental para conseguir esta meta, eres parte importante de este logro, tu amor, tu amistad, tu confianza en mí será algo por lo que estaré por siempre agradecida.

Por último, gracias a mis pacientes y sus familiares por la confianza y sus enseñanzas que enriquecen mi vida y el ejercicio de mi práctica profesional. Esto es por y para ustedes.



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



Dictamen de Modificación Autorizada

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3602** con número de registro **17 CI 09 015 057** ante COFEPRIS

HOSPITAL DE ONCOLOGÍA, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA **20/12/2021**

DRA. PATRICIA PIÑA SÁNCHEZ

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que la modificación al protocolo de investigación en salud con título: **VALIDACION DE BIOMARCADORES ASOCIADOS AL DESARROLLO Y PRONÓSTICO DE NEOPLASIAS ATRIBUIDAS A LA INFECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO** y con número de registro institucional: **R-2017-3602-31** y que consiste en:

Cambio de alumnos

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **MODIFICACION AUTORIZADA.**

ATENTAMENTE

DR.(A). RAFAEL MEDRANO GUZMAN
PRESIDENTE DEL COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA EN INVESTIGACIÓN EN SALUD No.3602

Impresión

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

TABLA DE CONTENIDO*Página (s)*

ABREVIATURAS, SIGLAS, ACRONIMOS	8
RESUMEN	10
HOJA DE DATOS DE TESIS	14
1. MARCO TEÓRICO	15
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	32
4. JUSTIFICACIÓN	33
5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO	34
6. MATERIAL Y MÉTODOS	35
7. RESULTADOS	41
8. DISCUSIÓN	56
9. CONCLUSION	59
10. REFERENCIAS	60

ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRÓNIMOS

3D-C	Radioterapia Conformal Tridimensional	SLP	Sobrevida Libre de Progresión
5FU	5- Fluoracilo	TPF	Esquema de quimioterapia (Docetaxel, cisplatino y 5-Fluorouracilo)
AJCC	American Joint Committee of Cancer	UIMEO	Unidad de Investigación
CBP	Carboplatino	UMAE	Unidad Médica de Alta Especialidad
CCDP	Cisplatino	VPH +	Virus del Papiloma Humano positivo
CECyC	Carcinoma epidermoide la cabeza y cuello	VPH -	Virus del Papiloma Humano negativo
CECyCdO	Carcinoma epidermoide la cabeza y cuello distinto a Orofaringe	QT/RT	Quimioterapia concomitante con radioterapia
CL	Control Local	RT	Radioterapia
CMN	Centro Médico Nacional	RTOG	Radiation Therapy Oncology Group. Grupo Oncológico de Radioterapia
CTV	Clinical Target Volumen. Volumen de enfermedad subclínica.	SG	Sobrevida Global
ENE o ECE	Extensión extracapsular	SLE	Sobrevida Libre de Enfermedad

ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group. Escala que evalúa el estado funcional o rendimiento de pacientes oncológicos.	TLM	Microcirugía láser transoral
GTV	Gross Tumor Volume. Volumen tumoral macroscópico.	VPH	Virus del Papiloma Humano
Gy	Gray	QT	Quimioterapia
IHQ	Inmunohistoquímica	PTV	Planning Target Volume.
IMRT	Radioterapia de Intensidad Modulada	PCR	Reacción en cadena de la ADN polimerasa
NCCN	National Comprehensive Cancer Network	TLM	Microcirugía láser transoral
ND	No Definido por limitación de análisis molecular, pero con positividad VPH (única o coinfección)		

RESUMEN

Enmienda validación de biomarcadores asociados al desarrollo y pronóstico de neoplasias atribuidas a la infección del virus del papiloma humano.

Antecedentes:

En diversos reportes han descrito, que los pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello distinto a orofaringe (CECyCdO) en presencia de VPH y/o expresión de p16+ tiene una reducción en la tasa de mortalidad respecto a los negativos, y que es un factor en la respuesta a tratamiento y sobrevivencia en pacientes tratados con radioterapia convencional; así mismo, se ha reportado mejor sobrevivencia a tres años que los VPH- (76% vs. 65%)¹; incluso en etapas localmente avanzadas la tasa de mortalidad mantuvo una reducción respecto a los VPH- (HR=0.46%)². Wookey y colaboradores, analizaron 13,908 casos de CECyCdO y también demostraron que VPH es un factor pronóstico independiente, siendo hipofaringe y faringe los subsitios de peor pronóstico³. Sin embargo, otros estudios no relacionan la presencia de VPH con factores pronósticos en CECyCdO.

Sabemos que los carcinomas escamosos de orofaringe VPH+ son entidades clínicas y biológicas distintas a los VPH-, pero el papel de VPH en sitios distintos a orofaringe es aún tema de debate por lo ya comentado, surgiendo la necesidad de conocer la frecuencia de VPH en cáncer de laringe sobre todo en etapa temprana y determinar si hay una relación con la respuesta a radioterapia.

FRECUENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE LARINGE Y MANEJO PRESERVADOR EN EL HOSPITAL DE ONCOLOGIA DEL CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.

Objetivos:

Determinar la frecuencia de VPH en pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de laringe tratados con manejo preservador en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI mediante genotipificación de VPH y expresión de p16INK4a.

Material y métodos:

Posterior a la aprobación de la enmienda al proyecto inicial con folio de registro *R-2017-3602-31*, se desarrolló un estudio de cohorte retrospectiva. A través de la base de datos del departamento

de patología de la UMAE Hospital de Oncología del CMN SXXI se obtuvieron todos los tejidos embebidos en parafina del periodo comprendido entre el 1 de enero de 2017 al 31 de diciembre de 2019. Para este estudio fueron incluidos pacientes de cualquier sexo, mayores de 18 años, con diagnóstico confirmado por estudio histopatológico de carcinoma epidermoide laringe en cualquiera de sus subsitios anatómicos, todas las etapas clínicas, que hubieran recibido tratamiento en este hospital y contaran con tejido tumoral en parafina disponible en esta unidad con muestra biológica con al menos 50% de tejido tumoral para ser procesado, aquellos pacientes que no cumplieron con dichos criterios, fueron excluidos de nuestro estudio.

De los pacientes que cumplieron los criterios de selección se obtuvieron del expediente clínico y electrónico de este hospital los datos demográficos y clínicos de la enfermedad oncológica; así como del expediente radiológico de la misma, los estudios de imagen del diagnóstico, estudios control posterior al tratamiento y durante todo el seguimiento de cada paciente consignados en el expediente, hasta la última consulta registrada, la pérdida o muerte del paciente. El estatus del VPH se determinó mediante reacción en cadena de ADN polimerasa (PCR) y la expresión de p16 INK4a por medio de inmunohistoquímica (IHQ), el desarrollo de estas pruebas moleculares se llevó a cabo en el laboratorio de Oncología Molecular de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas (UIMEO). El análisis estadístico descriptivo e inferencial se realizó con el apoyo de Graph Prism v.8.2, de las principales variables dependientes e independientes; se realizaron pruebas de normalidad y Kolmogórov-Smirnov. Se evaluó mediante gráficas de Kaplan Meier la Sobrevida Libre de Enfermedad (SLE) y Sobrevida Global (SG) considerando diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.05$.

Aspectos éticos:

El presente estudio se apega al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (DOF 02 04 2014). Declaramos este estudio sin riesgo (artículo 17), donde no se modifica o realiza intervención a los pacientes. Se trata de un estudio de revisión retrospectiva de expedientes y análisis de las muestras de pacientes de los archivos de patología; que ya fueron previamente diagnosticados y tratados de acuerdo con los criterios clínicos y guías de práctica clínica vigentes. Se mantuvo la privacidad y confidencialidad de los pacientes incluidos. Para garantizar la anonimización de la información, se asignó un código de registro. No se divulgó en presentaciones o documento alguno, el nombre ni datos personales de los casos seleccionados. Los procedimientos obtenidos en este trabajo son de carácter científico para

conocer las características biológicas y clínicas de los pacientes. Los resultados del estudio no modificaron el proceso de atención de los pacientes incluidos en el análisis.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que en el desarrollo del trabajo no existe conflicto de intereses.

Resultados:

Se evaluaron 89 pacientes, con una edad mediana de diagnóstico de 68 años, en un rango de 47 a 91 años, con una proporción hombre: mujer de 16:8.1, el consumo de tabaco estuvo presente en el 79.7%, presentaban un índice tabáquico mayor a 10 en el 58.43%, el consumo de alcohol estuvo presente en el 85.4% de los pacientes y un estado funcional ECOG entre 0 y 1 se presentó en el 80% de los pacientes. El subsitio predominante fue transglótico con el 57.3% y posteriormente en frecuencia el subsitio glótico; en el 64.04% se presentó grado 2 de diferenciación, pero se encontró en el 8.98% un grado no especificado. En este periodo evaluado las etapas consideradas como manejo conservador fueron de la etapa clínica I-II en el 20.22%, el 60.67% fue sometido a biopsia. En el 65.16% presentaron invasión peri neural y en 61.8% la invasión linfovascular no se determinó en relación con el tipo de muestra. En la distribución de pacientes por etapa y subsitio, se observó que la mayoría de los pacientes eran etapa clínica IVA con 42 y el subsitio transglótico el más común con un 73.81%. La frecuencia del VPH fue del 34.82% tanto por expresión de p16+ y VPH+. En el análisis por subgrupos según estado de p16/VPH encontramos que el grupo P16 +/ VPH+ son el 14.60%, P16 +/- VPH - representan el 11.23%, p16-/VPH + el 8.98% y p16-/VPH - representa el 65.16%. En el caso de la distribución por grupo etario el grupo con más frecuencia fue el de 70 a 80 años con el 35.48% en los que tienen expresión de VPH y los que no en un 36.20%, en las etapas tempranas existe un predominio en los grupos etarios de 70-80 años con un 40% en VPH positivos y en los que tienen VPH - en el mismo grupo con un 38.46%.

En las etapas clínica I y II observamos 5 casos positivos para presencia de VPH que equivale al 27.78% del total de 18 casos encontrados. Los genotipos encontrados en las muestras con VPH+ los cuales fueron 21, en orden de frecuencia fueron el 16, 66 y 6, y el resto de los genotipos se encontraron en menor frecuencia con al menos algún caso (11, 18, 31, 58 y 69), en la etapa temprana se pudieron identificar los genotipos 11, 58, 66 y 16. Lo que respecta al manejo conservador se vio que la mayoría de los pacientes fueron tratados con radioterapia radical con una mediana de dosis otorgada fue de 66GY con modalidad conformal 3D como la más frecuente, así como en fraccionamiento convencional.

El uso de esquemas de quimioterapia se observó en cuatro pacientes por progresión en su mayoría y recurrencia con (26.6%)

Al analizar el periodo libre de enfermedad en todas las etapas clínicas sin importar estatus de VPH observamos la sobrevida libre de enfermedad en la mayoría fue del 72% a 60 meses y no se alcanzó la mediana por el periodo observado para este estudio. El PLE en etapas clínicas tempranas fue del 50% de los pacientes a los 48 meses, sin diferencia por presencia de VPH en paciente etapa temprana candidatos a manejo conservador.

Es importante mencionar que encontramos que los pacientes con P16-/VPH+ en etapa tardías tiene una mediana de supervivencia menor que es estadísticamente significativa en comparación a los dos grupos de p16+/VPH+ y p16+/VPH+ del grupo ND. En etapas tempranas no se observó diferencia en la sobrevida global al momento de clasificar por grupos de expresión de p16 y VPH.

Conclusiones:

La prevalencia de VPH encontrada fue en todas las etapas clínicas fue del 34.83%, siendo el genotipo de VPH más frecuentes 6, 16 y 66. En el grupo de pacientes con cáncer de laringe en etapa temprana con manejo conservador fue en el 27.78% con presencia de genotipos 11,58,66 y 16. El periodo libre de enfermedad del 50% de los pacientes a los 48 meses, sin diferencia por presencia de VPH en paciente etapa temprana candidatos a manejo conservador. Además, en etapa avanzada o tardía si se encontró diferencia de SG con peor pronóstico p16-VPH+.

Palabras clave: • Virus del papiloma humano • Expresión de p16INK4a • Cáncer de laringe • Carcinoma epidermoide • Pronóstico • Control locorregional • Esquema de radioterapia.

HOJA DE DATOS DE ENMIENDA DE TESIS

Datos del alumno	
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre (s): Teléfono: Universidad: Facultad o Escuela: Carrera: No. De cuenta:	Osuna Iturrios Daniela E. 56276900 extensión. 22624 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Medicina, Radio Oncología 51922766
Datos de asesor	
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre (s):	Piña Sánchez Patricia
Datos de la Tesis	
Título: No. De páginas: Año: Número de Registro:	Enmienda validación de biomarcadores asociados al desarrollo y pronóstico de neoplasias atribuidas a la infección del virus del papiloma humano. 71 2022 R-2017-3602-31

1- MARCO TEÓRICO:

En todo el mundo, hay más de 180 000 casos de cáncer de laringe y aproximadamente 100 000 muertes al año.⁴ De acuerdo The Surveillance, Epidemiology, and End Results en 2022 en Estados Unidos habrá 12,470 nuevos casos de este tipo de cáncer con muertes estimadas en 3,820, representando el 0.6% de todas las muertes por cáncer.

La edad media de presentación es de 66 años, con una predisposición mayor a presentarse en hombres que en mujeres (5.8 casos por 100, 000 vs 1.2 casos por 100,000). Al momento del diagnóstico en países de tercer mundo, aproximadamente el 60% de los pacientes se presentan en etapas avanzadas (Etapa III o IV), al contrario de países desarrollados donde la mayoría de los casos se localizan en etapa órgano confinada. (52%)⁵

El cáncer de laringe es una de las neoplasias que, a pesar de la evolución en el tratamiento, la sobrevivida a 5 años ha disminuido en las últimas décadas pasando de 66% a 61%. Aunque se ha observado una disminución en la incidencia asociada a las modificaciones en los factores de riesgo. Sin embargo, en nuestro país es escasa la información sobre los cambios en la supervivencia de esta neoplasia.^{5,6}

FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo que se asocian con mayor frecuencia al cáncer de cabeza y cuello son el tabaquismo, el consumo de alcohol, la infección por el virus del papiloma humano (VPH) (especialmente para los cánceres de orofaringe).⁷

Según los datos combinados del consorcio INHANCE (International Head and Neck Cancer Epidemiology), el 89 % de los cánceres de laringe son atribuibles al consumo de tabaco o alcohol.⁸

En los fumadores empedernidos de cigarrillos, el riesgo de cáncer se multiplica por 5 a 25 en comparación con los no fumadores⁹. Parece existir una relación dosis respuesta, como ilustran las siguientes observaciones:

Un estudio de casos y controles comparó a 605 pacientes con cáncer de cabeza y cuello con 756 controles¹⁰. El riesgo relativo (RR) en los consumidores actuales de tabaco fue de 6,5. El RR

aumentaba con la duración del tabaquismo y disminuía gradualmente después de dejar de fumar, sin exceso de riesgo a los 20 años.

En otro estudio de casos y controles, los pacientes que fumaban más de un paquete de cigarrillos al día tenían un riesgo 13 veces mayor de padecer cáncer de cabeza y cuello ¹¹. La edad de inicio del tabaquismo (menos de 18 años) y la duración de este (más de 35 años) fueron factores de alto riesgo. Dejar de fumar se asoció a una disminución significativa del RR.

Alcohol - El consumo de alcohol aumenta de forma independiente el riesgo de cáncer en el tracto aerodigestivo superior, el RR de desarrollar cáncer de cabeza y cuello ¹² debido al alcohol parece ser dependiente de la dosis. Por ejemplo, un estudio informó de que el riesgo de padecer cáncer de cabeza y cuello se quintuplicaba o sextuplicaba con la ingesta de alcohol de más de 50 g/día frente a la de menos de 10 g/día (una bebida contiene aproximadamente 12 g de alcohol) ¹³.

Otros factores conocidos para el desarrollo de este tipo de cáncer incluyen el uso de opio, exposición asbesto, los hidrocarburos aromáticos policíclicos y el polvo textil. Se ha observado que factores dietéticos como el consumo de carne roja, el reflujo gastroesofágico y laringofaríngeo parecen asociarse al aumento de la incidencia de esta neoplasia. ^{14,15,16,17}.

ASOCIACIÓN ENTRE EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) Y EL CÁNCER DE LARINGE

La asociación entre el VPH de Alto Riesgo y el desarrollo de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello se estableció desde hace más de tres décadas, desde entonces varios estudios epidemiológicos y biológicos han implicado al VPH, especialmente al genotipo 16, como factor etiológico en el desarrollo de tumores del tracto aerodigestivo superior. Tres sitios se han asociado con VPH, siendo el más frecuente en la orofaringe y, en menor medida, la cavidad oral y la laringe. Se estima que, dentro de las neoplasias de cabeza y cuello, aproximadamente 30-65% son atribuibles al VPH, con un incremento marcado en la incidencia en las últimas décadas. ¹⁸

La caracterización biológica y clínica es fundamental para estratificar a los pacientes en función de factores pronósticos y predictivos, por lo anterior es importante mencionar el estudio de publicado por Méndez y colaboradores en 2021 acerca de la prevalencia de VPH en pacientes mexicanos

con cáncer escamoso de cabeza y cuello, se determinó la presencia y genotipo de VPH, expresión de p16 y perfiles de expresión génica global, en el estudio, ahí se analizaron 414 pacientes, se observó que un 22% del total de casos eran VPH+ y el 32% eran p16+, de la misma forma se identificaron genes asociados con la supervivencia, como SLIRP, KLF10, AREG, ACT1 y LIMA. Además, los genes CSF1R, MYC y SRC fueron identificados como posibles dianas terapéuticas.²¹

El mecanismo del VPH como factor etiológico del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello es obtenido principalmente de los estudios en cáncer cervicouterino donde se ha encontrado ADN del VPH en más del 99% de los casos. El genoma del VPH puede integrarse al genoma del hospedero, donde se expresa las oncoproteínas virales E6 y E7, estas proteínas se unen e inactivan el gen supresor de tumor p53 y la proteína supresora de tumor de retinoblastoma (pRb), respectivamente. La expresión de E6 y E7 son necesarios para el crecimiento continuo de las líneas celulares del cáncer.¹⁹ La presencia de ADN de VPH en el tumor no necesariamente indica la contribución del virus en su desarrollo, por lo cual se utilizan métodos para detectar biomarcadores indicadores del papel carcinogénico del VPH como la inmunohistoquímica CDKN2A (p16), hibridación in situ para el ADN del VPH o detección de mRNA E6/E7.²⁰

La sobreexpresión de p16, identificada mediante inmunohistoquímica se usa a menudo como marcador sustituto de la infección y actividad oncogénica de VPH. P16 es un gen supresor de tumores que inhibe la quinasa 4A dependiente de ciclina. En presencia de VPH transcripcionalmente activo, la proteína de retinoblastoma hipofosforilada (pRb) se une a la oncoproteína E7 del VPH, lo que permite que el activador transcripcional E2F sea constitucionalmente activo mientras detiene de manera efectiva la retroalimentación negativa de pRb libre en p16. Se produce una sobreexpresión de p16. P16 por inmunohistoquímica es generalmente accesible y se estima que sus costos técnicos son de 2 a 16 veces más bajos que otras pruebas específicas de VPH.²²

La frecuencia del VPH de alto riesgo en el carcinoma epidermoide de laringe se presenta en diferentes estudios, la mayoría retrospectivos, con un rango muy amplio (0-80%) y una variabilidad geográfica importante (predominio en Asia), en un metaanálisis se reportó 26.6% de los casos con VPH de alto riesgo, siendo el más prevalente el VPH-16.^{18,20} En México, los estudios que han evaluado la presencia de VPH en el carcinoma epidermoide de laringe han sido retrospectivos y

han reportado VPH de alto riesgo en un rango del 20-34% de los pacientes y en los que han evaluado el impacto en la sobrevida global y libre de enfermedad no se ha alcanzado significancia estadística.²³

Las características histológicas del epitelio laríngeo lo hacen susceptible a la infección por VPH, la vía de transmisión más común es a través del contacto sexual. En laringe también se ha asociado a lesiones benignas de la laringe como los papilomas laríngeos siendo el VPH de bajo riesgo genotipo 6 y 11 los implicados en estas lesiones, las cuales presentan un riesgo de transformación maligna del 1 al 7%.²⁴

El VPH y la sobreexpresión de p16 se ha encontrado como un factor pronóstico independiente en pacientes con carcinoma epidermoide de orofaringe, presentando una mejor sobrevida global y mejoría en la sobrevida libre de progresión en comparación con los VPH negativos. Esta diferencia en resultados oncológicos permitió el ajuste de la estadificación por AJCC en su octava edición para los pacientes VPH positivos,²⁵ también ha permitido la posibilidad de evaluar la reducción en la intensidad de la dosis en estudios clínicos que se encuentran actualmente en evaluación.

Existe evidencia que establece un mejor pronóstico para los pacientes VPH positivo y/o p16 positivo en sitios de cabeza y cuello no orofaringe, en varios estudios se ha observado una mejoría a la sobrevida libre de progresión y sobrevida global.²⁶ En estudios realizados respecto al papel del VPH en el carcinoma epidermoide de laringe existen algunos estudios que demuestran mejoría en control local y sobrevida global por lo que se podría validar una nueva estadificación para este sitio, sin embargo no todos son concluyentes, la mayoría son estudios retrospectivos y con muestras pequeñas.^{25,26}

En el estudio de Sánchez y colaboradores, se observó que pacientes que presentan p16-/VPH- presentaban mayor tamaño tumoral y mayor estadio en el momento del diagnóstico. Los pacientes que presentaban p16+/VPH+ tuvieron menos recaídas y mejor SLE, demostraron también que las recaídas ganglionares ocurrieron significativamente más a menudo en las cohortes p16-. La SG estuvo influenciada por el tipo de recaída, y las recaídas ganglionares mostraron peor tasa de supervivencia.²⁷

En lo que corresponde a la radiación existen múltiples estudios que demuestran que los pacientes con cáncer de cabeza y cuello VPH+ tienen mejores resultados de supervivencia cuando son tratados con radiación. Las líneas celulares de cáncer de cabeza y cuello VPH+ son más sensibles

a la radiación que las células VPH- tanto in vitro e in vivo. Además, se sugiere que el aumento de la apoptosis inducida por TP53 después de la exposición a la radiación desempeña un papel clave en el aumento de la radiosensibilidad en tumores VPH+²⁸, se ha demostrado que el deterioro de la capacidad de reparación del ADN era responsable del aumento de la respuesta a la radioterapia de las células VPH+. Sin embargo, se necesitan más estudios para investigar el papel del VPH en la mejora de la radiosensibilidad.²⁹

El estado del VPH puede ser útil en la selección de pacientes para la preservación de la laringe, ya que los pacientes con enfermedad VPH positiva que reciben QT-RT tienen una SG significativamente mejor que los pacientes con enfermedad VPH negativa que reciben el mismo tratamiento.³⁴

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA

La laringe, es una estructura móvil, que forma parte de la vía aérea, actuando normalmente como una válvula que impide el paso de los elementos deglutidos y cuerpos extraños hacia el tracto respiratorio inferior. Además, permite el mecanismo de la fonación diseñado específicamente para la producción de la voz. La emisión de sonidos está condicionada al movimiento de las cuerdas vocales. Son los movimientos de los cartílagos de la laringe los que permiten variar el grado de apertura entre las cuerdas y una depresión o una elevación de la estructura laríngea, con lo que varía el tono de los sonidos producidos por el paso del aire a través de ellos. Esto junto a la disposición de los otros elementos de la cavidad oral (labios, lengua y boca) permite determinar los diferentes sonidos que emitimos.³⁰

La laringe se encuentra situada en la porción anterior del cuello y mide aproximadamente 6 cm de longitud, siendo más corta y cefálica en las mujeres y especialmente en los niños. Se relaciona con los cuerpos vertebrales C3-C6. Su estructura está constituida por un esqueleto cartilaginoso al cual se unen un grupo importante de estructuras musculares y en donde la mucosa adquiere características particulares. El esqueleto laríngeo está formado por seis cartílagos: Epiglotis, tiroides, aritenoides, corniculados, cuneiformes y cricoides.^{28,29}

Para describir la patología y semiología laríngea, la laringe puede ser dividida en 3 compartimentos, en relación con los pliegues de la mucosa.²⁹

- **Supraglotis:** Se compone del cartílago epiglótico supra hioideo e infrahioideo, los pliegues ariepiglóticos, los aritenoides y las cuerdas vocales falsas. El límite inferior de la supraglotis es un plano horizontal a través del margen lateral del ventrículo en su unión con la superficie superior de las cuerdas vocales verdaderas.
 - **Glottis:** Se compone de las cuerdas vocales verdaderas e incluye la comisura anterior y posterior. El límite inferior de la glottis es un plano horizontal a una distancia de un centímetro inferior al límite de la supraglotis.
 - **Subglottis:** Se extiende del límite inferior de la glottis hasta el borde inferior del cartílago cricoides.
- La localización glótica, supraglótica y subglótica representan aproximadamente dos tercios, un tercio y el 2% de los cánceres de laringe, respectivamente, lo anterior es de suma importancia conocerlo ya que dependiendo del subsitio afectado es la diseminación con la que nos enfrentaremos y el tratamiento puede cambiar según el subsitio.³⁰

CUADRO CLÍNICO

Los síntomas asociados con el cáncer de laringe dependen de la ubicación de donde se originó el tumor. La ronquera persistente puede ser la queja inicial en los cánceres de glottis; otros síntomas pueden incluir disfagia, otalgia referida, tos crónica, hemoptisis y estridor. Los cánceres supraglóticos a menudo se descubren en etapas más avanzadas y pueden presentarse con obstrucción de las vías respiratorias o ganglios linfáticos metastásicos palpables en cuello. Los tumores subglóticos primarios son raros, pero típicamente se presentan con estridor o disnea de pequeños esfuerzos.³¹

PATRONES DE DISEMINACIÓN

Se conoce que la incidencia de metástasis cervicales ganglionares por cáncer de laringe dependerá del subsitio del tumor primario y la etapa en la que se presente.

El cáncer supraglótico tiene una abundante cadena de linfáticos, por lo cual tiene la mayor incidencia de metástasis ganglionares, se ha detectado metástasis cervicales con confirmación patológica en lesiones supraglóticas de acuerdo con su clasificación T en 10% de T1, 29% de T2, 38% de T3 y 57% de T4. Los niveles ganglionares más afectados son II, III y IV. Las metástasis cervicales bilaterales son frecuentes.

El cáncer glótico tiene una baja incidencia de metástasis ganglionares cervicales. Se han reportado en menos del 1% de T1, 5% de T2, 18% de T3 y 32% de T4. Los niveles ganglionares más frecuentemente involucrados son II, III, IV y VI. Las metástasis bilaterales o contralaterales son raras.^{35,36}

En el cáncer subglótico, por su presentación infrecuente, la descripción de este tipo de tumor se basa en series pequeñas de pacientes. El nivel más afectado es el VI, tanto bilateral como contralateral. Metástasis a los niveles III, IV y V son raras. La incidencia de afección ganglionar en general va de 4 al 27%.³⁷

Las metástasis a distancia por vía hematógena son principalmente a pulmones, hígado y hueso. Los tumores de supraglotis presentan mayor frecuencia de metástasis a distancia, siendo entre 3.7% a 15%, mientras que los glóticos se presentan entre 3.1% a 8.8%.³⁸

PATOLOGIA

La histología de carcinoma epidermoide es el tumor maligno de la laringe más frecuente, es el responsable en más del 90% de los casos. Se divide en 3 grados de diferenciación: bien diferenciado, moderadamente diferenciado y pobremente diferenciado. Dentro de otras variantes histológicas de origen epitelial podemos encontrar el carcinoma verrucoso, carcinoma de células fusiformes, carcinoma epidermoide de tipo basaloide, carcinoma de células claras, carcinoma adenoescamoso, carcinoma linfoepitelial. Como histologías poco frecuentes se pueden presentar patología maligna de glándulas salivales, tumores neuroendocrinos, sarcomas y linfomas.³⁹

EVALUACIÓN INICIAL

Es necesaria una historia clínica detallada además de un examen físico que debe incluir una cuidadosa evaluación del cuello y una evaluación endoscópica para evaluar la extensión del tumor y la vía aérea. Se deberá realizar una biopsia del sitio primario o de ganglios en cuello en caso de que existan.⁴⁰

Se necesita una laringoscopia de preferencia con el paciente despierto, ya que es de suma importancia en la evaluación inmediata de la función dinámica de la laringe, además se puede observar la permeabilidad de la vía aérea pues en caso de encontrarse obstruida se deberá evitar la asfixia por medio de una traqueostomía, de igual forma se puede observar mediante este estudio

la movilidad de las cuerdas vocales, que también es fundamental para determinar la extensión de la afectación tumoral de la laringe y el estadio T exacto.⁴⁰

Los estudios de imagen son imprescindibles en la evaluación de un paciente con sospecha de neoplasia laríngea. Idealmente, se debe realizar estudio de imagen previo al estudio endoscópico con toma de biopsia, para evitar el edema y la distorsión de la imagen por la biopsia. La imagen por resonancia magnética (IRM) y la tomografía computada (TC) aportan la mayor información. La Tomografía por Emisión de Positrones (PET) se utiliza para estadificar al paciente ya que permite detectar metástasis regionales o a distancia, además en la evaluación de enfermedad residual o recurrente. Se recomienda realizar TC de tórax, pruebas de función pulmonar para pacientes que someterán a cirugía de conservación, así como evaluación dental, nutricional, audiograma, así como consejo para la cesación del tabaco.⁴¹

ESTADIFICACIÓN

La estadificación de los cánceres de laringe está determinada por el subsitio de afectación de la laringe y por lo tanto requiere una comprensión profunda de anatomía laríngea. La clasificación por etapas está determinada por la extensión o compromiso del subsitio por el tumor primario, la movilidad de las cuerdas vocales, extensión extra nodal, y la presencia de metástasis.

Se utiliza el sistema de clasificación TNM (Tumor, Afección Nodal y Metástasis) (Tumor, Afección Nodal y Metástasis) de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) y de la Union for International Cancer Control (UICC) en su octava edición.⁴²

ESTADIFICACIÓN AJCC 8 CÁNCER DE LARINGE

Tumor primario (T)		Glottis	
TX	No se puede evaluar el tumor primario	T1	Tumor limitado a la(s) cuerda(s) vocal(es) (puede implicar a la comisura anterior o posterior) con movilidad normal
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>	T1a	Tumor limitado a una cuerda vocal
Supraglotis		T1b	Tumor que implica a las dos cuerdas vocales
T1	Tumor limitado a un subsitio de la supraglotis con movilidad normal de las cuerdas vocales	T2	Tumor que se extiende hacia la supraglotis y/o la subglotis, y/o con afectación en la movilidad de las cuerdas vocales
T2	Tumor que invade la mucosa de más de un subsitio adyacente de la supraglotis o de la glotis o la región fuera de la supraglotis (p. ej., la mucosa de la base de lengua, la vallécula o la pared medial del seno piriforme) sin fijación de laringe	T3	Tumor limitado a la laringe con fijación de cuerdas vocales y/o que invade cualquiera de las siguientes: la zona poscricoidea, el espacio preepiglótico, el espacio paraglótico y/o la corteza interna del cartílago tiroides
T3	Tumor limitado a la laringe con fijación de cuerdas vocales y/o que invade cualquiera de las siguientes: la zona poscricoidea, el espacio preepiglótico, el espacio paraglótico y/o la corteza interna del cartílago tiroides	T4	Moderadamente avanzada o muy avanzada
T4	Moderadamente avanzada o muy avanzada	T4a	Enfermedad local moderadamente avanzada Tumor que invade a través de la corteza externa del cartílago tiroides y/o invade los tejidos más allá de la laringe (p. ej., la tráquea, los tejidos blandos del cuello incluyendo los músculos extrínsecos profundos de la lengua, los músculos infrahioides, el tiroides o el esófago)
T4a	Enfermedad local moderadamente avanzada Tumor que invade a través de la corteza externa del cartílago tiroides y/o invade los tejidos más allá de la laringe (p. ej., la tráquea, los tejidos blandos del cuello incluyendo los músculos extrínsecos profundos de la lengua, los músculos infrahioides, el tiroides o el esófago)	T4b	Enfermedad local muy avanzada Tumor que invade el espacio prevertebral, recubre la arteria carótida o invade las estructuras mediastínicas
T4b	Enfermedad local muy avanzada Tumor que invade el espacio prevertebral, recubre la arteria carótida o invade las estructuras mediastínicas	Subglotis	
		T1	Tumor limitado a la subglotis
		T2	Tumor que se extiende a la(s) cuerda(s) vocal(es) con movilidad normal o alterada
		T3	Tumor limitado a la laringe con fijación de cuerdas vocales y/o invasión de la corteza interna del cartílago tiroides
		T4	Moderadamente avanzada o muy avanzada
		T4a	Enfermedad local moderadamente avanzada Tumor que invade el cartílago cricoides o tiroides y/o invade los tejidos más allá de la laringe (p. ej., la tráquea, los tejidos blandos del cuello incluyendo los músculos extrínsecos profundos de la lengua, los músculos infrahioides, el tiroides o el esófago)
		T4b	Enfermedad local muy avanzada Tumor que invade el espacio prevertebral, recubre la arteria carótida o invade las estructuras mediastínicas

Ganglios linfáticos regionales (N)	
N clínico (cN)	
NX	No se pueden valorar los ganglios linfáticos regionales
N0	Ninguna metástasis en los ganglios linfáticos regionales
N1	Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, de 3 cm o menor de dimensión máxima y extensión extraganglionar (EEG)(-)
N2	Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral mayor que 3 cm, pero no mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-); o metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno mayor que los 6 cm de dimensión máxima y EEG(-); o en los ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor que los 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
N2a	Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral mayor que 3 cm, pero no mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
N2b	Metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
N2c	Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
N3	Metástasis en un único ganglio linfático mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-); o metástasis en cualquier ganglio(s) linfático(s) y EEG(+) clínicamente manifiesta
N3a	Metástasis en múltiples ganglios linfáticos mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
N3b	Metástasis en cualquier ganglio(s) linfático(s) y EEG(+) clínicamente manifiesta
<i>Nota:</i> Se puede emplear la designación de "U" o "L" para cualquiera de las categorías N para indicar metástasis por encima del borde inferior del cricoides (U) o por debajo del borde inferior del cricoides (L). Asimismo, la EEG clínica y la EEG patológica se deben registrar como EEG(-) o EEG(+).	

N patológico (pN)

- NX** No se pueden valorar los ganglios linfáticos regionales
- N0** Ninguna metástasis en los ganglios linfáticos regionales
- N1** Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, de 3 cm o menor de dimensión máxima y extensión extraganglionar (EEG)(-)
- N2** Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, de 3 cm o menor de dimensión máxima y EEG(+); o mayor que 3 cm, pero no mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-); o metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno mayor que los 6 cm de dimensión máxima y EEG(-); o en los ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor que los 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
- N2a** Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral de 3 cm o menor de dimensión máxima y EEG(+); o metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral mayor que 3 cm, pero no mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
- N2b** Metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
- N2c** Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
- N3** Metástasis en un único ganglio linfático mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-); o metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral mayor que 3 cm de dimensión máxima y EEG(+); o múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, contralaterales o bilaterales, cualquiera de ellos con EEG(+); o un único ganglio linfático contralateral de cualquier tamaño y EEG(+)
- N3a** Metástasis en múltiples ganglios linfáticos mayor que 6 cm de dimensión máxima y EEG(-)
- N3b** Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral mayor que 3 cm de dimensión máxima y EEG(+); o múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, contralaterales o bilaterales, cualquiera de ellos con EEG(+); o un único ganglio linfático contralateral de cualquier tamaño y EEG(+)

**Nota:* Se puede emplear la designación de "U" o "L" para cualquiera de las categorías N para indicar metástasis por encima del borde inferior del cricoides (U) o por debajo del borde inferior del cricoides (L). Asimismo, la EEG clínica y la EEG patológica se deben registrar como EEG(-) o EEG(+).

Metástasis a distancia (M)

- M0** Sin metástasis a distancia
- M1** Metástasis a distancia

Grado histológico (G)

- GX** Grado que no puede evaluar
- G1** Bien diferenciado
- G2** Moderadamente diferenciado
- G3** Mal diferenciado

Grupos de estadificación pronóstica

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

TRATAMIENTO

El tratamiento para el cáncer de laringe depende de la etapa clínica y el subsitio del tumor primario al momento del diagnóstico. De forma general se puede dividir en el tratamiento para etapa temprana y para etapa localmente avanzado.

ETAPA TEMPRANA-MANEJO CONSERVADOR

Los pacientes con cáncer de laringe temprano se tratan con intención curativa utilizando modalidades terapéuticas locales para optimizar el control locorregional y la supervivencia. Además, los pacientes deben ser tratados con el objetivo de preservar la función laríngea, incluida la capacidad de tragar, la protección de las vías respiratorias y la calidad de la voz.⁴³

El tratamiento óptimo maximiza tanto los resultados funcionales laríngeos como la supervivencia.

Los pacientes con cáncer de laringe en etapa temprana, las tasas de supervivencia específicas de la enfermedad estimadas a cinco años son altas según los estudios observacionales (>90 y 80 por ciento para la enfermedad en etapa I y II, respectivamente)⁴⁴.

Para sitios específicos de la enfermedad, las tasas de supervivencia general a cinco años son más favorables para los cánceres glóticos (80 a 91%), pero son menos favorables para los cánceres supraglóticos (55 a 75%) y los cánceres subglóticos (50 a 86%)⁴⁵⁻⁴⁶.

En los **carcinomas glóticos** el tratamiento estándar en etapa temprana es un enfoque de conservación de la laringe con microcirugía láser transoral (TLM) o radioterapia (RT), ya que ambos enfoques ofrecen tasas de control y resultados de supervivencia similares. La evaluación de la función previa al tratamiento y la predicción de la función posterior al tratamiento después de la cirugía o la RT son cruciales para la elección de la terapia.

Para los pacientes con lesiones superficiales de las cuerdas medias que eligen la cirugía, se ofrece cirugía transoral con TLM, ya que este enfoque quirúrgico mínimamente invasivo minimiza la resección de las cuerdas vocales y también ofrece buenos resultados en la calidad de la voz. Para los pacientes con tumores laríngeos glóticos que requieren una resección más extensa, se ofrece RT en lugar de cirugía (con TLM o laringectomía parcial abierta). Por ejemplo, los tumores que invaden profundamente el músculo vocalis tratados con resección también pueden requerir RT

posoperatoria debido a márgenes positivos u otras características patológicas de alto riesgo, por lo que la terapia inicial con RT puede ser preferible en esta situación. Con este enfoque, la tasa de supervivencia global estimada a los cinco años es de aproximadamente el 90 % ^{45,46,47}.

Por ejemplo, en un ensayo histórico, 269 pacientes con cánceres de laringe T1-2N0 fueron asignados al azar para recibir cirugía (es decir, laringectomía parcial abierta) o RT. ⁴⁷ Las tasas de supervivencia general a cinco años fueron similares entre los dos grupos (100 frente a 92 % para los tumores en estadio I y 97 frente a 89 % para los tumores en estadio II, respectivamente). Aunque este ensayo utilizó una intervención quirúrgica abierta menos contemporánea, se observaron resultados similares en estudios posteriores con técnicas quirúrgicas menos invasivas. Como ejemplo, en un ensayo aleatorizado posterior de 60 pacientes con cáncer de glotis T1aN0 tratados con TLM o RT, las tasas de recurrencia local a dos años fueron del 10% y el 12%, respectivamente, y las tasas de supervivencia fueron similares ⁴⁷. Varios metaanálisis posteriores que evaluaron TLM versus RT tuvieron resultados mixtos, algunos demostraron un control locorregional similar ⁴⁸ y otros informaron mejores tasas de supervivencia general o preservación laríngea con TLM en relación con RT. ^{49,50}.

Resultados vocales de la radioterapia versus la cirugía: tanto la RT como la cirugía transoral ofrecen oportunidades razonables para la preservación de la voz; sin embargo, dado que los datos son controvertidos con respecto a qué modalidad de tratamiento es superior, se debe ofrecer a los pacientes una discusión sobre el riesgo-beneficio con respecto a la preservación vocal a largo plazo con cualquiera de los dos enfoques.

La calidad de la voz es un resultado clínico importante. El factor principal para determinar la calidad de la voz posoperatoria son las características vibratorias de los segmentos de las cuerdas vocales no afectados por el tumor. Cualquier técnica utilizada debe tratar de minimizar el impacto sobre estas estructuras. En general, la calidad de la voz después de la extirpación quirúrgica variará según la extensión de la resección de las cuerdas vocales y la cantidad de tejido flexible de las cuerdas vocales que se pueda conservar ⁵¹. Asimismo, la calidad de la voz con RT se ve afectada por la extensión del volumen radiado.

En lo que respecta al manejo de los ganglios linfáticos regionales glóticos las etapas tempranas, se ofrece un tratamiento expectante con observación del cuello en lugar de un tratamiento electivo

con RT o disección del cuello. La laringe glótica posee un drenaje linfático mínimo y la afectación ganglionar es rara. Por lo tanto, no está indicado el tratamiento electivo del cuello con cirugía o RT, ya que no afecta los resultados de supervivencia y se asocia con un riesgo de toxicidad aumentada.⁵²

En el caso del tratamiento de los **cánceres supraglóticos**, que constituyen aproximadamente un tercio de los cánceres de laringe, se puede ofrecer RT o resección quirúrgica ambas modalidades son eficaces para lograr el control local (aproximadamente el 90 % para el estadio I y el 80 % para el estadio II) y mantener la movilidad de las cuerdas vocales⁵³. A pesar del excelente control local, la tasa de supervivencia general a cinco años es más baja, aproximadamente del 55 al 75 por ciento, principalmente debido al mayor riesgo de recurrencia locorregional y metástasis a distancia en aquellos con cánceres supraglóticos.⁵⁴

El control local con cirugía va del 80 al 90%, sin embargo, de los pacientes que se someten a laringectomía parcial en la mayoría de ellos reciben radioterapia postoperatoria, de las series que han utilizado radioterapia como modalidad única se ha obtenido control local del 76 – 89%.^{53,54}

En estos pacientes se ha obtenido una mejoría en el control local con el escalamiento de dosis hasta 70 Gy en fraccionamiento convencional y también se ha evaluado el uso de fraccionamientos alterados, en el Estudio DAHANCA, el beneficio del fraccionamiento acelerado fue mayor en el subgrupo de pacientes con carcinoma supraglótico.⁵⁵

Las metástasis ocultas y bilaterales de los ganglios linfáticos del cuello son frecuentes en pacientes con cáncer supraglóticos incluso en aquellos con un cuello clínicamente negativo, ya que la supraglotis es una estructura de la línea media con abundante drenaje linfático bilateral⁴⁷. En consecuencia, para los pacientes con cáncer supraglótico en estadio temprano (enfermedad T1 o T2) tratados con RT primaria o cirugía, está indicado el tratamiento bilateral electivo del cuello de los ganglios yugulares internos superior, medio e inferior (niveles IIA, III y IV), típicamente con la misma modalidad utilizada para tratar el tumor primario. La tasa estimada de recaída en aquellos que no reciben terapia electiva para el cuello es superior al 12%.⁵⁶

Los pacientes que se someten a cirugía del tumor primario también deben recibir tratamiento con disección de cuello de estadificación (realizada simultáneamente con la resección del tumor primario) o RT de cuello electiva posoperatoria. La cirugía láser transoral se puede combinar con RT cervical electiva posoperatoria, con altas tasas de control locorregional y supervivencia (88% a los tres años) y buen resultado funcional en la mayoría de los pacientes (90%)⁵⁰.

En el caso del **subsitio subglótico** los tumores primarios son poco frecuentes. Sin embargo, cuando los encontramos en etapa tempranas se puede ofrecer tratamiento con radioterapia modalidad IMRT inicial con guía de imagen diaria (es decir, IGRT), en lugar de laringectomía inicial, ya que este enfoque ofrece la mejor oportunidad para la preservación de la laringe, con este enfoque, las tasas estimadas de supervivencia libre de enfermedad y global a cinco años son del 71 y el 86% para la enfermedad en estadio I y del 42 y el 50% para la enfermedad en estadio II⁵⁷. Algunos expertos pueden ofrecer una cirugía inicial con una laringectomía total o parcial extendida como alternativa a la RT.

Debido a que los tumores subglóticos en etapa temprana son raros⁵⁷, los datos que comparan la RT con la cirugía provienen principalmente de estudios observacionales⁵⁸. A modo de ejemplo, un estudio observacional de pacientes con enfermedad subglótica en etapa inicial tratados con RT sugirió una tasa de control local de aproximadamente el 65 % (15 de 23 pacientes), y muchos de los que desarrollaron enfermedad recurrente después de la RT pudieron recibir cirugía de rescate. Los tumores subglóticos primarios drenan a los ganglios prelaríngeos (Delphian) y pretraqueales, a los ganglios paratraqueales y yugulares inferiores y, en algunos casos, a los ganglios mediastínicos⁵⁹. Los pacientes que reciben RT en el tumor primario también deben recibir RT ganglionar electiva en los niveles IIA, III y IV y los ganglios del compartimiento anterior (nivel VI). Los pacientes sometidos a cirugía del tumor primario también deben ser tratados con disección ganglionar pretraqueal y paratraqueal bilateral, con o sin RT cervical posoperatoria⁶⁰.

ETAPA LOCAMENTE AVANZADA

Los tumores en esta etapa clínica tradicionalmente se han tratado con laringectomía total con o sin radioterapia post operatoria, la cual usualmente está indicada en caso de múltiples ganglios metastásicos, extensión extracapsular, invasión extra laríngea, invasión linfovascular y/o peri neural, márgenes estrechos o positivos. A través de la laringectomía total se resecan los tres niveles laríngeos con conservación de la luz faríngea, pero con la necesidad de realizar una traqueostomía definitiva. Debido a esto el tratamiento quirúrgico radical presenta disfunción permanente en la fonación.

La evolución de técnicas quirúrgicas ha permitido desarrollar laringectomías parciales que evitan la traqueostomía permanente y con preservación de la función laríngea parcial.

Por ello, se buscó la forma de preservar la función de la laringe con uso de quimioterapia y radioterapia, los primeros estudios que validaron esta posibilidad fue el estudio del Departamento

de Veteranos de Estados Unidos realizado en 1991, donde se obtuvo una preservación laríngea del 64% a los 2 años, sin diferencia la preservación laríngea mediante la supervivencia global. Otro estudio que busco la preservación laríngea mediante el uso de QT-RT en cáncer de laringe localmente avanzado fue el estudio RTOG 91-11 reportado en 2003, donde se presentó un mayor control locorregional con la QT-RT concomitante (78%) y la preservación laríngea a 10 años fue del 82% comparado con la quimioterapia de inducción seguida de radioterapia con un 68% y con radioterapia exclusiva fue de 64%.^{61, 62}

En el ensayo europeo, 194 pacientes con carcinoma de células escamosas del seno piriforme o del pliegue aritenopiglótico en estadio II a IV se asignaron al azar para recibir quimioterapia de inducción con cisplatino más fluorouracilo, seguida de RT definitiva o cirugía (laringectomía total con faringectomía parcial), seguida de RT postoperatoria ⁶³. Los pacientes que no lograron una respuesta completa a la quimioterapia de inducción se sometieron a cirugía de rescate y RT posoperatoria; en una mediana de seguimiento de 10.5 años, no hubo diferencias significativas en los resultados de supervivencia o patrones de fracaso. Las probabilidades de supervivencia libre de progresión a 10 años para los brazos de quimioterapia más RT definitiva y de cirugía fueron del 11 y el 9%, respectivamente. Las probabilidades generales de supervivencia a los 10 años fueron del 13 y el 14%, respectivamente. Las probabilidades de 5 y 10 años de estar vivo con una laringe funcional fueron 21.9 y 8.7%, respectivamente, en el brazo de preservación de laringe; sin embargo, para aquellos pacientes vivos a los 5 y 10 años, el 59.5% (22/37) y el 62.5% (5/8) mantuvieron una laringe normal, respectivamente.

Luego de la demostración del beneficio con la quimioterapia de inducción seguida de RT, varios ensayos posteriores evaluaron la administración simultánea de quimioterapia con RT, quimioterapia de inducción y quimioterapia de inducción seguida de QT-RT secuencial.

De los estudios que han evaluado los esquemas de quimioterapia, el Metaanálisis de Pignon et al, 2009, se observó que el mayor beneficio es con la asociación de CDDP con radioterapia concomitante.⁶⁴ En los esquemas de inducción, se ha obtenido que la adición de taxanos al esquema de CDDP-5FU ha incrementado la sobrevida global y el control locorregional. Los más relevantes son el estudio de GORTEC 2009 y el de Posner, et al 2007.⁶⁵

Cirugía de preservación de la laringe: los enfoques quirúrgicos que preservan la laringe, usados en combinación con radioterapia posoperatoria o QT-RT, pueden brindar una opción de tratamiento alternativa para pacientes con enfermedad avanzada debido a la carga de los ganglios del cuello, pero con lesiones primarias pequeñas en etapa T. En casos cuidadosamente

seleccionados, estos enfoques pueden proporcionar un control local efectivo mientras se mantiene la función laríngea sin laringectomía total y una estoma permanente.

En el pasado, la laringectomía parcial transcervical, con o sin RT posoperatoria o QTRT, se ha utilizado en pacientes seleccionados como una alternativa funcional a la laringectomía total o la QT-RT⁶⁶

Laringectomía total: Se asocia con mejores tasas de supervivencia y calidad de vida para algunos pacientes con lesiones T3 extensas o T4a grandes y/o función laríngea pretratamiento deficiente. Además, con frecuencia se necesita una laringectomía total para tratar la enfermedad recurrente después de la QT-RT.

Las complicaciones del tratamiento del cáncer avanzado de cabeza y cuello de laringe e hipofaringe incluyen problemas vocales, de deglución y de las vías respiratorias; pérdida del gusto y el olfato; fístula; lesiones de los nervios craneales y de los nervios espinales accesorios; lesiones y eventos vasculares; fibrosis; condrorradionecrosis; e hipotiroidismo⁶⁷.

2- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer de laringe es de las neoplasias más frecuentes de cabeza y cuello, a pesar de la evolución en el tratamiento multimodal, la tasa de supervivencia no se ha visto incrementada, además de que el tratamiento condiciona afección de la calidad de vida y de la función laríngea. Se han descrito como factores etiológicos principales el tabaquismo y el alcoholismo; sin embargo, el papel del VPH como factor pronóstico en esta patología aún es controversial, a diferencia de lo encontrado en el carcinoma epidermoide de orofaringe, donde se asocia a un pronóstico favorable y mejor respuesta al tratamiento.

En México, existen pocos estudios que evalúen la frecuencia de VPH en esta patología y su relación como factor pronóstico en todas las etapas, pero sobre todo en etapa temprana.

Por lo antes mencionado, es relevante la investigación del virus del papiloma humano, conocer su frecuencia, así como su valor como factor pronóstico y predictivo en el carcinoma epidermoide de laringe ya que lo anterior nos permitiría encontrar un grupo de pacientes con mejor pronóstico.

3- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia del Virus del Papiloma Humano en pacientes con carcinoma epidermoide de laringe tratados con manejo conservador en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI?

4- JUSTIFICACIÓN

El Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, es un hospital de concentración de pacientes de diferentes estados del país, en donde el carcinoma epidermoide de laringe representa alrededor del 30% de los casos reportados, es una de las patologías con más frecuencia en cáncer de cabeza y cuello.

Sabemos que los carcinomas escamosos de orofaringe VPH positivos son entidades clínicas y biológicas distintas a los VPH negativo, sin embargo en sitios distintos a orofaringe como es el caso del laringe es aún tema de debate, por lo anterior la importancia de determinar la frecuencia de este virus en nuestra población en los carcinomas de laringe pero en particular en etapa temprana, donde los pacientes se someten a manejo conservador para determinar si los casos positivo tienen una relación con una respuesta favorable al tratamiento.

5- OBJETIVOS

A. General

Determinar la frecuencia de VPH en pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de laringe tratados con manejo preservador en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, mediante PCR y expresión de p16 INK4a

B. Específicos

- 1.- Determinar las características clínicas de los pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de laringe en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- 2.- Describir las características histopatológicas como variante histológica y grado de diferenciación de los pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de laringe en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- 3.- Describir la modalidad de tratamiento recibido en los pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de laringe con manejo conservador en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- 4.- Describir la dosis total y tipos de fraccionamiento de los pacientes con carcinoma epidermoide de laringe que recibieron tratamiento de radioterapia como manejo conservador.
- 5.- Determinar la Periodo Libre de Enfermedad (PLE) y Sobrevida Global (SG) en los pacientes con carcinoma epidermoide de laringe tratados con manejo preservador en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI y su relación con el virus del papiloma humano.

6- MATERIAL Y MÉTODOS

Es un estudio retrospectivo que evaluó pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de laringe que recibieron alguna modalidad de tratamiento quirúrgico (biopsia o cirugía radical) en el periodo de 1 de enero de 2017 al 31 de diciembre de 2019 en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, posterior a la aprobación del proyecto (Registro **R-2017-3602-31**) se obtuvo el tejido embebido en bloques de parafina del servicio de patología y se capturó la información del expediente clínico. Las características clínico-patológicas se obtuvieron del archivo clínico del hospital y del archivo de registros del servicio de patología. La información dosimétrica de los tratamientos con radioterapia se obtuvo del sistema de planeación del servicio de radioterapia.

Criterios de selección

a. Criterios de inclusión

- ✦ Pacientes de cualquier sexo
- ✦ Edad igual o mayor de 18 años
- ✦ Pacientes con diagnóstico por estudio histopatológico de carcinoma epidermoide primario de laringe de cualquier etapa clínica
- ✦ Pacientes que hayan recibido alguna modalidad de tratamiento conservador en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI
- ✦ Pacientes que cuente con tejido tumoral embebido en parafina en el departamento de patología, con muestra biológica con al menos 50% de tejido tumoral para ser procesado mediante PCR

b. Criterios de exclusión

- ✦ Pacientes que no sea posible contar con el bloque de parafina de tejido tumoral o que no sea suficiente para su procesamiento
- ✦ Pacientes que no cuenten con información clínica en el archivo

Descripción del Estudio Clínico y Molecular

Análisis Molecular

El desarrollo de las pruebas moleculares se llevó a cabo en el laboratorio de Oncología Molecular de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas (UIMEO) contando con financiamiento por parte de Fondos Sectoriales Salud de CONACyT 2017 número 290427.

Estudio de VPH

- Se realizaron cortes histológicos para extracción de DNA mediante el kit Wizard FFPE de kit ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System Wizard (Promega).

Posteriormente se realizó la detección de VPH mediante el método HPV DIRECT FLOW CHIP KIT, basado en PCR e hibridación reversa con sondas específicas para identificar 37 genotipos, incluidos de alto riesgo 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82 y de bajo riesgo 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 81, 84 y 89.

Inmunohistoquímica para p16^{INK4a}

- Se realizó la detección de p16^{INK4a} mediante inmunohistoquímica con el anticuerpo p16 CINTEC de Ventana (Peroxidase).
- Los casos se consideraron p16^{INK4a} positivos cuando presentaron reactividad nuclear y/o citoplasmática intensa de acuerdo con los siguientes parámetros: 0 (no tinción), 1 (1-10% de células tumorales positivas), 2 (11-40% positivo), 3 (40- 70% positivo) y 4 (>70% positivo). El término sobreexpresión de p16^{INK4a} se definirá como un grado 3 o 4.

Para propósito de este estudio se toma como casos de VPH positivo la expresión p16^{INK4a} y la presencia de ADN viral por PCR.

Y los datos clínicos se obtuvieron de los expedientes clínicos físicos de los pacientes y del expediente electrónico, siempre se mantuvo la confidencialidad y privacidad de los pacientes.

Análisis estadístico

El análisis estadístico descriptivo e inferencial se realizó con el apoyo Microsoft Excel y de Graph Prism v.8.2, de las principales variables dependientes e independientes; se realizaron pruebas de normalidad y Kolmogórov-Smirnov. Se evaluó mediante gráficas de Kaplan Meier la Sobrevida Libre de Enfermedad (SLE) y Sobrevida Global (SG) considerando diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.05$. Además, en la obtención del índice tabáquico el número de cigarrillos consumidos por día se dividió entre 20 y posteriormente se multiplicó por el total de años que haya fumado.

Aspectos éticos:

El presente estudio se apega al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (DOF 02 04 2014). Declaramos este estudio sin riesgo (artículo 17), donde no se modifica o realiza intervención a los pacientes. Se trata de un estudio de revisión retrospectiva de expedientes y análisis de las muestras de pacientes de los archivos de patología; que ya fueron previamente diagnosticados y tratados de acuerdo con los criterios clínicos y guías de práctica clínica vigentes. Se mantuvo la privacidad y confidencialidad de los pacientes incluidos. Para garantizar la anonimización de la información, se asignó un código de registro. No se divulgará en presentaciones o documento alguno, el nombre ni datos personales de los casos seleccionados. Los procedimientos obtenidos en este trabajo son de carácter científico para conocer las características biológicas y clínicas de los pacientes. Los resultados del estudio no modifican a modificarán el proceso de atención de los pacientes incluidos en el análisis.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que en el desarrollo del trabajo no existe conflicto de intereses.

Definición de las variables:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional/escala	Tipo de variable
Género	Condición orgánica distintiva entre hombre y mujer	Masculino Femenino	Cualitativa nominal
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento al diagnóstico	Años	Cualitativa discreta
Comorbilidades	Presencia de uno o más enfermedades crónico-degenerativas diferentes al diagnóstico oncológico en un mismo paciente	-Hipertensión Arterial Sistémica -Diabetes Mellitus -Enfermedad Pulmonar Obstructiva -Cardiopatía -Otros	Cualitativanominal
Tabaquismo	Práctica de fumar o consumir tabaco en alguna de sus presentaciones (cigarro, puro, pipa).	Si No	Cualitativadicotómica
Ingesta de Alcohol	Consumo de bebidas alcohólicas en alguna de sus presentaciones.	Si No	Cualitativadicotómica
Etapa clínica	Clasificación del cáncer en etapas en función del tumor primario (tamaño e invasión local) y de su extensión a otros órganos (afectación ganglionar o metastásica).	De acuerdo con la definición de la clasificación AJCC 8ª edición.	Cualitativa ordinal
Variedad histológica	Clasificación en acuerdo a características morfológicas de los tejidos tumorales.	Escamoso Adenoescamoso Basaloide Verrucoso	Cualitativanominal
Grado histológico	Se trata de un análisis cuantitativo de la diferenciación del tumor, que se expresa como grado de parecido de las células tumorales con el tejido sano. Esto puede referirse a la apariencia de las células o al porcentaje de células que están dividiéndose.	G1 Bien diferenciado G2 Moderadamente diferenciado G3 Poco diferenciado	Cualitativa ordinal
Sitio y subsitios anatómicos	Mediante la exploración física y estudios de imagen (TC, RM o PET-CT), así como nasofibrolaringoscopia se identifica el sitio de tumor	Laringe 1.-Supraglotis 2.-Glottis 3.-Subglottis	Cualitativa nominal

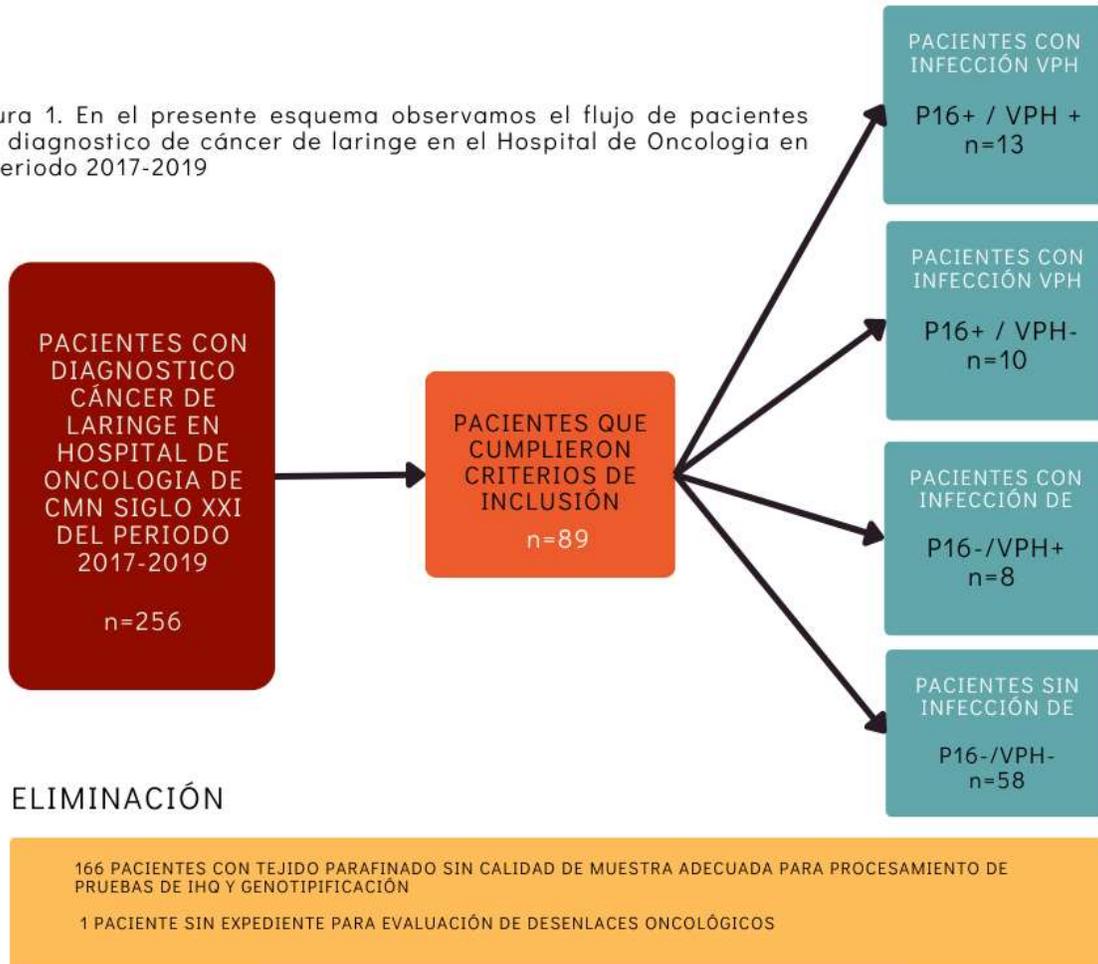
ECOG	<p>Escala internacional utilizada en oncología para valorar el estado general del paciente y consideradas como la forma estándar de medir la capacidad de los pacientes con cáncer de realizar tareas rutinarias.</p>	<p>0 Asintomático. Capaz de llevar a cabo actividad normal.</p> <p>1 Sintomático. Restricción en su actividad física diaria pero totalmente ambulatorio</p> <p>2 Sintomático. Encamado < 50% del día. Capaz de cuidarse, pero incapaz de llevar a cabo actividad física o laboral normal.</p> <p>3 Encamado > 50% del día. Requiere atención ocasional.</p> <p>4 Encamado el 100% del día. Invalidez severa.</p> <p>5 Muerto</p>	Cualitativa ordinal
Modalidad de tratamiento	Tipo de tratamiento para fines de beneficio de Control tumoral y/o sistémico.	<p>1. Cirugía</p> <p>2. Radioterapia</p> <p>3. Quimioterapia</p> <p>4. Terapia Blanco</p>	Cualitativa Nominal
Estatus del VPH-AR (ALTO RIESGO) VARIABLE INDEPENDIENTE	Presencia VPH de alto riesgo determinado por PCR	Presente Ausente	Cualitativa Dicotómica
Expresión de p16^{INK4a}	<p>Se considerarán p16 positivos aquellos casos en los que se demuestre reactividad intensa nuclear y/o citoplasmática, con un patrón igual o mayor a 50%, los grados para evaluar la inmunorreactividad para p16 son: 0 (no tinción), 1 (1-10% células tumorales positivas), 2 (11-40% positivo), 3 (40-70% positivo) y 4 (mayor a 70% positivo), el término sobreexpresión de p16 se define como grados de 3 y 4, los cuales tomaremos como positivos para este estudio.</p>	<p>Grado 0</p> <p>Grado 1</p> <p>Grado 2</p> <p>Grado 3</p> <p>Grado 4</p>	Cualitativa Ordinal

Tipo de Radioterapia	Técnica que se empleó en la planeación del tratamiento con radioterapia.	1. 3DC 2. IMRT 3. VMAT	CualitativaNominal
Esquema de radioterapia	Dosis total de radiación ionizante medida en Grays y número de fracciones en las que se divide para ser otorgada en cada día de tratamiento. Se define como fraccionamiento convencional cuando la dosis por fracción va de 1.8-2 Gy/día o 180-200cGy/día, 5 días a la semana. Cuando las fracciones son mayores a 2 Gy/día, durante 5 días por semana, se define como hipofraccionamiento.	1. Convencional 2. Hipofraccionado	CualitativaNominal
Periodo libre de enfermedad	Tiempo transcurrido desde la desaparición de la evidencia clínica, radiológica y analítica de la enfermedad tumoral de tumor primario hasta la recurrencia o fallecimiento del paciente	Meses	Cuantitativacontinua
Sobrevida global	Tiempo transcurrido entre el diagnóstico y la presentación del evento muerte.	Meses	Cuantitativa continua

7- RESULTADOS

En la unidad del Hospital de Oncología en el periodo 2017-2019 se encontró 257 pacientes con diagnóstico de cáncer de laringe, pero se eliminaron para el análisis de este estudio 166 por material insuficiente o de baja calidad para el análisis de determinación de VPH, como se muestra en la figura 1.

Figura 1. En el presente esquema observamos el flujo de pacientes con diagnóstico de cáncer de laringe en el Hospital de Oncología en el periodo 2017-2019



Las características clínicas de los pacientes analizados se observan en la tabla 1 (véase).

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	N=89 PACIENTES (100%)
EDAD	MEDIANA 68 PROMEDIO: 68.41 (RANGO 47-91 AÑOS)
H:M	16.8:1
TABAQUISMO -NO FUMADORES -FUMADORES	18 (20.22%) 71 (79.7%)
ÍNDICE TABÁQUICO	<10: 37 (41.57%) >= 10: 52 (58.43%)
CONSUMO DE ALCOHOL -SÍ -NO	76 (85.40%) 13 (14.60%)
COMORBILIDADES -NO COMORBILIDADES -DIABETES MELLITUS -HIPERTENSIÓN ARTERIAL	37 (41.57%) 12 (13.48%) 33(37.07%)
ESTADO FUNCIONAL -ECOG 0 -ECOG 1 -ECOG 2 -ECOG 3	5 (5.61%) 67 (75.28%) 16(17.97%) 1(1.2%)

La mediana de edad de los pacientes con diagnóstico de cáncer de laringe es de 68 años con predominio en pacientes fumadores (79.7%), y que consumen alcohol (85.4%); sin comorbilidades y estado funcional ECOG 1.

CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS

El subsitio predominante fue transglótico con el 57.3% y posteriormente en frecuencia el subsitio glótico; en el 64.04% se presentó grado 2 de diferenciación, pero se encontró en el 8.98% grado no especificado. En este periodo evaluado las etapas consideradas como manejo conservador fueron de la etapa clínica I-II en el 20.22%, el 60.67% fue sometido a biopsia.

En el 65.16% presentaron invasión perineural y en 61.8% la invasión linfovascular no se determinó en relación con el tipo de muestra.

Tabla 2. Características histopatológicas.

CARACTERÍSTICAS	N=89 PACIENTES (100%)
<u>TAMAÑO</u>	
<2 cm	50 (56.17%)
≥2 cm	39 (43.82%)
<u>SUBSITIO</u>	
GLOTICO	27 (30.33%)
SUPRAGLOTICO	8 (8.98%)
SUBGLOTICO	3 (3.37%)
TRANSGLOTICO	51(57.30%)
<u>GRADO</u>	
GRADO 1	19 (21.34%)
GRADO 2	57 (64.04%)
GRADO 3	5 (5.62%)
NO ESPECIFICADO	8 (8.98%)
<u>ETAPA CLINICA</u>	
I	14 (15.73%)
II	4 (4.49%)
III	19(21.34%)
IVA	42 (47.19%)
IVB	8 (8.98%)
IVC	2 (2.24%)

<p><u>TIPO DE RESECCIÓN</u></p> <p>RO</p> <p>R1</p> <p>NO APLICA POR SER BIOPSIA</p>	<p>28 (31.46%)</p> <p>7 (7.86%)</p> <p>54 (60.67%)</p>
<p><u>ESTADO GANGLIONAR PATOLOGICO</u></p> <p>N0</p> <p>N1</p> <p>N2</p> <p>N3</p>	<p>62 (69.66%)</p> <p>11 (12.35%)</p> <p>13 (14.60%)</p> <p>3 (3.37%)</p>
<p><u>INVASION PERINEURAL</u></p> <p>AUSENTE</p> <p>PRESENTE</p> <p>NO SE DETERMINA</p>	<p>25(28.09%)</p> <p>6 (6.74%)</p> <p>58(65.16%)</p>
<p><u>INVASION LINFOVASCULAR</u></p> <p>AUSENTE</p> <p>PRESENTE</p> <p>NO SE DETERMINA</p>	<p>24 (26.96%)</p> <p>10 (11.23%)</p> <p>55 (61.80%)</p>

DISTRIBUCION DE PACIENTES POR ETAPA Y SUBSITIO

En 18 pacientes se propuso manejo con intención conservadora en, en los demás grupos el subsitio transglótico fue predominante y se trataron de acuerdo con las guías internacionales americanas NCCN 2017.

Tabla 3. Se observa en negritas las etapas subsitio glótico que fueron candidatos a manejo conservador. Abreviaturas: EC= Etapa Clínica.

ETAPA CLÍNICA	GLÓTICO n= 27 (30.33%)	SUPRAGLÓTICO n=8 (8.9%)	SUBGLÓTICO n=3 (3.37%)	TRANSGLÓTICO n=51 (57.30%)
EC I n=14	11(78.58%)	0 (0%)	0%	3 (21.42%)
EC II n=4	2 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)
EC III n=19	9(43.76%)	2 (10.53%)	1 (5.26%)	7 (36.85%)
EC IVA n=42	4 (9.52%)	5 (11.90%)	2 (4.76%)	31 (73.81%)
EC IVB n=8	0 (0%)	1 (12.5%)	0 (0%)	7 (87.5%)
EC IV C n=2	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)

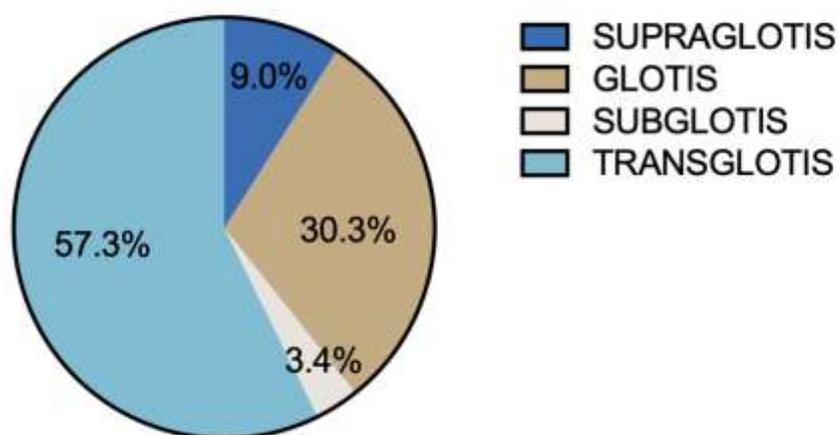


Figura 2- Distribución de los pacientes por frecuencia en porcentaje de cada subsitio.

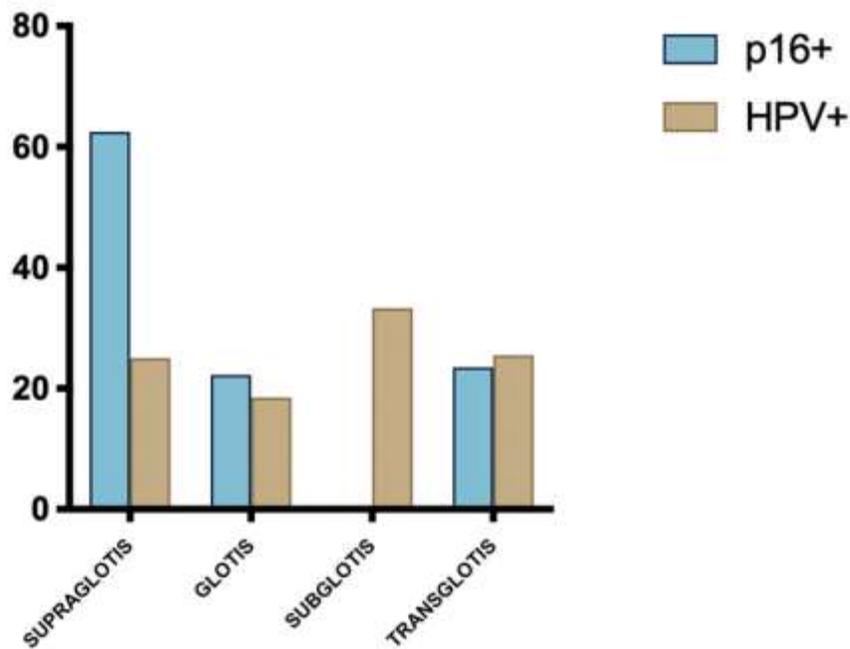


Figura 3- Distribuci3n de los pacientes por frecuencia en relaci3n con la presencia de VPH e inmunoreactividad de p16+ en acuerdo a cada subsitió.

PRESENCIA DE VPH POR ETAPA CLINICA

En este estudio observamos que la mayor frecuencia de pacientes con infecci3n de VPH estuvo presente en la etapa IVA y posteriormente en frecuencia en la etapa III y IVB, con predominio de subsitió transgl3tico para las etapas IV.

Tabla 4. En esta tabla observamos la distribuci3n de la infecci3n de VPH por etapa cl3nica. Abreviaturas: EC= Etapa Cl3nica.

ETAPA CLINICA	VPH POSITIVO (n=21)	VPH NEGATIVO (n=58)
EC I	3 (21.42%)	11 (78.57%)
EC II	2 (50%)	2 (50%)
EC III	5 (26.31%)	14 (73.68%)
EC IVA	16 (38.09%)	26 (61.90%)
EC IVB	4 (50%)	4(50%)
ECV IVC	1 (50%)	1 (50%)

Tabla 5. En esta tabla observamos la distribución de la infección de VPH, según el estatus de P16 por etapa clínica. Abreviaturas: EC= Etapa Clínica.

ETAPA CLINICA	P16 +/ VPH+ n=13 (14.60%)	P16+ / VPH- n=10 (11.23%)	P16 -/ VPH+ n=8 (8.89%)	P16 - / VPH - n= 58 (65.16%)
EC I	2 (14.28%)	0 (0%)	1 (7.14%)	11 (78.57%)
EC II	2 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)
EC III	0 (0%)	4 (21.05%)	1 (5.2%)	14 (73.68%)
EC IVA	7 (16.6%)	4 (9.52%)	5 (11.90%)	26 (61.90%)
EC IVB	2 (25%)	2 (25%)	0 (0%)	4 (50%)
EC IVC	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)

PRESENCIA DE VPH POR GRUPO ETARIO EN TODAS LAS ETAPAS CLINICAS

La mayoría de los pacientes VPH positivos y negativos se encontraban en el grupo de etario de 71 a 80 años con el 35.48% y el 36.20% respectivamente.

Tabla 6. Se observa la presencia de infección de VPH por grupo etario.

EDAD	VPH POSITIVO n=31	VPH NEGATIVO n= 58
<60	6 (19.35%)	14 (24.13%)
61-70	10 (32.25%)	18 (31.03%)
70-80	11 (35.48%)	21 (36.20%)
>80	4 (12.90%)	5 (8.62%)

EDAD	VPH POSITIVO n=5	VPH NEGATIVO n= 13
<60	1 (20%)	3(23.07%)
61-70	1 (20%)	4 (30.76%)
70-80	2 (40%)	5 (38.46%)
>80	1 (20%)	1 (7.69%)

Tabla 7. Presencia de VPH por grupo etario en pacientes con diagnóstico de etapa temprana.

PACIENTES EN MANEJO CONSERVADOR

En acuerdo al periodo evaluado la clínica de pacientes con cáncer de laringe que se consideraron con manejo conservador fue de subsitio glótico y excluyendo a pacientes que tenían características de mal pronóstico regional y a distancia. En la tabla 8 observamos que existió mayor proporción de pacientes en la etapa I, y la mayoría de los pacientes en la etapa I fueron negativos a VPH.

Tabla 8. Observamos la distribución de los pacientes en acuerdo a la infección de VPH, solo en etapa I y II.

RESULTADO DE VPH	POSITIVO (5) (27.78%)	NEGATIVO (13) (72.22%)
ETAPA CLINICA I	3 (60%)	11 (84.61%)
ETAPA CLINICA II	2 (40%)	2 (15.38%)

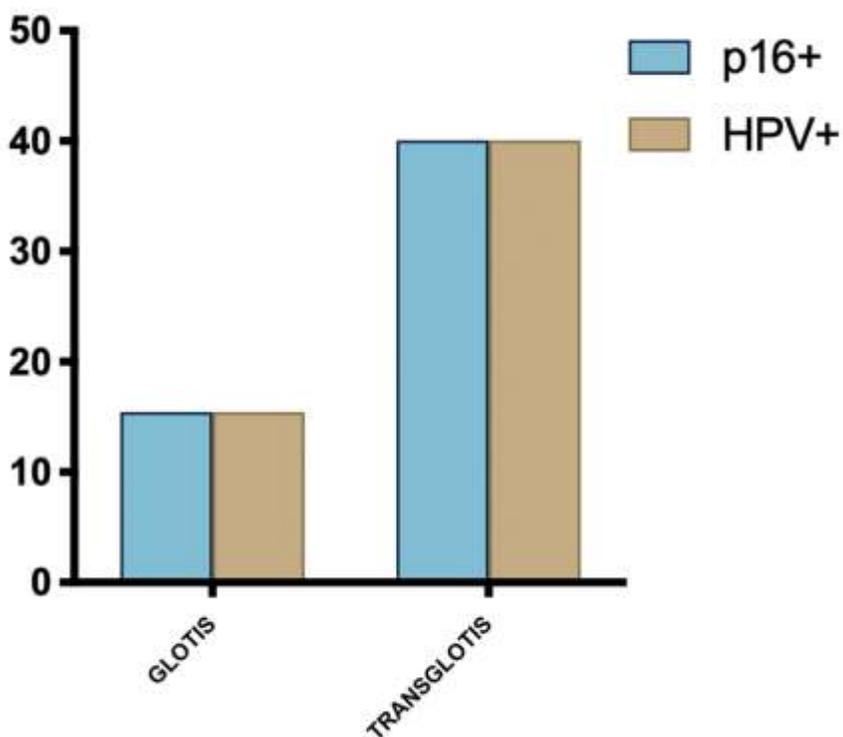


Figura 4- Distribución de los pacientes con etapificación I y II por frecuencia en porcentaje, en relación con la presencia de VPH e inmunoreactividad de p16+ en acuerdo a cada subsitio.

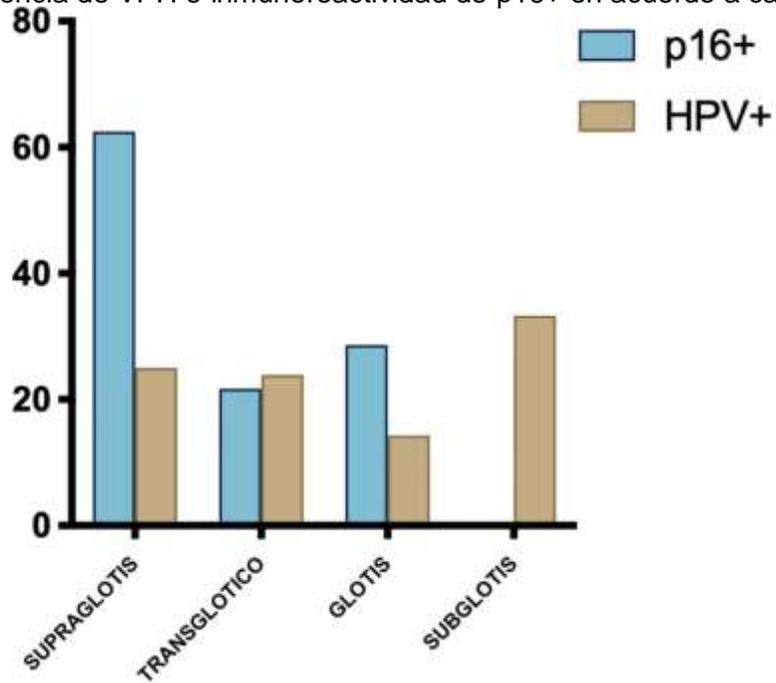
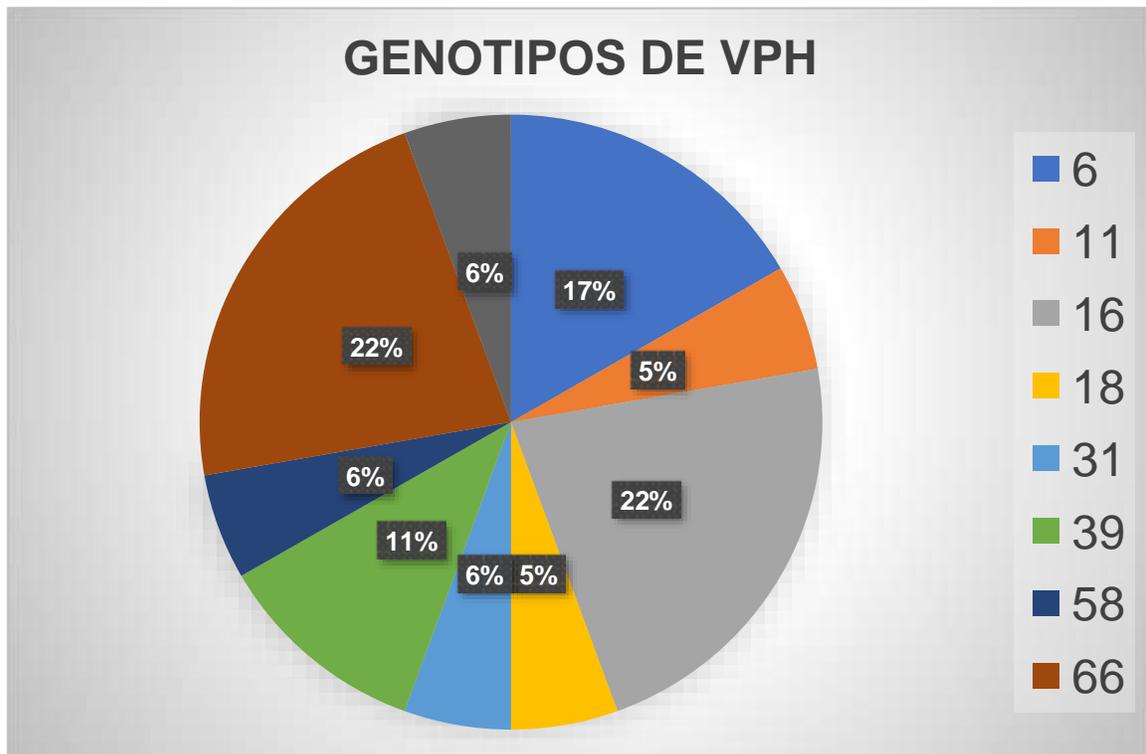


Figura 5- Distribución de los pacientes de etapificación global por frecuencia expresada en porcentaje, en relación con la presencia de VPH e inmunoreactividad de p16+ en acuerdo a cada subsitio.



Gráfica 1- Distribución global de los casos incluido por genotipo de VPH.

En la gráfica 1, se muestra que los genotipos encontrados en las muestras con VPH+ los cuales fueron 21, en orden de frecuencia fueron el 16, 66 y 6, y el resto de los genotipos se encontraron en menor frecuencia con al menos algún caso (11, 18, 31, 58 y 69).

Tabla 9- Genotipos de VPH en etapa temprana.

RESULTADO DE VPH	POSITIVO (5) (27.78%)	GENOTIPO
ETAPA I	3 (50%)	11, 58, 66
ETAPA II	2 (50%)	16

En el caso de las etapas tempranas encontramos 5 pacientes con VPH positivos, de los cuales se pudieron determinar 4 genotipos: 11, 58, 66 en EC I y 16 en EC II.

CARACTERISTICAS DEL MANEJO CONSERVADOR

Los pacientes fueron sometidos a diferentes manejos mínimamente invasivos como se muestra en la siguiente tabla y se observa que en referente a las características del tratamiento con radioterapia la mediana de dosis otorgada fue de 66GY con modalidad conformal 3D como la más frecuente, así como en fraccionamiento convencional. El uso de esquemas de quimioterapia se observó en cuatro pacientes por progresión en su mayoría y recurrencia como se desglosa en el siguiente cuadro.

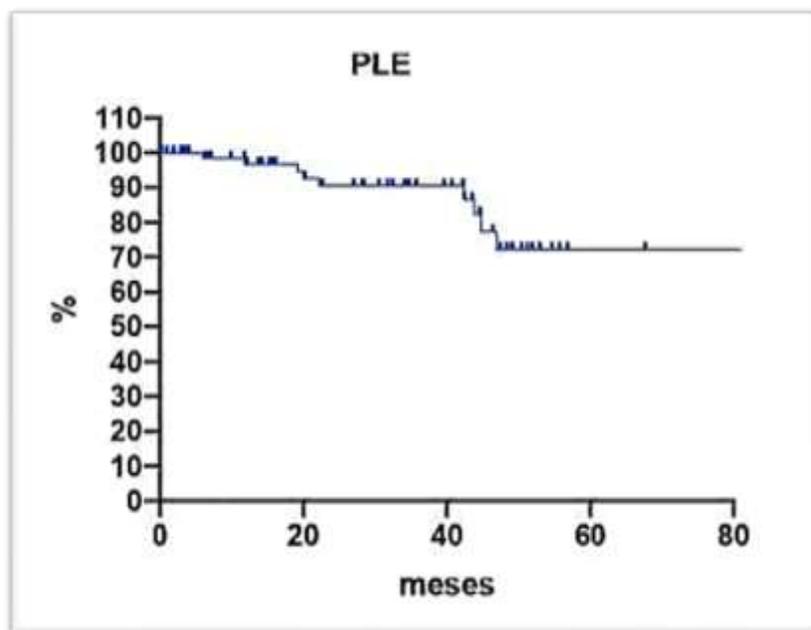
Tabla 10. Manejo multimodal en los pacientes en etapa I y II.

MANEJO MULTIDISCIPLINARIO		n=18
TRATADOS CON MANEJO QUIRURGICO -LARINGECTOMIA SUBTOTAL		2 (11.11%)
TRATADOS CON MANEJO RADICAL CON RADIOTERAPIA		16 (88.88%)
DOSIS OTORGADA		Mediana= 66Gy (Rango 63-70Gy)
MODALIDAD DE PLANEACION -VMAT -3D CONFORMAL		5 (31.25%) 11 (68.75%)
FRACCIONAMIENTO -CONVENCIONAL -HIPOFRACCIONAMIENTO		11 (68.75%) 5 (31.25%)
RE IRRADIACION DOSIS OTORGADA -60Gy/30 Fracciones -69Gy/33 Fracciones		2(12.5%) 1 (6.25%) 1 (6.25%)

<p align="center">ESQUEMA DE QUIMIOTERAPIA POR RECURRENCIA O PROGRESION</p> <p align="center">-CARBOPLATINO, PACLITAXEL, CETUXIMAB</p>	<p align="center">4 (26.6%)</p>
---	---------------------------------

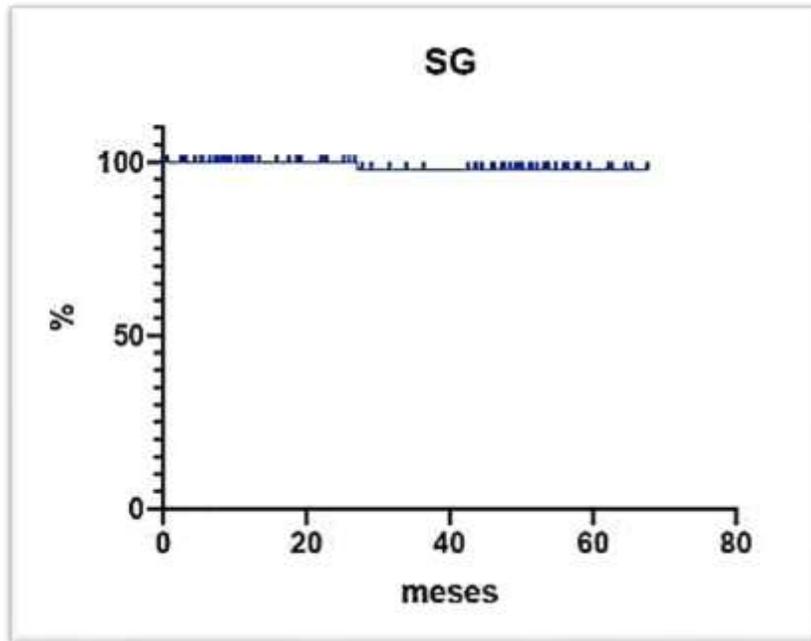
ANALISIS DE PERIODO LIBRE DE ENFERMEDAD Y SOBREVIDA GLOBAL

Grafica 2. Período Libre de Enfermedad en todas las etapas clínicas sin estratificación por presencia de VPH/P16.



Observamos la sobrevida libre de enfermedad de todos los pacientes sin distinción de etapa clínica, en la mayoría del 72% a 60 meses, no se alcanzó la mediana por el periodo observado para este estudio.

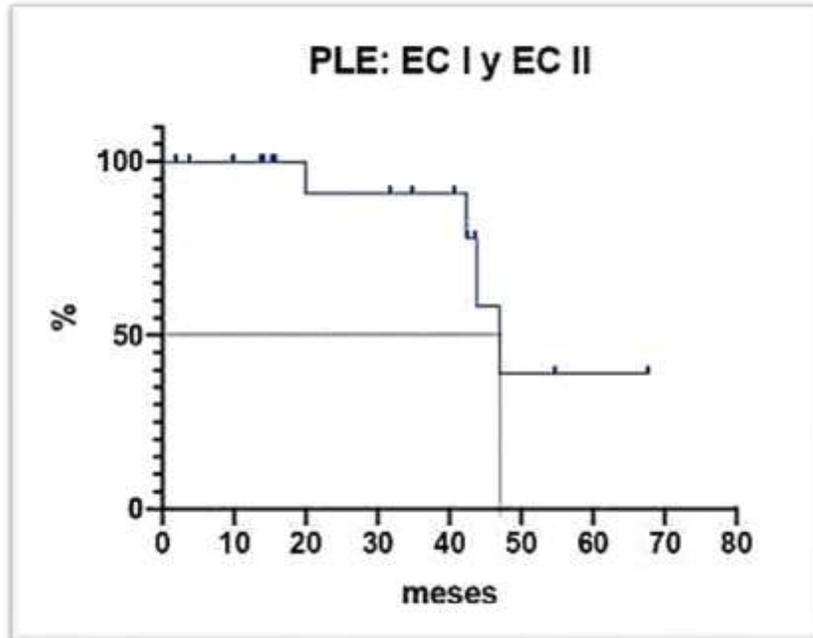
Grafica 3. Supervivencia global en todas las etapas clínicas sin estratificación por presencia de VPH/P16.



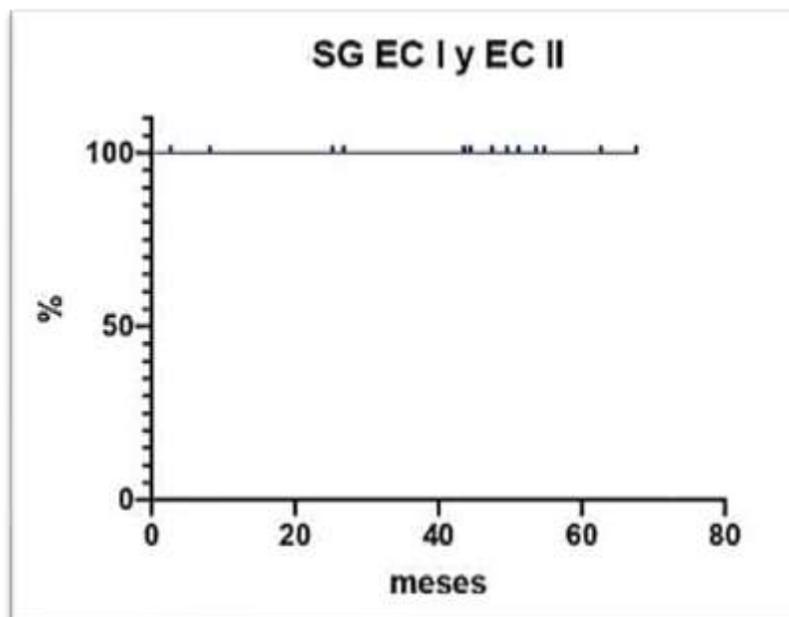
En relación con la sobrevida global se observó que la mediana no fue alcanzada por el período de seguimiento, observándose la tendencia en la mayoría de los pacientes del 95% a 70 meses.

En el análisis por subgrupo, las etapas I y II presentaron en el 50% de los pacientes un periodo libre de enfermedad de 48 meses (mediana), como se observa en la gráfica 5.

Grafica 4- Período Libre de Enfermedad en EC I – II, sin estratificación por la presencia de VPH/P16

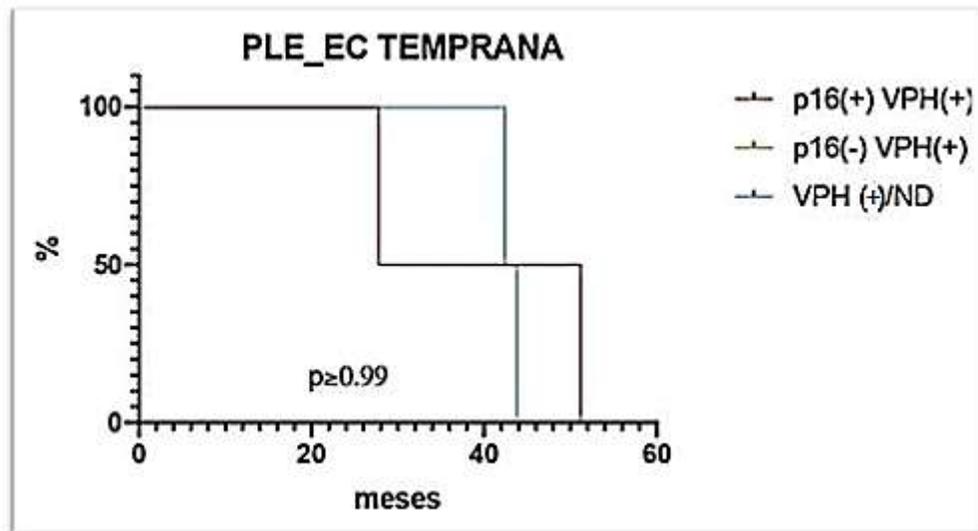


Grafica 5- Sobrevida global EC I y II sin estratificación de VPH/p16.



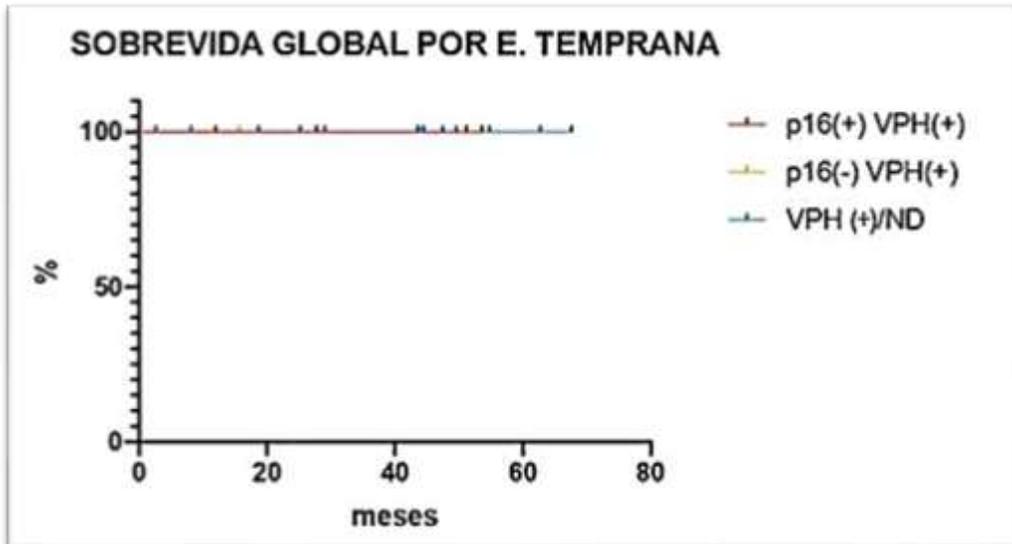
El 98% de los pacientes en etapa temprana tiene una sobrevida global a 75 meses, sin estratificación por presencia de VPH. En la presente figura se observa los tres grupos en acuerdo

al estado de presencia o ausencia de VPH, inmunoreactividad a p16, no observamos diferencia estadísticamente significativa, comparado por el análisis de Gehan- Breslow- Wilcoxon



Grafica 6- Periodo Libre de Enfermedad por estratificación por presencia de VPH en etapa clínica temprana.

En el análisis inferencial por estado de presencia o ausencia de VPH y determinación por inmunohistoquímica de las muestras de los pacientes con diagnóstico de cáncer de laringe de etapa temprana se observó una mediana de periodo libre de enfermedad de 39.5 meses en pacientes con la presencia de inmunoreactividad a la determinación de p16 y presencia de VPH. En el grupo de pacientes con ausencia de VPH y ausencia de inmunoreactividad a p16 se observó una mediana de periodo libre de enfermedad de 43.1 meses, y no se alcanzó la mediana en el grupo de paciente con presencia de VPH y p16.

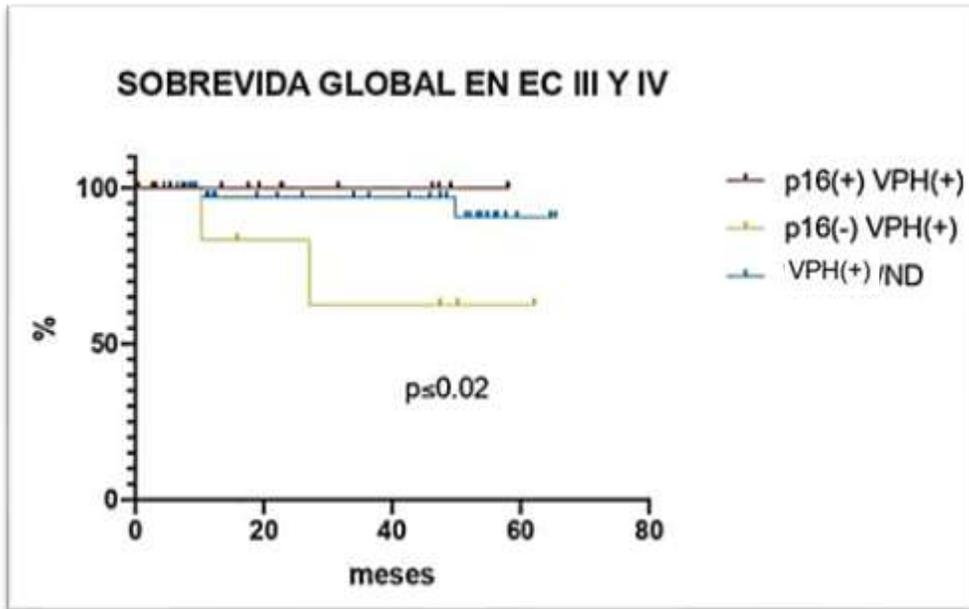


Grafica 7- Supervivencia Global en acuerdo a presencia de VPH en etapa clínica temprana:
 Observamos que no existe diferencia significativa en la supervivencia global según el estatus de VPH/P16 y en los casos de ND.

La mediana del periodo libre de enfermedad en etapa tardía con P16+/VPH+ fue de 19.3 meses y menor a pacientes con P16-/VPH+ que se observó de 27.1 meses, y en contraste con el grupo P16+VPH ND que alcanzó 52 meses.



Grafica 8- Período Libre de Enfermedad según VPH en etapa clínica III y IV.



Grafica 9- Se observa la supervivencia global en acuerdo a la presencia de VPH en EC III y IV.

En esta gráfica 9 se encontró que no se alcanzaron a observar las medianas de supervivencia global de los pacientes p16+/VPH+ como en el grupo de VPH/ No Determinado inclusive hasta los 68 meses, y tampoco en el grupo de p16-/VPH+ siendo menor estadísticamente significativo a los dos grupos previos mencionados por la presencia del 60% a los 62 meses.

8.DISCUSIÓN

Actualmente, a nivel mundial se ha observado que la presencia de la infección por el virus de papiloma humano de alto riesgo juega un papel relevante en el desarrollo y pronóstico de un grupo de carcinomas escamosos de orofaringe como factor pronóstico, pero en cáncer de laringe aún no ha quedado claro el impacto de la presencia de la infección por VPH como factor pronóstico o predictivo en esta entidad, por lo cual es de interés a nivel mundial. Los resultados de este trabajo no revelan un papel significativo en el periodo libre de enfermedad y sobrevida global en etapas tempranas como lo observamos en este presente estudio, pero la frecuencia encontrada de la infección por VPH correlaciona con estudios publicados en México, como el de Méndez-Matías, G. y colaboradores, publicado en 2021 reporta una frecuencia de infección del VPH+ con p16+ en una cohorte de 414 pacientes de cáncer de cabeza y cuello en nuestro país.²¹

Con respecto a las características clínicas de los pacientes encontramos que la edad media de presentación, así como el predominio en el sexo masculino que presentan consumo de tabaco y alcohol es congruente con lo reportado a nivel mundial.^{4,6,8}

Al diagnóstico el 79.77% de nuestros pacientes se encuentra en etapas localmente avanzadas (III-IV), siendo los pacientes candidatos a manejo conservador solo el 20.22%, lo anterior llama la atención pues es necesario implementar un diagnóstico oportuno para que médicos de primer y segundo nivel puedan identificar los signos y síntomas cardinales de esta neoplasia e iniciar un protocolo de estudio de forma temprana.

De la población que fue tratada con manejo conservador observamos que la modalidad de tratamiento preferida en nuestra unidad es mediante radioterapia en contexto radical en fraccionamiento convencional de 1.8 a 2 Gy por fracción, con dosis totales que van desde los 63-70Gy que se otorgan con técnicas de planeación avanzadas como 3D-C y IMRT, pues se conoce que otorga tasas de control local y sobrevida global equivalentes al tratamiento con cirugía^{45, 46, 47} conservando la funcionalidad de la laringe como órgano.

Es importante mencionar que la pérdida de la expresión de p16 por delección, mutación o hipermetilación es común en el cáncer de cabeza y cuello⁶⁸ y se asocia con peor pronóstico⁶⁹. Además, que la combinación con tabaco/alcohol parece estar asociado con la regulación a la baja

de p16 y mutaciones del gen TP53 que dan como resultado una sobreexpresión de p53⁷⁰. Similar al estado positivo de VPH, la expresión de p16 se ha correlacionado mejores resultados oncológicos. La sobreexpresión de p16 probablemente represente aquellos tumores en los que el VPH ha estado involucrado en el proceso carcinogénico⁷¹. El estado negativo para VPH16 se asocia con una supervivencia más pobre para todos los sitios de cáncer de cabeza y cuello incluso para el subgrupo de orofaringe, por lo tanto, en este tipo de neoplasias la su tipificación molecular para VPH es de relevancia clínica, los pacientes con p16 negativo/VPH negativo tienen una peor supervivencia.⁷² El estado discordante de p16 y VPH (p16 positivo/VPH negativo y p16negativo/VPH positivo) confiere una pobre supervivencia, pero con el conjunto de datos limitados es difícil determinar si p16 o el estado de VPH está impulsando este efecto.⁷³ En nuestros resultados encontramos que los pacientes con P16-/VPH+ en etapa tardías tiene una mediana de supervivencia menor que es estadísticamente significativa en comparación a los grupos de p16+/VPH+ y p16+/VPH-.

En etapas tempranas no se observó diferencia en la sobrevida global al momento de clasificar por grupos de expresión de p16 y VPH.

Es relevante mencionar que la evidencia es limitada con respecto a la frecuencia del VPH en cáncer de laringe y sobre todo en etapa temprana debido a la naturaleza de los estudios publicados por ser retrospectivos en su mayoría, como este estudio; pero la proporción que se observa de la presencia en cáncer de laringe ha sido reportada desde 0-80%, pero sin especificar en el subgrupo por etapificación o subsitio, para la relevancia implícita de la evolución de la enfermedad y resultados oncológicos.^{34,74}

En lo que respecta al valor pronóstico del VPH no se ha podido demostrar un beneficio en la sobrevida global, sin embargo, hay estudios que han demostrado beneficio en el control local y sobrevida libre de enfermedad, pero habiendo discordancia entre los estudios, la mayoría presentando tendencia a mejor control local y sobrevida libre de enfermedad, pero sin alcanzar significancia estadística.⁷⁵ Al momento no se ha publicado el papel de la presencia de VPH en pacientes candidatos a tratamiento conservador, por lo cual en el presente estudio observamos que la proporción de la presencia de VPH en este subgrupo fue del 27.78%.

Los hallazgos de este estudio, a pesar de la limitante de su naturaleza retrospectiva y de contar con una muestra pequeña por la pérdida de la información clínica y patológica, soportan la evidencia que sugiere que, en contraste con el papel del VPH en orofaringe, su rol en el cáncer de laringe aún es limitado, sin embargo, de acuerdo a la información actual no hay suficiente evidencia que sugiera que el cáncer de laringe asociado a VPH sea de comportamiento menos agresivo que el VPH negativo y que conduzca a mejores desenlaces oncológicos, esto también podría deberse al alto nivel de tabaquismo en ambas poblaciones que pudiera enmascarar el efecto benéfico del VPH.

Tabla 11. Evidencia en la literatura de VPH/p16 en cáncer de laringe.

AUTOR	CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO	ESTADO DE VPH	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Ryan T. Huges et al, 2019 USA	Estudio retrospectivo. Pacientes con cáncer primario de laringe o hipofaringe tratados consecutivamente con intención curativa entre mayo de 2010 y octubre 2018.	12/94(13%) muestras examinadas para VPH fueron positivos.	El VPH se detectó en el 13 % de los cánceres de laringe/hipofaringe A los 3 años, no hubo diferencias significativas en SG (72 %vs 83 %), SLE (60% vs 71%) LRC (80% vs 89%).	El VPH no parece afectar significativamente la supervivencia o el control de la enfermedad en pacientes con SCC de laringe o hipofaringe.
Sánchez Barrueco et al 2019, España	Estudio retrospectivo. 123 muestras fueron analizadas con diagnóstico de cáncer de laringe glótico que fueron tratados con cirugía entre 1977 y 2005.	El 39,02% fueron positivas para p16, pero solo el 11,38% fueron positivos tanto para p16 como para VPH.	La cohorte p16+ mostró una mejora significativa en la enfermedad libre supervivencia. Es mismo grupo tuvo menos recaídas durante el seguimiento.	La expresión de la proteína p16 fue un factor pronóstico para la supervivencia libre de enfermedad, sin recaídas después de 2 años
Tong et al 2018, China	Estudio retrospectivo. 211 muestras fueron analizadas de pacientes que se sometieron a tratamiento quirúrgico con diagnóstico de cáncer de laringe	132 muestras eran VPH+ en el análisis de PCR; de estos, 131 también eran VPH+ según el ensayo ISH. De las 211 muestras de pacientes 115(54%) dieron positivo para p16 por análisis IHC.	El 63.2% de los pacientes fueron positivos para la infección por VPH. El estado del VPH fue un factor pronóstico independiente para la supervivencia	Aunque la sobreexpresión de p16 se correlacionó en gran medida con la infección por VPH, p16 estuvo sujeto a la influencia de factores adicionales

PRESENTE ESTUDIO	<p>Estudio retrospectivo</p> <p>Se analizaron muestras de pacientes con diagnóstico de cáncer de laringe que se sometieron a cirugía o biopsia en el Hospital de Oncología del periodo de enero 2017-diciembre 2019</p>	<p>Se identificaron 257 pacientes, 89 examinados para VPH y 31 fueron positivos para VPH, ya sea por p16 o PCR, en etapa temprana encontramos 5/18 muestras positivas.</p>	<p>El VPH se detectó en el 34.83 % de los cánceres de laringe cualquier etapa clínica, con una prevalencia del 27.78% en etapa temprana</p> <p>No hubo diferencias significativas en SG, PLE en etapa temprana, sin embargo, se observó peor SG en pacientes con p16-</p>	<p>El VPH no parece afectar significativamente la supervivencia o el control de la enfermedad en pacientes con cáncer de laringe etapa clínica temprana.</p>
------------------	---	--	---	--

Aún no se logra evidencia que establezca la evaluación rutinaria del VPH en el carcinoma epidermoide de laringe, sin embargo, es importante caracterizar esta población por sus diferentes características sociodemográficas e histopatológicas, para la identificación y limitación de los factores de riesgo asociados, además de permitir a futuro la implementación de estrategias preventivas a través de la inmunización contra el VPH, por la evidencia de su papel en la carcinogénesis de muchos tipos de neoplasias.

Es importante mencionar que el enfoque de nuestro estudio fue determinar la frecuencia del VPH en etapas tempranas y realizar una descripción detallada de la modalidades de tratamiento utilizadas como manejo conservador, se dejaron fuera de nuestra muestra analizada etapas clínicas localmente avanzadas que pueden ser en casos muy seleccionados candidatos a manejo conservador (T3, N0, M0) para evitar sesgo en nuestro grupo de estudio, pues no todos los pacientes con esta etapificación se tratan con manejo conservador en nuestra unidad.

Se realizó una comparativa con etapas tardías en lo que respecta a la frecuencia de VPH para dar una perspectiva más completa del panorama en nuestro hospital, ya que la mayoría de los pacientes se diagnostican en etapa tardía. Cabe mencionar que este trabajo es una cohorte pequeña de pacientes dentro de una línea de investigación amplia que aún está reclutando pacientes y se enfoca sobre todo en pacientes de cáncer de cabeza y cuello y su relación con VPH que en próximos años brindara una perspectiva mas extensa.

9.-CONCLUSIONES

La prevalencia de VPH encontrada fue en todas las etapas clínicas fue del 34.83%, siendo el genotipo de VPH más frecuentes 6, 16 y 66. En el grupo de pacientes con cáncer de laringe en etapa temprana con manejo conservador fue en el 27.78% con presencia de genotipos 11,58,66 y 16. El sitio de mayor frecuencia fue el transglótico con 57.3%, aunque supraglóticos presentan

mayor expresión de p16, parece ser independiente de VPH, en etapas tempranas solo se presentó en los subsitios glótico y transglótico donde la expresión de p16 / VPH concuerdan, en etapas tardías el subsitio de mayor frecuencia de concordancia es la supraglotis.

El periodo libre de enfermedad del 50% de los pacientes a los 48 meses, sin diferencia por presencia de VPH en paciente etapa temprana candidatos a manejo conservador. Además, en etapa avanzada o tardía si se encontró diferencia de SG con peor pronóstico p16-VPH+.

10.-REFERENCIAS

1. Bates, J. E., Morris, C. G., Hitchcock, K. E., Dziegielewski, P. T., Mendenhall, W. M., & Amdur, R. J. (2019). Locally advanced hypopharyngeal and laryngeal cancer: Influence of HPV status. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, 140, 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2019.05.013>
2. Davidson, S. M., Ko, H. C., Harari, P. M., Wieland, A. M., Chen, S., Baschnagel, A. M., Kimple, R. J., & Witek, M. E. (2018). Impact of HPV Status on the Prognostic Potential of the AJCC Staging System for Larynx Cancer. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 159(3), 456–465. <https://doi.org/10.1177/0194599818766035>
3. Wookey, V. B., Appiah, A. K., Kallam, A., Ernani, V., Smith, L. M., & Ganti, A. K. (2019). HPV Status and Survival in Non-Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Anticancer research*, 39(4), 1907–1914. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13299>
4. The International Agency for Research on Cancer (IARC). (n.d.). *Global Cancer Observatory*. Retrieved September 9, 2022, from <https://gco.iarc.fr>
5. Steuer, C. E., El-Deiry, M., Parks, J. R., Higgins, K. A., & Saba, N. F. (2017). An update on larynx cancer. *CA: a cancer journal for clinicians*, 67(1), 31–50. <https://doi.org/10.3322/caac.21386>
6. Mourad, M., Jetmore, T., Jategaonkar, A. A., Moubayed, S., Moshier, E., & Urken, M. L. (2017). Epidemiological Trends of Head and Neck Cancer in the United States: A SEER Population Study. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 75(12), 2562–2572. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2017.05.008>

7. Sankaranarayanan, R., Masuyer, E., Swaminathan, R., Ferlay, J., & Whelan, S. (1998). Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer research*, 18(6B), 4779–4786.
8. Winn, D. M., Lee, Y. C., Hashibe, M., Boffetta, P., & INHANCE consortium (2015). The INHANCE consortium: toward a better understanding of the causes and mechanisms of head and neck cancer. *Oral diseases*, 21(6), 685–693. <https://doi.org/10.1111/odi.12342>
9. Wyss, A., Hashibe, M., Chuang, S. C., Lee, Y. C., Zhang, Z. F., Yu, G. P., Winn, D. M., Wei, Q., Talamini, R., Szeszenia-Dabrowska, N., Sturgis, E. M., Smith, E., Shangina, O., Schwartz, S. M., Schantz, S., Rudnai, P., Purdue, M. P., Eluf-Neto, J., Muscat, J., Morgenstern, H., ... Olshan, A. F. (2013). Cigarette, cigar, and pipe smoking and the risk of head and neck cancers: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *American journal of epidemiology*, 178(5), 679–690. <https://doi.org/10.1093/aje/kwt029>
10. Lewin, F., Norell, S. E., Johansson, H., Gustavsson, P., Wennerberg, J., Biörklund, A., & Rutqvist, L. E. (1998). Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck: a population-based case-referent study in Sweden. *Cancer*, 82(7), 1367–1375. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0142\(19980401\)82:7<1367::aid-cnrcr21>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19980401)82:7<1367::aid-cnrcr21>3.0.co;2-3)
11. Andre, K., Schraub, S., Mercier, M., & Bontemps, P. (1995). Role of alcohol and tobacco in the aetiology of head and neck cancer: a case-control study in the Doubs region of France. *European journal of cancer. Part B, Oral oncology*, 31B(5), 301–309. [https://doi.org/10.1016/0964-1955\(95\)00041-0](https://doi.org/10.1016/0964-1955(95)00041-0)
12. Kato, I., & Nomura, A. M. (1994). Alcohol in the aetiology of upper aerodigestive tract cancer. *European journal of cancer. Part B, Oral oncology*, 30B(2), 75–81. [https://doi.org/10.1016/0964-1955\(94\)90056-6](https://doi.org/10.1016/0964-1955(94)90056-6)
13. Andre, K., Schraub, S., Mercier, M., & Bontemps, P. (1995). Role of alcohol and tobacco in the aetiology of head and neck cancer: a case-control study in the Doubs region of France. *European journal of cancer. Part B, Oral oncology*, 31B(5), 301–309. [https://doi.org/10.1016/0964-1955\(95\)00041-0](https://doi.org/10.1016/0964-1955(95)00041-0)
14. Mohebbi, E., Hadji, M., Rashidian, H., Rezaianzadeh, A., Marzban, M., Haghdooost, A. A., Naghibzadeh Tahami, A., Moradi, A., Gholipour, M., Najafi, F., Safari-Faramani, R., Alizadeh-Navaei, R., Ansari-Moghaddam, A., Bakhshi, M., Nejatizadeh, A., Mahmoudi, M., Shahidsales, S., Ahmadi-Simab, S., Arabi Mianroodi, A. A., Seyyedsalehi, M. S., ... Zendehtdel, K. (2021). Opium

- use and the risk of head and neck squamous cell carcinoma. *International journal of cancer*, 148(5), 1066–1076. <https://doi.org/10.1002/ijc.33289>
15. Becher, H., Ramroth, H., Ahrens, W., Risch, A., Schmezer, P., & Dietz, A. (2005). Occupation, exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and laryngeal cancer risk. *International journal of cancer*, 116(3), 451–457. <https://doi.org/10.1002/ijc.21049>
16. Estève, J., Riboli, E., Péquignot, G., Terracini, B., Merletti, F., Crosignani, P., Ascunce, N., Zubiri, L., Blanchet, F., Raymond, L., Repetto, F., & Tuyns, A. J. (1996). Diet and cancers of the larynx and hypopharynx: the IARC multi-center study in southwestern Europe. *Cancer causes & control : CCC*, 7(2), 240–252. <https://doi.org/10.1007/BF00051300>
17. Bacciu, A., Mercante, G., Ingegnoli, A., Ferri, T., Muzzetto, P., Leandro, G., Di Mario, F., & Bacciu, S. (2004). Effects of gastroesophageal reflux disease in laryngeal carcinoma. *Clinical otolaryngology and allied sciences*, 29(5), 545–548. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2273.2004.00851.x>
18. Gama, R. R., Carvalho, A. L., Longatto Filho, A., Scorsato, A. P., López, R. V., Rautava, J., Syrjänen, S., & Syrjänen, K. (2016). Detection of human papillomavirus in laryngeal squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *The Laryngoscope*, 126(4), 885–893. <https://doi.org/10.1002/lary.25738>
19. zur Hausen H. (2009). Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*, 384(2), 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.11.046>
20. Ndiaye, C., Mena, M., Alemany, L., Arbyn, M., Castellsagué, X., Laporte, L., Bosch, F. X., de Sanjosé, S., & Trottier, H. (2014). HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Oncology*, 15(12), 1319–1331. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70471-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70471-1)
21. Méndez-Matías, G., Velázquez-Velázquez, C., Castro-Oropeza, R., Mantilla-Morales, A., Ocampo-Sandoval, D., Burgos-González, A., Heredia-Gutiérrez, C., Alvarado-Cabrero, I., Sánchez-Sandoval, R., Barco-Bazán, A., Chilaca-Rosas, F., & Piña-Sánchez, P. (2021). Prevalence of HPV in Mexican Patients with Head and Neck Squamous Carcinoma and Identification of Potential Prognostic Biomarkers. *Cancers*, 13(22), 5602. <https://doi.org/10.3390/cancers13225602>
22. Grønhøj Larsen, C., Gyldenløve, M., Jensen, D. H., Therkildsen, M. H., Kiss, K., Norrild, B., Konge, L., & von Buchwald, C. (2014). Correlation between human papillomavirus and p16 overexpression in oropharyngeal tumours: a systematic review. *British journal of cancer*, 110(6), 1587–1594. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.42>

23. Palacios-Saucedo, G. C., Vázquez-Guillén, J. M., Rivera-Morales, L. G., García-Cabello, R., Sánchez-Fresno, E. C., Montalvo-Bañuelos, M. S., Serna-Hernández, J. C., Hernández-Martínez, S. J., Castelán-Maldonado, E. E., Zavala-Pompa, Á., Amador-Patiño, G. I., & Rodríguez-Padilla, C. (2018). Prevalence and genotypes of the human papillomavirus in laryngeal tissue samples of patients with laryngeal cancer from Northeastern Mexico [Prevalencia y genotipos del virus del papiloma humano en muestras de tejido laríngeo de pacientes con cáncer de laringe del noreste de México]. *Cirugía y cirujanos*, 86(6), 499–507. <https://doi.org/10.24875/CIRU.18000297>
24. Nowińska, K., Ciesielska, U., Podhorska-Okolów, M., & Dziegiel, P. (2017). The role of human papillomavirus in oncogenic transformation and its contribution to the etiology of precancerous lesions and cancer of the larynx: A review. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*, 26(3), 539–547. <https://doi.org/10.17219/acem/67461>
25. Wittekindt, C., Wuerdemann, N., Gattenlöhner, S., Brobeil, A., Wierzbicka, M., Wagner, S., & Klußmann, J. P. (2017). The role of high-risk human papillomavirus infections in laryngeal squamous cell carcinoma. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 274(11), 3837–3842. <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4718-1>
26. Young, R. J., Urban, D., Angel, C., Corry, J., Lyons, B., Vallance, N., Kleid, S., Iseli, T. A., Solomon, B., & Rischin, D. (2015). Frequency and prognostic significance of p16(INK4A) protein overexpression and transcriptionally active human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *British journal of cancer*, 112(6), 1098–1104. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.59>
27. Sánchez Barrueco, A., González Galán, F., Villacampa Aubá, J. M., Díaz Tapia, G., Fernández Hernández, S., Martín-Arriscado Arroba, C., Cenjor Español, C., & Almodóvar Álvarez, C. (2019). p16 Influence on Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Relapse and Survival. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 160(6), 1042–1047. <https://doi.org/10.1177/0194599818821910>
28. Kimple, R. J., Smith, M. A., Blitzer, G. C., Torres, A. D., Martin, J. A., Yang, R. Z., Peet, C. R., Lorenz, L. D., Nickel, K. P., Klingelhutz, A. J., Lambert, P. F., & Harari, P. M. (2013). Enhanced radiation sensitivity in HPV-positive head and neck cancer. *Cancer research*, 73(15), 4791–4800. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0587>
29. Rieckmann, T., Tribius, S., Grob, T. J., Meyer, F., Busch, C. J., Petersen, C., Dikomey, E., & Kriegs, M. (2013). HNSCC cell lines positive for HPV and p16 possess higher cellular radiosensitivity due to an impaired DSB repair capacity. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society*

for *Therapeutic Radiology and Oncology*, 107(2), 242–246.
<https://doi.org/10.1016/j.radonc.2013.03.013>

30. Kakodkar, K. A., Schroeder, J. W., Jr, & Holinger, L. D. (2012). Laryngeal development and anatomy. *Advances in oto-rhino-laryngology*, 73, 1–11. <https://doi.org/10.1159/000334108>
31. Armstrong, W. B., & Netterville, J. L. (1995). Anatomy of the larynx, trachea, and bronchi. *Otolaryngologic clinics of North America*, 28(4), 685–699.
32. Mor, N., & Blitzer, A. (2015). Functional Anatomy and Oncologic Barriers of the Larynx. *Otolaryngologic clinics of North America*, 48(4), 533–545.
<https://doi.org/10.1016/j.otc.2015.04.002>
33. Hoare, T. J., Thomson, H. G., & Proops, D. W. (1993). Detection of laryngeal cancer--the case for early specialist assessment. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 86(7), 390–392.
34. Hughes, R. T., Beuerlein, W. J., O'Neill, S. S., Porosnicu, M., Lycan, T. W., Waltonen, J. D., Frizzell, B. A., & Greven, K. M. (2019). Human papillomavirus-associated squamous cell carcinoma of the larynx or hypopharynx: Clinical outcomes and implications for laryngeal preservation. *Oral oncology*, 98, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.09.008>
35. Kennedy, W. R., Amdur, R. J., Boyce, B. J., Dziegielewski, P., Morris, C. G., & Mendenhall, W. M. (2017). Neck Management with Total Laryngectomy and Adjuvant Radiotherapy in Locally Advanced Larynx Cancer. *Oncology research and treatment*, 40(9), 503–506.
<https://doi.org/10.1159/000477463>
36. Hicks, W. L., Jr, Kollmorgen, D. R., Kuriakose, M. A., Orner, J., Bakamjian, V. Y., Winston, J., & Loree, T. R. (1999). Patterns of nodal metastasis and surgical management of the neck in supraglottic laryngeal carcinoma. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 121(1), 57–61.
[https://doi.org/10.1016/S0194-5998\(99\)70125-7](https://doi.org/10.1016/S0194-5998(99)70125-7)
37. Ferlito, A., & Rinaldo, A. (2000). The pathology and management of subglottic cancer. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 257(3), 168–173. <https://doi.org/10.1007/s004050050217>
38. Merino, O. R., Lindberg, R. D., & Fletcher, G. H. (1977). An analysis of distant metastases from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer*, 40(1), 145–151.
[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197707\)40:1<145::aid-cnrcr2820400124>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197707)40:1<145::aid-cnrcr2820400124>3.0.co;2-9)

39. Ciolofan, M. S., Vlăescu, A. N., Mogoantă, C. A., Ioniță, E., Ioniță, I., Căpitănescu, A. N., Mitroi, M. R., & Anghelina, F. (2017). Clinical, Histological and Immunohistochemical Evaluation of Larynx Cancer. *Current health sciences journal*, 43(4), 367–375. <https://doi.org/10.12865/CHSJ.43.04.14>
40. Golusinski, P., Di Maio, P., Pehlivan, B., Colley, S., Nankivell, P., Kong, A., Hartley, A., & Mehanna, H. (2019). Evidence for the approach to the diagnostic evaluation of squamous cell carcinoma occult primary tumors of the head and neck. *Oral oncology*, 88, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2018.11.020>
41. Blitz, A. M., & Aygun, N. (2008). Radiologic evaluation of larynx cancer. *Otolaryngologic clinics of North America*, 41(4), 697–vi. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2008.01.015>
42. National Comprehensive Cancer Network -NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Head and Neck Cancers. Version 2.2022, Retrieved September 10, 2022, from <https://www.nccn.org>
43. American Society of Clinical Oncology, Pfister, D. G., Laurie, S. A., Weinstein, G. S., Mendenhall, W. M., Adelstein, D. J., Ang, K. K., Clayman, G. L., Fisher, S. G., Forastiere, A. A., Harrison, L. B., Lefebvre, J. L., Leupold, N., List, M. A., O'Malley, B. O., Patel, S., Posner, M. R., Schwartz, M. A., & Wolf, G. T. (2006). American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline for the use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 24(22), 3693–3704. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.07.4559>
44. Tamura, Y., Tanaka, S., Asato, R., Hirano, S., Yamashita, M., Tamaki, H., & Ito, J. (2007). Therapeutic outcomes of laryngeal cancer at Kyoto University Hospital for 10 years. *Acta otolaryngologica. Supplementum*, (557), 62–65. <https://doi.org/10.1080/00016480601067990>
45. Mendenhall, W. M., Werning, J. W., Hinerman, R. W., Amdur, R. J., & Villaret, D. B. (2004). Management of T1-T2 glottic carcinomas. *Cancer*, 100(9), 1786–1792. <https://doi.org/10.1002/cncr.20181>
46. Hinerman, R. W., Mendenhall, W. M., Amdur, R. J., Stringer, S. P., Villaret, D. B., & Robbins, K. T. (2002). Carcinoma of the supraglottic larynx: treatment results with radiotherapy alone or with planned neck dissection. *Head & neck*, 24(5), 456–467. <https://doi.org/10.1002/hed.10069>
47. Aaltonen, L. M., Rautiainen, N., Sellman, J., Saarilahti, K., Mäkitie, A., Rihkanen, H., Laranne, J., Kleemola, L., Wigren, T., Sala, E., Lindholm, P., Grenman, R., & Joensuu, H. (2014). Voice quality after treatment of early vocal cord cancer: a randomized trial comparing laser surgery with radiation therapy. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, 90(2), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2014.06.032>

48. Mo, H. L., Li, J., Yang, X., Zhang, F., Xiong, J. W., Yang, Z. L., Tan, J., & Li, B. (2017). Transoral laser microsurgery versus radiotherapy for T1 glottic carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Lasers in medical science*, 32(2), 461–467. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-2103-8>
49. Guimarães, A. V., Dedivitis, R. A., Matos, L. L., Aires, F. T., & Cernea, C. R. (2018). Comparison between transoral laser surgery and radiotherapy in the treatment of early glottic cancer: A systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*, 8(1), 11900. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30218-x>
50. Warner, L., Lee, K., & Homer, J. J. (2017). Transoral laser microsurgery versus radiotherapy for T2 glottic squamous cell carcinoma: a systematic review of local control outcomes. *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*, 42(3), 629–636. <https://doi.org/10.1111/coa.12790>
- Remacle, M., Eckel, H. E., Antonelli, A., Brasnu, D., Chevalier, D., Friedrich, G., Olofsson, J., Rudert, H. H., Thumfart, W., de Vincentiis, M., & Wustrow, T. P. (2000). Endoscopic cordectomy. A proposal for a classification by the Working Committee, European Laryngological Society. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 257(4), 227–231. <https://doi.org/10.1007/s004050050228>
51. Elô, J., Balatoni, Z., Kótai, Z., & Bártfai, R. (2002). Considerations in the treatment of the node-negative (N0) neck in glottic carcinomas. *Pathology oncology research : POR*, 8(4), 257–261. <https://doi.org/10.1007/BF03036741>
52. Rutkowski, T., Wygoda, A., Skłodowski, K., Hejduk, B., Rutkowski, R., Lukaszczyk-Widel, B., Hutnik, M., & Maciejewski, B. (2012). Predictors of radiotherapy outcome in patients with T2 supraglottic carcinoma. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 269(3), 923–929. <https://doi.org/10.1007/s00405-011-1847-9>
53. Al-Qurayshi, Z., Ngouajio, A. L., & Buchakjian, M. R. (2022). Presentation and outcomes of patients with clinically T1-2, N0 supraglottic squamous cell carcinoma: The role of definitive radiotherapy compared to primary partial laryngectomy. *Head & neck*, 44(3), 735–744. <https://doi.org/10.1002/hed.26966>
54. Overgaard, J., Hansen, H. S., Specht, L., Overgaard, M., Grau, C., Andersen, E., Bentzen, J., Bastholt, L., Hansen, O., Johansen, J., Andersen, L., & Evensen, J. F. (2003). Five compared with six fractions per week of conventional radiotherapy of squamous-cell carcinoma of head and neck:

- DAHANCA 6 and 7 randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*, 362(9388), 933–940. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)14361-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)14361-9)
55. Djordjevic, V., Bukurov, B., Arsovic, N., Dimitrijevic, M., Jesic, S., Nestic, V., & Petrovic, Z. (2016). Prospective case-control study of efficacy of bilateral selective neck dissection in primary surgical treatment of supraglottic laryngeal cancers with clinically negative cervical findings (N0). *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*, 41(6), 634–639. <https://doi.org/10.1111/coa.12570>
56. Dahm, J. D., Sessions, D. G., Paniello, R. C., & Harvey, J. (1998). Primary subglottic cancer. *The Laryngoscope*, 108(5), 741–746. <https://doi.org/10.1097/00005537-199805000-00022>
57. MacNeil, S. D., Patel, K., Liu, K., Shariff, S., Yoo, J., Nichols, A., Fung, K., & Garg, A. X. (2018). Survival of patients with subglottic squamous cell carcinoma. *Current oncology (Toronto, Ont.)*, 25(6), e569–e575. <https://doi.org/10.3747/co.25.3864>
58. Thaler, E. R., Montone, K., Tucker, J., & Weinstein, G. S. (1997). Delphian lymph node in laryngeal carcinoma: a whole organ study. *The Laryngoscope*, 107(3), 332–334. <https://doi.org/10.1097/00005537-199703000-00010>
59. Lucioni, M., D'Ascanio, L., De Nardi, E., Lionello, M., Bertolin, A., & Rizzotto, G. (2018). Management of paratracheal lymph nodes in laryngeal cancer with subglottic involvement. *Head & neck*, 40(1), 24–33. <https://doi.org/10.1002/hed.24905>
60. Forastiere, A. A., Goepfert, H., Maor, M., Pajak, T. F., Weber, R., Morrison, W., Glisson, B., Trotti, A., Ridge, J. A., Chao, C., Peters, G., Lee, D. J., Leaf, A., Ensley, J., & Cooper, J. (2003). Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *The New England journal of medicine*, 349(22), 2091–2098. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa031317>
61. Silver, C. E., Beitler, J. J., Shaha, A. R., Rinaldo, A., & Ferlito, A. (2009). Current trends in initial management of laryngeal cancer: the declining use of open surgery. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 266(9), 1333–1352. <https://doi.org/10.1007/s00405-009-1028-2>
62. Kennedy, W. R., Amdur, R. J., Boyce, B. J., Dziegielewski, P., Morris, C. G., & Mendenhall, W. M. (2017). Neck Management with Total Laryngectomy and Adjuvant Radiotherapy in Locally Advanced Larynx Cancer. *Oncology research and treatment*, 40(9), 503–506. <https://doi.org/10.1159/000477463>

63. Pignon, J. P., le Maître, A., Maillard, E., Bourhis, J., & MACH-NC Collaborative Group (2009). Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, 92(1), 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.04.014>
64. Pointreau, Y., Garaud, P., Chapet, S., Sire, C., Tuchais, C., Tortochaux, J., Faivre, S., Guerri, S., Alfonsi, M., & Calais, G. (2009). Randomized trial of induction chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil with or without docetaxel for larynx preservation. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(7), 498–506. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp007>
65. Robbins, K. T., Davidson, W., Peters, L. J., & Goepfert, H. (1988). Conservation surgery for T2 and T3 carcinomas of the supraglottic larynx. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*, 114(4), 421–426. <https://doi.org/10.1001/archotol.1988.01860160065023>
66. Levendag, P. C., Teguh, D. N., Voet, P., van der Est, H., Noever, I., de Kruijf, W. J., Kolkman-Deurloo, I. K., Prevost, J. B., Poll, J., Schmitz, P. I., & Heijmen, B. J. (2007). Dysphagia disorders in patients with cancer of the oropharynx are significantly affected by the radiation therapy dose to the superior and middle constrictor muscle: a dose-effect relationship. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, 85(1), 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2007.07.009>
67. Worsham, M. J., Chen, K. M., Tiwari, N., Pals, G., Schouten, J. P., Sethi, S., & Benninger, M. S. (2006). Fine-mapping loss of gene architecture at the CDKN2B (p15INK4b), CDKN2A (p14ARF, p16INK4a), and MTAP genes in head and neck squamous cell carcinoma. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*, 132(4), 409–415. <https://doi.org/10.1001/archotol.132.4.409>
68. Namazie, A., Alavi, S., Olopade, O. I., Pauletti, G., Aghamohammadi, N., Aghamohammadi, M., Gornbein, J. A., Calcaterra, T. C., Slamon, D. J., Wang, M. B., & Srivatsan, E. S. (2002). Cyclin D1 amplification and p16(MTS1/CDK4I) deletion correlate with poor prognosis in head and neck tumors. *The Laryngoscope*, 112(3), 472–481. <https://doi.org/10.1097/00005537-200203000-00013>
69. Psyrri, A., & DiMaio, D. (2008). Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. *Nature clinical practice. Oncology*, 5(1), 24–31. <https://doi.org/10.1038/ncponc0984>.
70. von Knebel Doeberitz M. (2002). New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 38(17), 2229–2242. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(02\)00462-8](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(02)00462-8)

71. Stephen, J. K., Divine, G., Chen, K. M., Chitale, D., Havard, S., & Worsham, M. J. (2013). Significance of p16 in Site-specific HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer and clinical oncology*, 2(1), 51–61. <https://doi.org/10.5539/cco.v2n1p5>
72. Smith, E. M., Rubenstein, L. M., Hoffman, H., Haugen, T. H., & Turek, L. P. (2010). Human papillomavirus, p16 and p53 expression associated with survival of head and neck cancer. *Infectious agents and cancer*, 5, 4. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-5-4>
73. Tong, F., Geng, J., Yan, B., Lou, H., Chen, X., Duan, C., He, J., Zhang, S., Xie, H., Li, H., Yuan, D., Zhang, F., Meng, H., & Wei, L. (2018). Prevalence and Prognostic Significance of HPV in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma in Northeast China. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 49(1), 206–216. <https://doi.org/10.1159/000492858>
74. Shaughnessy, J. N., Farghaly, H., Wilson, L., Redman, R., Potts, K., Bumpous, J., Silverman, C., & Dunlap, N. E. (2014). HPV: a factor in organ preservation for locally advanced larynx and hypopharynx cancer?. *American journal of otolaryngology*, 35(1), 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2013.08.006>