



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA
CAMPO DISCIPLINARIO EPIDEMIOLOGÍA

*“Virus Papiloma Humano y supervivencia en
pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo del Instituto
Nacional de Cancerología”*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

ELIZABETH PÉREZ ISLAS

TUTORES:

Dra. Diana Vilar Compte
Instituto Nacional de Cancerología

Dr. Adelfo Enrique Acosta Gio
Posgrado Facultad de Odontología, UNAM

CIUDAD UNVERSITARIA, CD. MX., DICIEMBRE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología y en el laboratorio de Virus y Cáncer del Instituto de Investigaciones en Biomédicas, UNAM.

Bajo el financiamiento del Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), número de registro: IN222813

Durante la realización del trabajo el autor fue becado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

RESUMEN

El cáncer bucal y orofaríngeo (CByO) representa un problema de salud por las secuelas de su tratamiento, la alta incapacidad de las personas que lo padecen y disminución en la calidad de vida, así como en la muerte. Por otra parte, es cada vez más evidente que el Virus Papiloma Humano (VPH) es un factor importante de evaluar en pacientes con CByO debido a las diferencias en el pronóstico y curso clínico de la enfermedad.

Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo incluyendo a 140 pacientes incidentes con carcinoma epidermoide, basaloíde y acantolítico durante el periodo del 2009 al 2013, donde el objetivo fue determinar la supervivencia global y libre de recurrencia, así como encontrar factores relacionados al desenlace. La detección de VPH fue por PCR e INNO-LiPA.

La prevalencia del virus fue 20.7% (n=29), el tipo de VPH con mayor prevalencia fue VPH16 con 17.1% (n=140). La tasa de letalidad fue del 35%. La mediana de supervivencia estratificada y ante la presencia del virus fue de 2.05 años versus 1.90 años (log-rank=0.0001). En el análisis multivariado se encontró en los pacientes con tumores VPH positivos, una reducción del 75% del riesgo de morir por cáncer (HR=0.24; IC 95%=0.06-0.87 p=0.030) después de ajustar por edad, etapa clínica, tipo de tratamiento primario y albúmina.

El aumento constante en la incidencia de los cánceres bucales y orofaríngeos y VPH positivo, es probable que modifique el curso clínico de esta enfermedad, por lo que es necesario contar con las herramientas de diagnóstico adecuadas, además de una vigilancia congruente con esta “nueva” faceta de la enfermedad.

ÍNDICE

RESUMEN	3
INDICE DE TABLAS	6
ABREVIATURAS	7
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1 Epidemiología del Cáncer Bucal y Orofaringeo	8
1.2 Relación cáncer bucal y Virus Papiloma Humano (VPH).....	10
1.2.1 Historia del VPH en cavidad bucal y orofaríngea	10
1.3 Generalidades del VPH.....	11
1.4 Prevalencia de VPH en boca	11
1.5 Métodos de detección	12
1.6 Factores pronósticos en pacientes con CByO	14
1.7 Sobrevida en pacientes con VPH positivo.....	16
2. JUSTIFICACIÓN	19
3. HIPÓTESIS	20
4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo General.....	20
4.2 Objetivos Específicos	20
5. METODOLOGÍA	21
5.1 Diseño.....	21
5.2 Selección de la muestra.....	21
5.3 Criterios del estudio.....	21
5.3.1 Criterios de inclusión	21
5.3.2 Criterios de exclusión	21
5.3.3 Criterios de eliminación.....	21
5.4 Unidad última de muestreo	22
6. TAMAÑO DE LA MUESTRA	22
7. CONSIDERACIONES ETICAS	23
7.1 Obtención del consentimiento informado	23
8. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS	24
9. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	25
9.1 Calidad para obtención y purificación del ADN	25
9.2 Desparafinación de las muestras.....	25
9.3 Extracción del ADN	26
9.4 Detección y tipificación del virus	27
9.5 Control de calidad.....	30

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
11. RESULTADOS	32
11.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO	32
11.1.1 Variables antecedentes.....	32
11.1.2 Variables clínicas	33
11.1.3 Variables referentes a la neoplasia.....	33
11.1.4 Variables referentes al tratamiento	34
11.1.6 Virus Papiloma Humano	36
12. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA	37
12.1 Supervivencia específica de la enfermedad	37
12.2 Supervivencia global y Virus Papiloma Humano.....	38
12.3 Supervivencia libre de enfermedad	39
12.4 Supervivencia libre de progresión.....	40
13. ANALISIS MULTIVARIADO	41
14. Variables pronósticas al desenlace en la supervivencia global independientes de estratificación	42
14.1 Edad	42
14.2 Etapa clínica	42
14.3 Tratamiento primario	43
14.4 Tipo de cirugía como tratamiento primario	44
14.5 Respuesta al primer tratamiento	44
14.6 Índice de Karnosky.....	45
15. DISCUSIÓN	46
16. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	52
17. CONCLUSIÓN	53
18. PERSPECTIVAS	54
19. APÉNDICE	55
19.1 Carta de aprobación por el comité de investigación del INCan	55
19.2 Operacionalización de variables	556
19.3 Evaluación de variables.....	61
19.4 Resultados de INNO-LiPA	63
20. BIBLIOGRAFÍA	67

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables sociodemográficas de los pacientes con cáncer oral y orofaríngeo.....	33
Tabla 2. Características clínicas de pacientes con cáncer oral y orofaríngeo.....	33
Tabla 3. Características referentes a la neoplasia	35
Tabla 4. Etapa clínica y localización por género	35
Tabla 5. Características referentes al primer tratamiento	36
Tabla 6. Características de seguimiento de pacientes	36
Tabla 7. Prevalencia y tipos de VPH detectados	37
Tabla 8. Variables de la neoplasia estratificada por VPH.....	37
Tabla 9. Tabla de vida de pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo.....	37
Tabla 10. Tabla de función riesgos acumulado de pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo.....	38
Tabla 11. Modelo de riesgos proporcionales regresión de cox para la supervivencia específica de la enfermedad en pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo	41
Tabla 12. Operacionalización de las variables	56

ABREVIATURAS

VPH – Virus Papiloma Humano

CByO – Cáncer Oral y Orofaringeo

OMS – Organización Mundial de la Salud

IARC – Agencia de Investigaciones sobre Cáncer

CDC – Centro para el Control y Prevención de Enfermedades

TNM – Tumor Nodo Metástasis

ADN – Ácido desoxirribonucleico

HDNA – Ácido desoxirribonucleico humano

mL – Mililitro

mg – Miligramos

dL – Decilitro

µl – Microlitro

RPM – Revoluciones por minuto

HR – Hazard Ratio

Dx – Diagnóstico

AHF – Antecedentes heredofamiliares

Tx – Tratamiento

Cx – Cirugía

Rt – Radioterapia

Qt/Rt – Quimioradioterapia.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Epidemiología del Cáncer Bucal y Orofaringeo

El cáncer bucal y orofaríngeo (CByO) constituye un problema de salud al que todavía no se le ha prestado toda la atención que requiere. La incidencia anual a nivel mundial de cáncer bucal (CB) es de alrededor de 263,000 casos y 127,000 mueren por esta causa, la incidencia para el cáncer orofaríngeo es 8,300 casos, de los cuales dos tercios ocurren en países de bajos ingresos (1), con mayor prevalencia en algunas regiones de Latinoamérica, algunas áreas del centro de Europa, así como en el sur de India. En el 2016, la Sociedad Americana contra el cáncer ha estimado 48,330 casos de CByO, y alrededor de 9,570 personas morirán a causa de estas neoplasias.

De acuerdo con el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (RHNM), se estima que el CByO representa el 1.13% de todos los casos de cáncer reportados en México y el 5.48% del total de las neoplasias malignas de cabeza y cuello(2). Cabe señalar, que es el último registro que se tiene respecto a estas neoplasias debido a que este ha desaparecido, y por tanto no se cuenta con información integrada del sector público, privado y de otras instituciones.

La letalidad estimada en México en este tipo de pacientes es del 62.4%, y con base en los egresos hospitalarios del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el índice de supervivencia a 5 años es del 50%(3). A pesar de ser una enfermedad prevenible con medidas costo-eficaces, más de la mitad de los casos de CByO son diagnosticados en estadios avanzados. Por ello, el tratamiento requiere de costosas intervenciones multidisciplinarias, que involucran procedimientos quirúrgicos, radioterapia y quimioterapia, seguidos por la reconstrucción y la rehabilitación, que a su vez impactan la calidad de vida y la supervivencia de los pacientes.

Más del 90% de los cánceres de cabeza y cuello son carcinomas de células escamosas, el sitio más frecuentemente afectado en cavidad oral, es la lengua, principalmente en su cara ventral y bordes laterales; el piso de la boca es el segundo lugar más frecuente, seguido de la mucosa yugal, labial y, paladar duro; el sitio más frecuente de orofaringe es la base de la lengua y amígdalas (4). El CByO es un grupo de neoplasias que se han relacionado con la exposición ambiental a sustancias carcinogénicas, principalmente tabaco, alcohol y masticación de nueces de areca y betel, este último hábito, no popular en México, es frecuente en algunas regiones de EUA y Europa, como también el cigarrillo (bidi o chuta) en la India.

Aún cuando se han identificado diversos factores de riesgo, alrededor del 15 al 20% de estas neoplasias ocurren en personas sin historial de los factores de riesgo tradicionales, además de haber un aumento de casos en personas cada vez más jóvenes (5). En diversos estudios la edad media de los pacientes con CByO oscila entre la sexta y séptima década de vida (6), con una prevalencia mayor para el género masculino de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Diversos estudios, han reportado que los hombres tienden a tener comportamientos de mayor riesgo, lo que es posible que favorezca el desarrollo de este tipo de cáncer en comparación con las mujeres. Se ha postulado que el nivel socio-económico puede también afectar tanto a la incidencia del CByO como a la mortalidad. Algunos autores consideran que un estrato social desfavorecido, se asocia con un incremento en toxicomanías, lo que conlleva un mayor riesgo para el desarrollo del cáncer oral. También se ha postulado como posibles factores influyentes la predisposición genética. Además, en muchos sitios del planeta, existe un acceso difícil a los servicios de salud, lo que en parte explica que una proporción elevada de estos casos se presente en fases avanzadas de la enfermedad (7).

Aun cuando los varones consumen tabaco y alcohol en mayor cantidad, durante la última década este perfil ha ido cambiando, ya que las mujeres consumen cada vez con mayor frecuencia estas sustancias.

Por otra parte, también es conocido que los hombres acuden menos a los servicios dentales, y las lesiones bucales no son detectadas de forma temprana. En algunos estudios, hasta el 58.7% de los tumores diagnosticados corresponden al estadio IV teniendo un peor desenlace.

Aunado a lo anterior, en algunas localizaciones geográficas, particularmente en Europa y América del Norte, el número creciente de infecciones por el virus del papiloma humano (VPH) como consecuencia de la expansión de determinadas prácticas sexuales, especialmente el sexo oral puede estar contribuyendo a un riesgo incrementado de estas neoplasias en edades más tempranas (8, 9).

1.2 Relación cáncer bucal y Virus Papiloma Humano (VPH)

1.2.1 Historia del VPH en cavidad bucal y orofaríngea

En la década de los ochenta, se comenzó a estudiar el VPH como posible agente etiológico en la patogenia del cáncer oral (1, 10).

El primero en observar la relación de condilomas acuminados y el sexo oral fue Heidindgsfeld en 1901, Ciuffo 7 años después confirma la etiología viral. En 1933, Shape pudo aislar el virus en conejos (11). Posteriormente, Parson y Kidd en 1942 describieron la historia natural de las infecciones orales causadas por VPH (12) y en 1970, Harald Zur Hausen, descubre la diversidad existente de los tipos de virus y observó koilocitos relacionados al VPH (13, 14). En 1973, Ullman establece la asociación causal del VPH en un subgrupo de pacientes con cáncer de cabeza y cuello; Brandsma y Abramson demostraron ADN de VPH16 en amígdalas en 1989 (15). Sin embargo, fue hasta el año del 2007, cuando la Agencia Internacional de Investigaciones sobre el cáncer (IARC) considera al VPH como un factor de riesgo en neoplasias de cabeza y cuello (8).

1.3 Generalidades del VPH

El VPH se caracteriza por ser epiteliotrópico, es decir tiene afinidad por el epitelio y las mucosas. Actualmente, existen más de 100 tipos. De estos, más de 40 tipos son capaces de infectar tanto región anogenital como bucofaríngea(16-18) .

Se transmite fácilmente por contacto sexual directo de piel y mucosas; existe un subgrupo, clasificado en 2 dimensiones de acuerdo a su capacidad de oncogénesis, conocidos como de alto y bajo riesgo(19) La vía de transmisión puede ser horizontal, a través de contacto sexual, o vertical de madre a hijo durante el parto o la lactancia (20, 21), Sin embargo, aún se sigue investigando otras vías de transmisión a nivel oral (20).

1.4 Prevalencia de VPH en boca

La infección por VPH es la principal enfermedad de transmisión sexual en el mundo. La identificación de lesiones intraepiteliales y tumorales asociadas a tipos con diferente potencial oncogénico ha demostrado que este virus participa en un número cada vez más importante de lesiones, tanto en la zona vulvo-genital (22), como en la cavidad oral y orofaríngea.

La incidencia de infecciones genitales por VPH de acuerdo al Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) en Estados Unidos, es de 14 millones de casos anualmente. (23). En cavidad bucal se desconoce la prevalencia. Se calcula que más del 80% de los adultos sexualmente activos, serán infectados por al menos un tipo de VPH alguna vez en su vida (24). Aproximadamente el 50% de estas infecciones son ocasionadas por uno de los subtipos de alto riesgo (25).

De acuerdo a un meta-análisis en el 2007, el 26% de los casos de cáncer de cabeza y cuello, el VPH estaba presente (26). La detección de ADN del VPH en estos carcinomas es variable, desde un 20 hasta un 90%. Esta variabilidad es explicada

por la selección del método de recolección de la muestra, el sitio anatómico y la técnica de detección. La incidencia varía considerablemente dependiendo de la población estudiada (27).

La proporción de VPH atribuible a este tipo de neoplasias es del 47% en América del norte, 46% en Asia, 36% en Sur/ América Central, Australia y África, y del 26% en Europa (28). En este tipo de neoplasias, los tipos VPH 16 y 18, subtipos de alto riesgo, son los de mayor prevalencia, 86% y 16%, respectivamente(29).

La prevalencia del VPH difiere dependiendo del sitio anatómico de la neoplasia, encontrándose en mayor porcentaje en orofarínge, 57%; cavidad oral, 12% e hipofarínge en el 10% (30). En México, se han detectado variantes del VPH 18, 21, 35 y 45, algunos de ellos asociados con el cáncer cervicouterino (22).

1.5 Métodos de detección

En los últimos años, con el advenimiento de mejores técnicas de detección viral, la investigación relacionada con el VPH y las neoplasias de cabeza y cuello, se ha encaminado a la genética, biología molecular y la serología. Algunos de estos estudios han informado que los tumores positivos a VPH albergan menos anomalías genéticas que aquellos VPH negativos. La integración del ADN viral al genoma de la célula huésped es de particular importancia. Los oncogenes E6 y E7 del VPH codifican proteínas que constan de alrededor de 151 y 98 aminoácidos, respectivamente. Estos, son en gran parte responsables de la aparición y persistencia del proceso de malignización tanto en cánceres de cabeza y cuello, como las neoplasias anogenitales (31). La expresión de estos genes interfiere con mecanismos celulares cruciales como la regulación del ciclo celular y la apoptosis, por lo tanto, la expresión en el tumor podrían indicar un papel activo del VPH en el desarrollo del cáncer.

Para el diagnóstico del VPH se han utilizado diferentes estrategias. La reacción de polimerasa en cadena (PCR) es una de ellas, al igual que la técnica de INNO-LiPA, siendo capaces de identificar más de 56 tipos. Los beneficios de estas técnicas, entre otros, es que pueden detectar la presencia del virus en muestras previamente

almacenadas, permitiendo su identificación en las muestras embebidas en parafina. Otra técnica frecuentemente empleada para la detección del VPH en tejidos es la inmunohistoquímica, especialmente en relación con la proteína p16, proteína de supresión tumoral que se encuentra atenuada no sólo en este tipo de neoplasias, sino también en diversas entidades tumorales. Su función primordial es la de detener el ciclo celular cuando el DNA se encuentra dañado. Se ha observado que una fuerte sobreexpresión nuclear y citoplasmática en ciertas entidades, como es el caso de células escamosas displásicas y neoplásicas, puede asociarse con VPH de alto riesgo (29). Otras proteínas como la p53 y la proteína retinoblastoma (pRB) se cree que juegan un papel crucial en ciclo celular como proteínas de supresión tumoral.

Gracias al desarrollo de estas tecnologías, hoy se conocen factores epidemiológicos y biológicos propios en las neoplasias de cabeza y cuello asociadas al VPH. Además, en un subgrupo de estas neoplasias se ha observado una mejoría en el pronóstico cuando se asocian al VPH, siendo entidades clínica y epidemiológicamente diferentes (29, 32). Lo anterior, constituye un importante motivo de estudio.

1.6 Factores pronósticos en pacientes con CByO

La supervivencia de los pacientes con CByO es en general sombrío, particularmente cuando se encuentra en estadios clínicos avanzados. Se ha asociado diversos factores a la supervivencia en estos pacientes, se ha observado que a mayor edad el pronóstico es más sombrío. Con respecto al género, aun cuando la prevalencia del CByO es mayor en los hombres, no existen diferencias significativas en relación con la supervivencia (33, 34).

Referente al estado civil, los pacientes casados son menos propensos a presentar enfermedad metastásica ($p=0.001$, IC 95% 0.60-0.87). Además, de recibir tratamiento definitivo (OR 1,77 IC 95% 1.60-1.95 $p=0.001$), lo que disminuye la mortalidad asociada al cáncer de cabeza y cuello ($p=0.001$ IC 0.68-0.77) (35).

En relación con otros factores pronósticos, un IMC normal o bajo en estos pacientes se asocia con una peor supervivencia global, frente a los pacientes con un IMC > 25 kg con una supervivencia libre de enfermedad más prolongada (HR = 0.43, $p = 0.02$) y mayor supervivencia global (HR = 0.49; $p = 0.01$) (36).

Así mismo, el mal estado general de acuerdo al índice “*Eastern Cooperative Oncology Group*” (ECOG), se ha encontrado como un predictor de mortalidad, teniendo 3 veces más posibilidades de muerte aquellos con puntuaciones más altas. En cuanto a la escala de Karnofsky con índice ≤ 80 , es un factor predictor en la mortalidad por cáncer (OR=0.33 IC 95% 0.18 a 0.62) (37).

Por otra parte, la diferenciación histológica en neoplasias moderadas y poco diferenciadas ha mostrado acelerar la progresión de la enfermedad dando un pronóstico más sombrío en comparación con aquellos de grado histológico bien diferenciado (38).

En cuanto al hábito tabáquico y el consumo de alcohol se han descrito como factores sinérgicos, generando en principio, tumores más agresivos, con supervivencias globales y libres de recurrencia menores (39).

El estadio clínico también juega un papel importante en la supervivencia, aunque no es el único factor que nos brinda el pronóstico del paciente. Se ha documentado que la tasa de supervivencia a los 5 años es del 80% en estadios iniciales, 40% en neoplasias con afección regional y menos del 20% para pacientes con metástasis a distancia (40). El diagnóstico tardío es la principal causa de morbilidad y mortalidad (41), a pesar que la cavidad oral es un sitio de fácil acceso para su examen físico. Reflejo de lo anterior, es la realización de glossectomías y hemiglossectomías como tratamiento más frecuente entre los pacientes afectados por CByO (42).

Aún cuando se conocen diversos factores pronósticos en relación con el CByO, la utilización de nuevos biomarcadores están cobrando importancia. Un ejemplo éstos, son los neutrófilos y linfocitos como indicadores de la estequiometría linfoide, ya que se ha observado que las células cancerosas modifican el comportamiento de los neutrófilos a través de la inducción y liberación de citoquinas y metaloproteínas, aumentando su potencial quimiotáctico y la inhibición de la apoptosis (43, 44) .

Clínicamente, también se ha demostrado un pronóstico negativo en el recuento alto de neutrófilos y recuentos bajos de linfocitos con una supervivencia menor. Por otro lado, cuentas más altas de linfocitos se han asociado a una supervivencia global más larga, reduciendo el riesgo de muerte en 19% (45). La hipoalbuminemia, también ha mostrado ser un factor pronóstico independiente en la supervivencia libre de enfermedad (46).

1.7 Sobrevida en pacientes con VPH positivo

En cáncer orofaríngeo se ha demostrado que la presencia del VPH en el tejido tumoral es factor pronóstico independiente para la supervivencia global y libre de progresión (6, 21, 40, 41). En el cáncer epidermoide la presencia de VPH se ha asociado con tasas mayores de supervivencia a los 2, 3 y 5 años de seguimiento (HR: 0.5 I.C.95%:0.3-1,1 p=0.07) (28). Los resultados de un meta-análisis mencionan el impacto en la supervivencia de pacientes con carcinoma epidermoide e infección por VPH, con un efecto protector en la mortalidad asociada al cáncer (HR 0.85 IC 95% 0.7- 1.2), y un bajo riesgo de recurrencia (HR 0.62 IC95% 0.5-0.8) en comparación con pacientes en VPH negativos (26).

Estas diferencias en la sobrevida se han tratado de explicar, desde el ámbito epidemiológico, clínico y biológico (47, 48). Un punto clave que se ha observado es referente al sitio anatómico del cáncer, se ha relacionado mejores tasas de supervivencia particularmente, en pacientes con cáncer orofaríngeo con una asociación significativa ante la presencia de VPH (p=0.026).

Diversos autores han sugerido que este sitio anatómico cuenta con un ambiente micro inmune, que podría desempeñar un papel fundamental en la supervivencia ante la infección del virus(7, 49) .

En general, la importancia de la respuesta inmunitaria relacionada con el VPH en estas neoplasias aún no está bien establecida. Se ha observado que los linfocitos T que proliferan y sintetizan citocinas inflamatorias tienen un papel sobre el reconocimiento de las oncoproteínas E6 y E7(50).

Los modelos de ratón sugieren capacidad en la respuesta inmune basada en células T, desempeñando un papel importante en el crecimiento del tumor relacionado con el VPH y la respuesta a la terapia (51). De acuerdo al estudio de cohorte realizado en Francia por Alain sugiere, que la activación del linfocito T CD8+ y la respuesta inmune están implicadas en el pronóstico mejorado de los pacientes con VPH

positivo(49). Aunque aún, se desconoce la identificación de antígenos implicados para desencadenar esta respuesta del hospedero.

Se piensa que ante la presencia de un virus el pronóstico es sombrío sin embargo, en los VPH positivos experimentan mejores tasas de supervivencias, en el caso del cáncer orofaríngeo se han asociado fuertemente el número de células inmunes (células T) en el tumor y supervivencia de pacientes. Y se ha observado que ante la presencia de un número elevado de células T, los pacientes responden bien al tratamiento. Por lo que se ha sugerido que los cánceres causados por este virus son detectados rápidamente por el sistema inmune con un papel imprescindible en la respuesta inmunitaria, explicando mayores tasas en la sobrevida de los pacientes con neoplasias VPH positivos(52).

Respecto al tratamiento, también se han encontrado diferencias en la sobrevida ante la presencia del VPH; datos sobre un estudio prospectivo en fase 2, confirman que ante presencia de VPH, predice una respuesta favorable a tratamiento con quimioterapia y radioterapia. Algunos autores señalan que durante el tratamiento, la activación de proteínas oncológicas especialmente de p53 y pRb (proteína retinoblastoma) que tienen el objetivo de detener el ciclo celular cuando identifican ADN dañado, contando con una línea más de defensa contra el cáncer (53-55).

Un estudio realizado en Baltimore por el Instituto Medico de Johns Hopkins, demostró que ante la presencia de VPH en el cáncer orofaríngeo una asociación favorable en relación con la respuesta a la terapia de inducción, 82% contra 55% en los VPH negativos. A los dos años de seguimiento, la supervivencia global fue mejor ante la presencia del virus, 95% contra 62% respectivamente, y el riesgo de progresión de la enfermedad fue 72% en comparación con los pacientes VPH negativo (16).En otro estudio en pacientes con CByO, se observó que la presencia de VPH16 se asoció a una mejor respuesta a la quimioterapia ($p=0.001$) y a la terapia combinada con quimioterapia y radioterapia ($p=0.0005$), así como a una mejor supervivencia ($p= 0.007$) (56).

En resumen, el CByO representa un importante problema de salud por las secuelas de su tratamiento, la alta incapacidad en las personas que lo padecen y la disminución en la calidad de vida, así como en la muerte. Por otra parte, es cada vez más evidente que el VPH es un factor importante a evaluar en pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo debido a las diferencias clínicas y el curso clínico de la enfermedad ante la presencia del virus. Además, es importante conocer la prevalencia y tipos de VPH en nuestro país. El conocer un pronóstico más preciso permitirá un tratamiento dirigido y adecuado con un mejor impacto en la supervivencia del paciente logrando disminuir la mortalidad en estos pacientes.

2. JUSTIFICACIÓN

La identificación del VPH en las neoplasias de cabeza y cuello en la institución no se efectúa de manera rutinaria, tampoco la presencia de biomarcadores que indiquen la posible infección, por lo tanto, no hay datos acerca de la prevalencia de la infección por VPH en los tumores de la cavidad bucal y orofaríngea. Por otra parte se ha considerado que las variables que implican un mayor riesgo para desarrollar la enfermedad no necesariamente son las mismas que indiquen un peor pronóstico, como es el caso del VPH. Además, el actual sistema de clasificación anatómica (TNM) no toma en cuenta la presencia de VPH del tumor, y por la importancia que éste parece tener en algunas de las neoplasias de la cavidad oral y orofaríngea, la estratificación pronóstica podría ser menos precisa.

Diversos estudios señalan mayores tasas de supervivencia en pacientes con VPH orofaríngeo; sin embargo, aún faltan datos que permitan conocer el impacto del VPH en el tejido tumoral con el pronóstico de la enfermedad, particularmente si se considera que existen más de 100 tipos.

Ante el número creciente de pacientes con CByO VPH positivo, es probable que el curso clínico de esta enfermedad pueda modificarse. Es necesario contar con las mejores herramientas de diagnóstico, una vigilancia congruente y la información epidemiológica específica a este problema de salud.

3. HIPÓTESIS

La presencia del VPH es un factor de supervivencia independiente en pacientes con CByO.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la supervivencia de los pacientes con CByO y VPH en el tejido tumoral de pacientes del INCan.

4.2 Objetivos Específicos

Determinar la frecuencia de VPH en el tejido tumoral a través de INNO-LiPA.

Calcular la supervivencia global y la supervivencia libre de recurrencia en los pacientes con CByO de acuerdo con la presencia de VPH.

Identificar otros factores asociados al desenlace de la enfermedad en una cohorte de pacientes con CByO.

5. METODOLOGÍA

5.1 Diseño

Estudio de cohorte retrospectivo durante el 2009 al 2013.

5.2 Selección de la muestra

Pacientes incidentes atendidos en el Departamento de Cabeza y Cuello del Instituto Nacional de Cancerología (INCan) con el diagnóstico histopatológico de carcinoma epidermoide, identificándose un total de 225 casos con cáncer oral y orofaríngeo. . Ciento cuarenta cumplieron con los criterios de inclusión, siendo el universo del análisis.

5.3 Criterios del estudio

5.3.1 Criterios de inclusión

Individuos mayores de 18 años, con cáncer bucal y faríngeo diagnosticado por estudio histopatológico. Se seleccionaron pacientes con: cáncer de lengua (ICD-9 141; ICD-10 C01 C02), encía (ICD-9 143; ICD-10 C03), piso de boca (ICD-9 144; ICD-10 C04), paladar y otras partes de la boca (ICD-9; ICD-10 C05 y C06), y cáncer de orofaringe (ICD-9 146; ICD-10 C9 y C10).

5.3.2 Criterios de exclusión

Pacientes con cáncer en piel de labio y glándulas salivales (ICD C07, C08).

5.3.3 Criterios de eliminación

Pacientes que no se encontró tejido en bloque de parafina

Falta de información de las variables de interés principales

Muestra inadecuada para la detección del VPH.

5.4 Unidad última de muestreo

Expediente clínico de cada paciente con su respectiva muestra de tejido tumoral embebido en bloques de parafina, obtenidas del archivo de patología, asignados con el número propio para su identificación (IC).

6. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se calculó con un 95% de confiabilidad y un margen de error del 0.05 con la fórmula comparación de proporciones y un poder de 80% con una supervivencia esperada en los VPH negativos del 73% versus 100%, de acuerdo a un estudio realizado en México(33). De acuerdo con la siguiente fórmula, se requerirían 111 pacientes considerando 20% de pérdidas.

$$N = \frac{[Z\alpha\sqrt{P(1-P)(1/q_1 + 1/q_2)} + Z\beta\sqrt{P_1(1-P_1)(1/q_1) + P_2(1-P_2)(1/q_2)}]^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

Donde:

$$q_1 = 1 - P_1$$

$$q_2 = 1 - P_2$$

$$P = q_1 P_1 + q_2 P_2$$

$$Z\alpha = 1.96 \text{ (}\alpha \text{ 0.05 para 2 colas)}$$

$$Z\beta = 1.28$$

P_1 = Proporción de sujetos con el predictor de la variable

P_2 = Proporción de sujetos sin predictor de la variable

* P_1 y P_2 = Proporción de sujetos que se esperan para presentar el evento

Donde:

$$q_1 = 0$$

$$q_2 = 0.27$$

$$P = 0.1971$$

$$P_1 = 1$$

$$P_2 = 0.73$$

$$Z\alpha = 1.96$$

$$Z\beta = 1.28$$

$$N = \frac{[1.96\sqrt{0.1971(0.8029)(3.703)} + 1.28\sqrt{.73(.27)(3.703)}]^2}{0.27^2} = \frac{6.727}{0.0729} = 92.28$$

$$N = 92.28 \times 20 = 18.45$$

$$N = 92.28 + 18.45 = 110.73 = 111 \text{ pacientes}$$

Stephen B. Hulley, Steven R. Cummings; *Designing Clinical Research*, Editorial Lippincott, 2^{da} Edición pp.85-87

7. CONSIDERACIONES ETICAS

7.1 Obtención del consentimiento informado

El estudio fue revisado y aprobado por los Comités Institucionales del Instituto Nacional de Cancerología, y siguió los lineamientos internacionales para investigación definidos en la Declaración de Helsinki en su revisión de 1996, en concordancia con las Guías de Buena Práctica Clínica, con apego a la Ley General de Salud (Título Segundo, Capítulo I: artículo 13 y Título Sexto, Capítulo único) de los Estados Unidos Mexicanos.

Debido a la naturaleza del estudio, no fue necesario el consentimiento informado, ya que el riesgo implicado es inferior al mínimo, debido a que se utilizó tejido fijado y sólo se revisaron los datos del expediente clínico sin efectuar maniobra alguna en los pacientes. La finalidad de conocer la frecuencia del VPH en el tumor a través de tejido fijado en formol y embebido en parafina, así como conocer si existe diferencia en la supervivencia global y libre de la enfermedad en la presencia o ausencia del VPH.

Durante el estudio, se mantuvo la confidencialidad de la información, tanto de la correspondiente a patología como la información clínica y epidemiológica relacionada. Este estudio puede arrojar datos importantes para el conocimiento médico, tanto en información epidemiológica, como información relacionada al pronóstico de los pacientes.

8. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS

Fue imprescindible que los pacientes del estudio contarán con expediente clínico, laminillas antes del primer tratamiento y tejido neoplásico embebido en parafina con calidad suficiente para realizar los cortes para detección del virus. Para la localización de estos, se realizó una búsqueda de acuerdo al expediente clínico, en los registros de cabeza y cuello del hospital y se seleccionaron los pacientes incidentes con carcinoma epidermoide, basoloide y acatolítico. Posterior a esto, se ubicó el número de IC de las laminillas antes del primer tratamiento para verificar la certeza diagnóstica histopatológica además de ubicar y contabilizar las células neoplásicas, el parámetro fue entre 4000 y 4500 células. De todas las laminillas revisadas, se seleccionó a la mejor de cada paciente y en su caso si no se cumplía con el parámetro del número de células, se seleccionaban 2 o más laminillas que cumplieran con los criterios.

Posterior a esto, se ubicaron los bloques en archivo de patología y estos fueron observados macroscópicamente para asegurar calidad y grosor del tejido, con el fin de contrastar la región de la laminilla seleccionada con el bloque para que correspondiera dicha área en la realización del corte directo o en su caso la reinclusión del tejido seleccionado. El grosor y el número de células fueron factores importantes para la determinación del número de cortes.

Concomitantemente se realizó la captura de los datos por medio del expediente clínico de los pacientes con su bloque respectivo. Se registraron variables sociodemográficas, clínicas y de seguimiento. Concomitante se efectuaron los cortes para la detección del VPH y evitar la degradación

9. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

9.1 Calidad para obtención y purificación del ADN

Para la obtención del ADN de los bloques de parafina se utilizó el KIT: QIAamp® DNA FFPE Tissue (Marca QIAGEN No. Cat. 56404).

El material de partida para la purificación de ADN fueron cortes con un espesor de hasta 10 micras. Se emplearon navajas nuevas por cada muestra, limpiando el cabezal del micrótopo con DNA RAY, y cada cuatro muestras se sometieron a rayos ultravioleta durante 2 minutos. El tejido se cortó en un cuarto por separado, empleado para tales fines, con el objeto de evitar la contaminación cruzada. Se efectuaron cortes *ad hoc*.

Cada proceso se realizó en diferentes cuartos con ruta unidireccional. La extracción de DNA se realizó en campana de flujo (labgard marca Nuare) para evitar aerosoles que contaminaran las muestras. Para la extracción se realizaron los siguientes pasos:

9.2 Desparafinación de las muestras

Se colocó inmediatamente las secciones de tejido en un tubo eppendorf de 1,5 o 2 ml y se añadió 1 ml de xileno a la muestra, se centrifugó y se eliminó el sobrenadante, cuidando de no tocar la pastilla del fondo del tubo. Posterior a esto se añadió 1 ml de etanol (96-100%) al sedimento y se mezcló mediante agitación con vórtex (marca velp scientific). La función del etanol es extraer el xileno residual.

Se centrifugó durante 1 minuto y se eliminó el sobrenadante con la pipeta cuidando de no retirar la pastilla, estos pasos se repitieron 2 veces.

9.3 Extracción del ADN

Se abrió el tubo e incubó a temperatura ambiente hasta 37° hasta que todo el etanol residual se evaporó. Se resuspendió la pastilla en 180 µl de reactivo ATL contenido en el kit, añadí 20µl de proteinasa K, y se mezcló en vórtex. Incubo a 56 °C durante 1 h (o hasta que la muestra fue lisada por completo). Posterior a esto se incubó a 90 °C durante 1 h.

Se añadió 200 µl de reactivo AL (contenido en el kit) y 200 µl de etanol (96-100%) a la muestra, y se mezcló con vórtex. Se centrifugó brevemente el tubo de 1.5 ml para retirar las gotas desde el interior de la tapa.

Posteriormente, se transfirió cuidadosamente todo el lisado a la columna QIAamp MinElute (colocada dentro de un tubo de recolección de 2 ml que viene en el kit) sin mojar el borde, se cerró la tapa y se centrifugó a 8000 rpm durante 1 min.

Se colocó la columna QIAamp MinElute en un tubo de recolección de 2 ml limpio y se añadió 500 µl de Buffer AW1 (Contenido en el kit) sin mojar el borde. Se cerró la tapa y centrifugó a 6000 xg (8.000 rpm) durante 1 min.

La columna QIAamp MinElute se colocó en un tubo de recolección de 2 ml limpio, y se desechó el tubo de recolección que contiene el flujo del paso anterior. Se centrifugó a 14 000 rpm durante 3 minutos para secar la membrana por completo.

Se colocó la columna de la QIAamp MinElute en un tubo limpio de 1.5 ml y se desechó el tubo de recolección que contiene el flujo. Cuidadosamente se abrió la tapa de la columna QIAamp MinElute y se aplicaron 20-100 µl del Buffer ATE en el centro de la membrana. Se cerró la tapa y se incubo a temperatura ambiente (15-25° C) durante 5 min. Posteriormente se centrifugó a 14 000 rpm durante 1 min. Para después cuantificar el ADN obtenido por medio del espectrofotómetro (marca Nanodrop ND-100).

9.4 Detección y tipificación del virus

Con la finalidad de detectar los tipos de papiloma en las muestras se realizó la técnica de **INNO-LiPa, con el kit: INNO-LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics, Cat. 81073)** basado en el principio de hibridación reversa, diseñado para la identificación de 28 genotipos diferentes de Virus Papiloma Humano (VPH) mediante la detección de secuencias específicas de la región L1 del genoma.

El ensayo utiliza la amplificación de regiones de virus de papiloma de aproximadamente 65pb con un juego de oligonucleótidos llamados SPF10. El ensayo detecta algunos de los genotipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82), y genotipos de VPH de bajo riesgo (6, 11, 40, 43, 44, 54, 70), así como algunos tipos adicionales (69, 71, 74). El procesamiento automatizado de las tiras se llevó a cabo utilizando el equipo Auto-LiPA™ 48.

El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera:

Se realizó la mezcla de PCR en cuarto especial con reactivos que contiene el kit de la siguiente manera: Composición de la mezcla para 1 muestra:

Se tomó 37,7 µl Master Mix y colocarlo en tubos especiales para PCR

En un cuarto diferente, a los tubos de PCR se añadió 10µl de ADN, se colocaron en termociclador con las siguientes condiciones de temperatura y tiempo:

<u>PASOS</u>	<u>TEMP.</u>	<u>TIEMPO</u>	
Degradación de ADN que contiene uracilo	37 ° C	10 min	
Activación de ADN polimerasa (AmpliTaq Gold)	94 ° C	9 min	
Desnaturalización	94 ° C	30 min	
Alineación de cebadores	52 ° C	45 seg	Repetir el ciclo 40 veces
Extensión de cebadores	72 ° C	45seg	
Mantener a 72 ° C			
Duración de <2 horas			

Se retiraron los tubos del termociclador al cumplirse los ciclos, se almacenó inmediatamente el amplicón a $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ para posteriormente proceder al ensayo "INNO-LiPA HPV Genotyping Extra". Para evitar la contaminación de las muestras y evitar resultados falsos positivos, el procedimiento se realizó en tres habitaciones separadas físicamente, cada uno con su propio conjunto de suministros y pipetas.

Para llevar a cabo el ensayo, las tiras reactivas se rotularon con lápiz para la identificación de la muestra por IC, numerándolas arriba de la línea de marcador (raya color azul) y se colocaron con pinzas (evitar tocarlas con la mano) en el recipiente multicanal, con la membrana recubierta hacia arriba.

Se prepararon los reactivos a utilizar ya que el buffer de hibridación y el astringente tuvieron que calentarse a 49°C . Se colocaron 10 μl de desnaturalizante en la esquina superior de cada canal y se añadió 10 μl del amplificado biotinilado a la solución de desnaturalización, cuidadosamente se mezclaron pipeteando arriba y abajo varias veces.

Se colocaron en la charola multicanal con las tiras en el equipo y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente ($20 - 25^{\circ}\text{C}$).

El equipo llevó a cabo lo siguiente en agitación constante:

Agregó 2ml de solución de hibridación e incubó con agitación a 49°C durante 60 minutos. Lavó dos veces aspirando y dispensando 2ml de solución astringente, dejando una tercera vez en incubación por 30 minutos a 49°C . Añadió 2 ml de solución de conjugado a cada cubeta y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posterior a esto se lavó cada tira dos veces durante 1 minuto con 2 ml de solución de enjuague y lavó una vez más con 2 ml de tampón de sustrato y aspiró.

Se agregó 2 ml de solución de sustrato a cada canal e incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y aspiró.

Posteriormente, se lavaron las tiras dos veces con 2 ml de agua destilada mientras agitaba durante al menos 3 minutos a temperatura ambiente. En éste paso se observó el revelado de la tira, con las líneas marcadas que pudieron ser interpretadas posteriormente.

Con el uso de pinzas, se quitaron las tiras de los canales y se colocaron en papel absorbente. Se dejó que las tiras se secaran completamente para poder fijarlas a la hoja de presentación de datos para su interpretación. La línea superior es la línea de marcador. La línea de control conjugado ayudó a la alineación correcta de las tiras en la hoja de presentación de datos.

9.5 Control de calidad

Esta técnica tiene diversos controles de calidad y son los siguientes:

La primera línea (inmediatamente por debajo de la línea azul del marcador) es la línea del control del conjugado. Esta línea debe estar siempre presente y debe tener aproximadamente la misma intensidad en cada tira en la misma prueba.

La segunda línea es una línea de control de ADN humano. El kit contiene los oligonucleótidos que amplifican un fragmento del gen HLA-DPB1 humano se añaden a la kit para supervisar la calidad de la muestra y la eficiencia de extracción. Una muestra se considera HPV positivo si al menos una de las líneas específicas del tipo o uno de las líneas de control de VPH es positiva.

Se debe utilizar siempre el control positivo que contiene el kit, que contiene HPV6 y HLA-DPB1 y debe reaccionar en las líneas: Control Conjugado, HDNA control, control HPV 1, y la línea 1 (VPH6). Como control negativo se utilizó riñón de ratón macho cepa Windstar entre cada 4 muestras.

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva y se resumió con medidas de tendencia central para las variables cuantitativas de acuerdo con la distribución de la variable.

Se efectuó un análisis bivariado de los factores conocidos para supervivencia del CByO, estimando la asociación a través del Hazard Ratio (HR) e intervalos de confianza al 95 (I.C.95%) por medio del modelo de regresión de Cox, verificando el supuesto de proporcionalidad en el tiempo. También se probó la significancia conjunta en las categorías de las variables.

La interacción entre el VPH y otros factores pronósticos se evaluaron por medio del modelo de regresión de Cox en un análisis multivariado estratificado, considerando variables confusoras y de interacción. Los datos de supervivencia se analizaron mediante el método de Kaplan Meier y las curvas de supervivencia se compararon a través de la prueba de long-rank por medio del paquete estadístico STATA versión 12.

11. RESULTADOS

Durante este periodo se identificaron 225 casos incidentes de cáncer de cabeza y cuello, de estos, 177 fueron carcinoma epidermoide, 18 no tenían tejido para procesar después de haber revisado laminillas, y 30 no contaban con calidad ni cantidad suficiente de tejido. Por lo tanto, se incluyeron 140 pacientes para el análisis.

11.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

11.1.1 Variables antecedentes

Se incluyeron 75 mujeres (53.7%) y 65 hombres (46.2%). La media de edad al diagnóstico fue de 61 años con un rango de 25 a 94 años. El 62.1% completó educación básica, la media de ingreso mensual fue de \$3624 con un rango de \$55 a \$22000; el 58.5% estaban desempleados.

El 33.5% reportó antecedentes heredofamiliares a cáncer, y de estos, el 5% tenía antecedentes a cáncer oral y/o orofaríngeo. El 45.4% negó consumo de alcohol, y el 54.1% no reportó el hábito de fumar. El 86.1% eran residentes de las zonas conurbadas de la Ciudad de México.

Tabla 1. Variables sociodemográficas de los pacientes con cáncer oral y orofaríngeo

<i>Variable</i>	<i>n (%)</i>	<i>Variable</i>	<i>n (%)</i>
Sexo		Ocupación	
Masculino	65 (46.3)	Desempleado	82 (58.5)
Femenino	75 (53.7)	T. no calificados	37 (26.4)
		T. calificado	21 (15.0)
Edad al Dx		AHF a cáncer	
25-69	101 (72.9)	No	90 (64.2)
60-94	39 (2.8)	Si	47 (33.5)
		Desconoce	3 (2.1)
Edo. civil		Alcohol n=110	
Soltero	43 (22.1)	Negado	50 (45.4)
Casado	71 (50.7)	Ex-bebedor	25 (22.7)
Unión libre	15 (10.6)	Bebedor	15 (13.6)
Viudo	23 (16.4)	Ocasional	20 (18.1)
Escolaridad		Índice tabáquico	
Analfabeta	24 (17.1)	n=109	
Educación básica	87 (62.1)	Riesgo alto	9 (8.6)
Educación media superior	14 (10.0)	Riesgo Intenso	10 (9.1)
Profesionales	15 (10.7)	Riesgo Moderado	5 (4.5)
		Sin riesgo	26 (23.8)
		No fuman	59 (54.1)

Dx= Diagnóstico, AHF= Antecedentes heredofamiliares

11.1.2 Variables clínicas

Al momento del diagnóstico, 41 (30.6%) tenían sobrepeso, 52 (37.1%) tenían alguna restricción en su calidad de vida medida por la escala de ECOG, 52 (25.7%) tenían dificultades con actividades rutinarias de la vida diaria, con signos y síntomas de la enfermedad.

Tabla 2. Características clínicas de los pacientes con cáncer oral y orofaríngeo

Variable	Total (n=140) n (%)
Grado Comorbilidad	
Sin comorbilidad	107 (76.9)
Comorbilidad leve	25 (17.9)
Comorbilidad moderada	4 (2.8)
Comorbilidad grave	3 (2.1)
IMC n=134	
Peso bajo	9 (6.7)
Peso normal	53 (39.5)
Sobrepeso	41 (30.6)
Obesidad	31 (22.1)
Índice Karnofsky	
≥90	104 (74.2)
≤80	36 (25.7)
Escala ECOG	
Actividad normal	81 (57.8)
Actividad restringida	52 (37.1)
Incapacidad laboral	7 (5.16)

IMC=Índice de Masa Corporal

11.1.3 Variables referentes a la neoplasia

El 92.8% (n=130) de las neoplasias fueron de cavidad oral, el 85.7% (n=120) eran carcinomas epidermoides; el 80% (n=112) tuvieron una diferenciación histológica moderada y el 49.2% (n=69) eran neoplasias avanzadas resecables. La descripción de las variables se encuentra en la tabla 3.

Respecto al estadio clínico, el 42%(n=59) se encontraban en estadio clínico IV al momento del diagnóstico, 9 (6.4%) en cavidad orofaríngea y 50 (35.7%) en cavidad oral (Tabla 4).

La media de albúmina antes del primer tratamiento fue de 3.7 ± 0.56 mg/dL; la media de hemoglobina, plaquetas y leucocitos al diagnóstico fue de 14.1 ± 2.2 mg/dL, 209.9 ± 95.3 μ l, y 9.0 ± 5.6 células/mL, respectivamente.

Tabla 2. Características referentes a la neoplasia

Variables	Total (n=140)	
	n	(%)
Localización		
anatómica	130	(92.8)
Cavidad oral	10	(7.1)
Cavidad orofaríngea		
Tipo de Carcinoma		
Epidermoide	120	(85.7)
Con áreas acantolíticas	18	(12.8)
Basoloide	2	(1.4)
Grado histológico		
Bien diferenciado	22	(15.7)
Moderadamente	112	(80.0)
Poco diferenciado	6	(4.2)
Clasificación TNM		
Temprano	55	(39.2)
Avanzado reseccable	69	(49.2)
Avanzado irresccable	14	(9.9)
Metástasis	2	(1.4)

TNM= Tumor Nodo Metástasis

Tabla 3. Etapa clínica y localización por género

Variable	Cavidad Oral	Cavidad Orofaringe
	Total (n=130)	Total (n=10)
	n (%)	n (%)
Sexo		
Hombre	57 (40.7)	8 (5.7)
Mujer	73 (52.1)	2 (1.4)
Etapa clínica		
Estadio I	20 (14.2)	1 (0.07)
Estadio II	34 (24.2)	0 -
Estadio III	26 (18.5)	0 -
Estadio IV	50 (35.7)	9 (6.4)

11.1.4 Variables referentes al tratamiento

Como primer tratamiento se realizó cirugía 47 (33.5%); 15 (10.7%) glosectomías parciales y 21 (15%) hemiglosectomías. Sesenta y tres pacientes (49.6%) tuvieron una respuesta completa al tratamiento primario.

Tabla 4. Características referentes al primer tratamiento

Variables	Total (n=140)	
	n	(%)
Tratamiento primario		
Cx	47	(33.5)
Rt	19	(13.5)
Qt/Rt	36	(25.7)
Qt/Rt +Cx	38	(27.1)
Tipo de Cx		
No realizaron Cx	52	(37.1)
Glosectomía parcial	15	(10.7)
Hemiglosectomía	21	(15)
Glosectomía total	1	(.7)
Otras	51	(36.4)
Respuesta al 1er. Tx		
n=127	17	(13.9)
Persistencia	20	(15.7)
Respuesta clínica parcial	63	(49.6)
Respuesta clínica completa	15	(11.8)
Respuesta patológica completa	12	(9.4)
Progresión		

Cx= Cirugía, Rt=Radioterapia, Qt/Rt= Concomitancia entre quimioradioterapia.

A 22 pacientes (15.7%) se les realizó cirugía como segunda línea de tratamiento, 35 (33%) tuvo progresión locoregional.

La media de demora en el diagnóstico reportada por los pacientes fue de 12.2 meses \pm 20.6 meses con rangos de 22 días hasta los 182 meses. La demora de atención al llegar al Instituto oscila 0 días hasta los 62 días, con una media de 4.3 meses. La media de la demora al primer tratamiento es de 60.4 días \pm 53.8 días, con un rango de 4 días hasta 537 días.

Tabla 5. Características de seguimiento de pacientes

Variables	Total (n=140)	
	n	(%)
Segunda Línea Tx		
Ninguno	90	(64.2)
Rt	5	(3.5)
Cx	22	(15.7)
Cx+ Qt/Rt	6	(4.2)
Qt/Rt	17	(13.0)
Localización n=106		
Recurrencia/Progresión		
Sin recurrencia/progresión	41	(38.6)
Recurrencia /Progresión	65	(66.3)

Cx= Cirugía, Rt=Radioterapia, Qt/Rt= Concomitancia entre quimioradioterapia

11.1.6 Virus Papiloma Humano

La prevalencia detectada del virus fue del 20.7% (n=29); se encontraron 9 tipos de VPH, siendo el VPH 16 el más frecuentemente hallado (17.1%). Constituyó el 82.7% del grupo VPH positivos (n=29). Seis pacientes (20.6%) tuvieron alguna coinfección.

Tabla 6. Prevalencia y tipos de VPH detectados

Variable	Total (n=140) n (%)
Tipos VPH detectados	
16	24 (17.1)
18	4 (2.8)
66	3 (2.1)
11	2 (1.4)
6	1 (0.7)
35	1 (0.7)
52	1 (0.7)
44	1 (0.7)
58	1 (0.7)
Número de tipos de VPH en cada muestra	
1 tipo	23 (79.3)
Coinfeccion (n=6)	
2 tipos	4 (13.7)
3 tipos	1 (3.4)
4 tipos	1 (3.4)

Estratificando respecto a los VPH positivo, 17.8% (n=25) pertenecían a cavidad oral, 17.1% (n=24) eran carcinomas epidermoides y el 18.5%(n=26) presentaban un grado histológico moderadamente diferenciado al momento del diagnóstico.

Tabla 7. Variables de la neoplasia estratificada por VPH

<i>Variables</i>	<i>Total n=140 n (%)</i>	<i>VPH positivo (n=29) n (%)</i>	<i>VPH negativo (n=111) n (%)</i>
Localización anatómica			
Cavidad oral	130 (92.8)	25 (17.8)	105 (75.0)
Cavidad orofaríngea	10 (7.1)	4 (2.8)	6 (4.2)
Tipo de Carcinoma			
Epidermoide	120 (85.7)	24 (17.1)	96 (68.5)
Con áreas acantóticas	18 (12.8)	5 (3.5)	13 (9.2)
Basoloide	2 (1.4)	-	2 (1.4)
Grado histológico			
Bien diferenciado	22 (15.7)	2 (1.4)	20 (14.2)
Moderadamente	112 (80.0)	26 (18.5)	86 (61.4)
Poco diferenciado	6 (4.2)	1 (0.7)	5 (3.5)

12. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

12.1 Supervivencia específica de la enfermedad

La probabilidad de sobrevivir 5 años para la cohorte fue del 0.71%, con una mortalidad del 36.4%(n=51). La tasa de letalidad fue del 35% (n=49).

La media de seguimiento fue de 25.92 meses (1– 72 meses). La probabilidad de un sujeto de llegar vivo a los 4 años del diagnóstico es del 15.7% con un I.C 95% (0.10-0.22).

. ltable _t

Tabla 8. Tabla de vida de pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo.

Intervalo		Total	Censuras	Sobrevida	Error estándar	Intervalos de confianza (I.C.95%)	
0	1	140	46	0.6714	0.0397	0.5869	0.7424
1	2	94	26	0.4857	0.0422	0.4008	0.5654
2	3	68	29	0.2786	0.0379	0.2071	0.3543
3	4	39	17	0.1571	0.0308	0.1026	0.2222
4	5	22	11	0.0786	0.0227	0.0416	0.1306
5	6	11	10	0.0071	0.0071	0.0007	0.0359
7	8	1	1	0.0000	.	.	.

El mayor número de pacientes en riesgo ocurre en el periodo de 0 a 1 año como se puede observar en la figura 1.

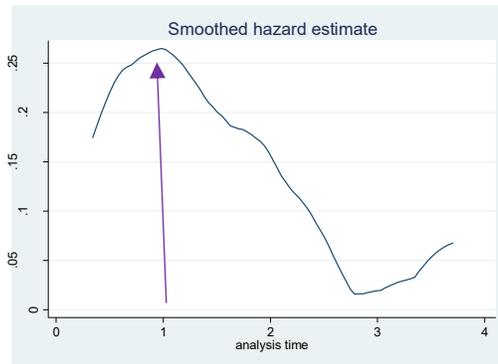


Fig. 1 Estimador del riesgo en el periodo de estudio

Suavizamiento de la estimación de Hazard

La probabilidad de sobrevivir de un sujeto en esta cohorte al primer año se reduce 51.43% y al quinto año la probabilidad de sobrevivir se reduce el 99.2% (Tabla 10)

Tabla 9. Tabla de función riesgos acumulado de pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo

. ltable _t, interval (1) graph failure

Intervalo	Total	Muertes	Densidad acumulativa	Error estándar	Intervalos de confianza (I.C.95%)
0 1	140	46	0.3286	0.0397	0.2576 0.4131
1 2	94	26	0.5143	0.0422	0.4346 0.5992
2 3	68	29	0.7214	0.0379	0.6457 0.7929
3 4	39	17	0.8429	0.0308	0.7778 0.8974
4 5	22	11	0.9214	0.0227	0.8694 0.9584
5 6	11	10	0.9929	0.0071	0.9641 0.9993
7 8	1	1	1.0000	.	. .

12.2 Supervivencia global y Virus Papiloma Humano

La densidad de mortalidad siendo VPH positivo fue de 0.521 y para los pacientes no expuestos fue de 0.448. La probabilidad de un paciente de morir en esta cohorte siendo positivo a VPH fue 0.379 contra quienes fueron negativos de 0.342 condicionado a no haber muerto en años anteriores, y sin estar ajustado por otras covariables; sin embargo, en el análisis multivariado estratificado se encontró que los pacientes con tumores VPH positivos mostraban una reducción del 75% de

riesgo de morir por cáncer (HR=0.24; IC 95%=0.06-0.87) después de ajustar por edad, etapa clínica, tipo de tratamiento primario y albúmina sérica (al estratificarla por progresión de la enfermedad).

La mediana de supervivencia estratificada y ante la presencia del virus fue de 2.05 años versus 1.90 años. La comparación de curvas de supervivencia (estratificadas) fue significativa (log-rank=0.0001).

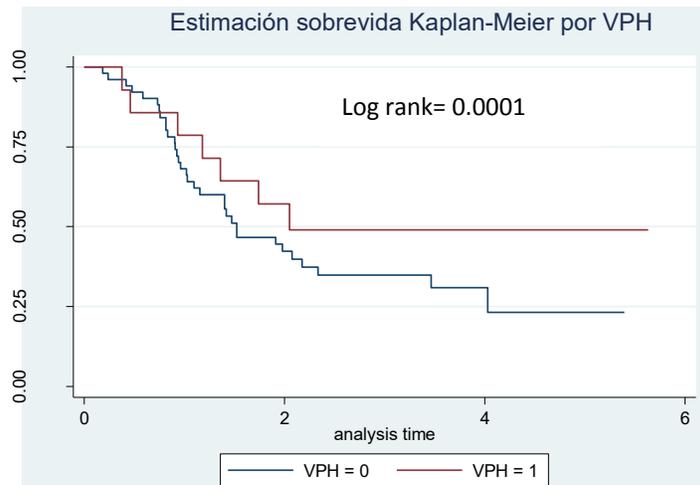


Fig. 2. Sobrevida global de la enfermedad estratificada

12.3 Supervivencia libre de enfermedad

Se refiere a neoplasias tempranas y avanzadas resecables. Donde el 61.3% (n=65) presentaron recurrencia y progresión.

Al realizar el cálculo de la función de sobrevida se mantuvieron 114 pacientes presentando 49 pacientes el evento (recurrencia/progresión). El tiempo total en riesgo fue de 198.64 años persona y el tiempo máximo de seguimiento fue de 6.9 años, con una mediana de 1.3 años. La mediana para los pacientes VPH positivos fue de 1.41 años versus 0.75 años. Se encontró diferencias significativas en las curvas de sobrevida, estratificando por recurrencia (log-rank=0.0001).

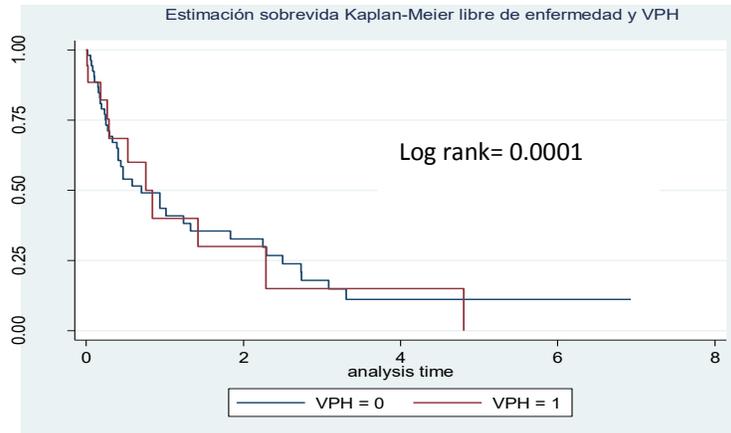


Fig. 3. Sobrevida libre de la enfermedad

12.4 Supervivencia libre de progresión

Se refiere a neoplasias avanzadas irresecables y metastásicas, encontrando a 16 pacientes en esta categoría, de los cuales 11 presentaron el evento. El tiempo total en riesgo fue de 6.68 años persona y el tiempo máximo de seguimiento fue de 1.8 años.

De 16 pacientes que presentaron el evento, sólo 3 pacientes fueron VPH positivos y de estos, 2 murieron, quedando a un sujeto libre de recurrencia siendo imposible obtener la prueba de log-rank. La mediana de supervivencia para los pacientes VPH positivos fue de 0.11 versus VPH negativos con 0.038 años. Figura 4.

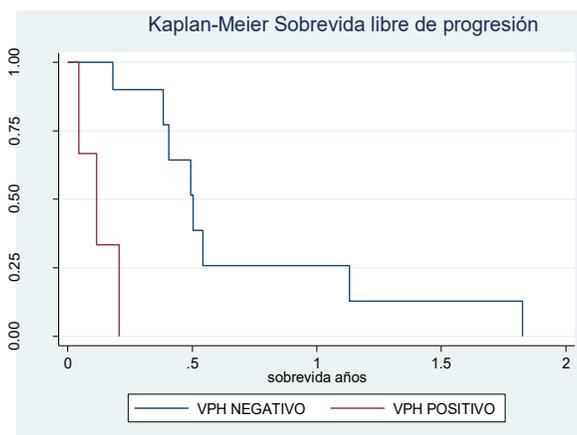


Fig. 4. Sobrevida libre de progresión estratificada

13. ANALISIS MULTIVARIADO

Las variables asociadas al pronóstico de forma univariada, se incluyeron en el análisis multivariado, obteniendo una regresión de Cox estratificada por recurrencia para la obtención de un modelo flexible y adecuado, debido a que no se encontraron sujetos con VPH positivo y recurrencia/progresión. Por la significancia de esta última variable, se decidió estratificar y mostrar el efecto de las demás covariables.

Las variables significativas para la supervivencia global en el análisis bivariado fueron edad, tipo de tratamiento primario, respuesta al primer tratamiento, índice de Kafnorsky, etapa clínica, leucocitos, neutrófilos y albúmina antes del primer tratamiento.

Después de efectuar diversos modelos, las variables que mejor explican al modelo fueron VPH, edad, etapa clínica, tipo de tratamiento primario, progresión de la enfermedad y albúmina antes del tratamiento ($p=0.0004$).

Tabla 10. Modelo de riesgos proporcionales de supervivencia específica a cáncer

Variables	Análisis bivariado			Análisis multivariado*		
	HR	IC 95%	Valor de p	HR	IC 95%	Valor de p
VPH						
Positivo	1.14	0.58-2.24	0.689	0.24	0.06-0.87	0.030
Edad al Dx						
70-94	1.90	1.07-3.3	0.033	1.10	0.43-2.7	0.824
Estadio						
Etapa III y IV	2.71	1.41-5.22	0.003	3.14	0.90-10.9	0.071
Tratamiento 1rio.						
Radioterapia	3.12	1.29-7.51	0.011	47.78	6.7-340	0.001
Qt/Rt	3.98	1.85-8.5	0.001	4.34	1.2-15.5	
Qt/Rt y Cx	1.08	0.43-2.66		5.97	1.2-27.5	0.024
						0.022
+Albúmina	0.37	0.21-0.66	0.001	0.23	.095-0.56	0.001

*Análisis estratificado por recurrencia

HR= Hazard ratio, Dx= Diagnostico, Cx=Cirugía, Qt=Quimioterapia Rt=Radioterapia +Albúmina variable continúa

Categorías de referencia: VPH (Negativo), Edad al dx (25-69 años), Estadio clínico (Etapa I y II), Tratamiento 1rio.(Cx)

14. Variables pronósticas al desenlace en la supervivencia global independientes de estratificación

14.1 Edad

La mediana de supervivencia de los pacientes con edades entre 70 a 94 años al momento del diagnóstico fue de 2.06, teniendo 1.10 veces de riesgo de morir comparado con los pacientes con edades de 25 a 69 años al momento del diagnóstico (prueba de log-rank $p=0.0001$) mostrando diferencias en la función de sobrevida.

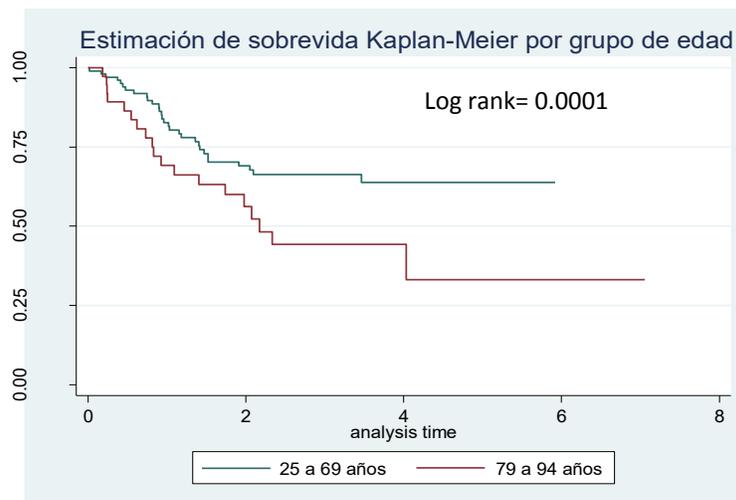


Fig. 5. Estimación de sobrevida Kaplan-Meier por edad al Dx

14.2 Etapa clínica

La mediana de supervivencia para los pacientes que se encuentran en etapa clínica I y II fue de 2.35 años versus etapa III y IV con 1.18 años.

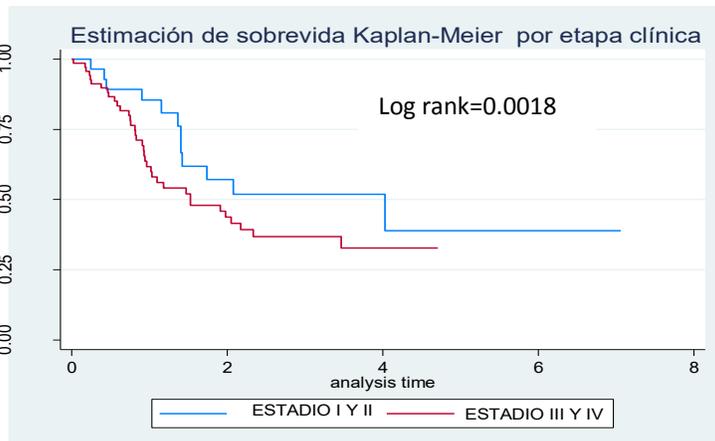


Fig. 6. Estimación de sobrevida Kaplan-Meier por etapa clínica

14.3 Tratamiento primario

La mediana de seguimiento en pacientes con cirugía fue de 2.35 años, a los pacientes que sólo recibieron radioterapia fue de 1.5 años, y a quien se les aplicó quimioradioterapia fue de 0.98 años. Aquellos que fueron tratados con quimioradioterapia + cirugía la mediana de seguimiento fue de 2.30 años. En el análisis multivariado, el tipo de tratamiento fue altamente significativo en todas sus categorías.

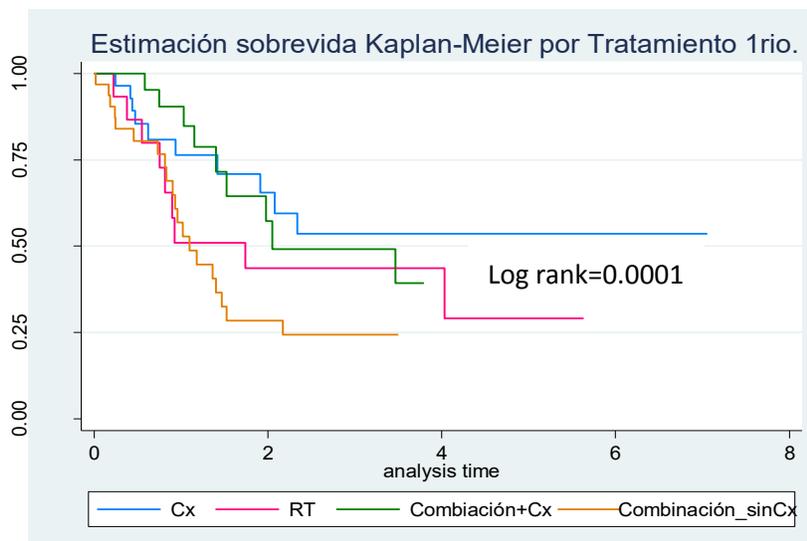


Fig. 7. Estimación de sobrevida Kaplan-Meier por Tx 1rio

14.4 Tipo de cirugía como tratamiento primario

Los pacientes de esta cohorte, a quien se les realizó glosectomía parcial; tienen 59% menor riesgo de morir comparado con los pacientes que no recibieron cirugía (log-rank=0.0001).

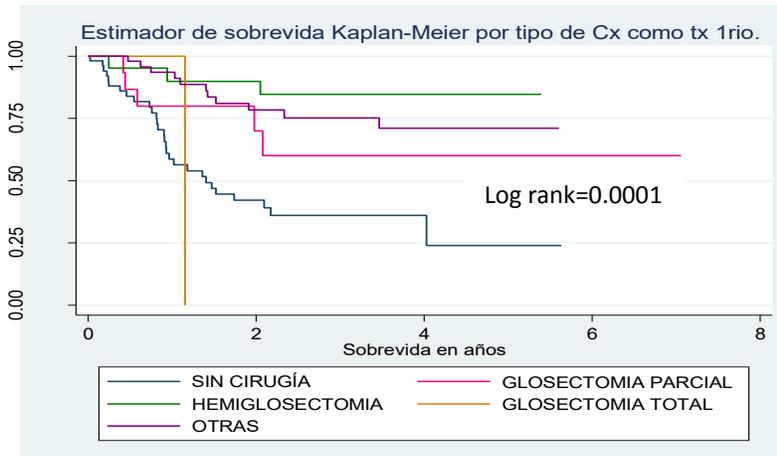


Fig. 8. Estimación de sobrevivida Kaplan-Meier por tipo de Cirugía

14.5 Respuesta al primer tratamiento

Los pacientes que presentaron respuesta patológica completa, experimentaron mayores tasas de sobrevivida ($p= 0.0001$)

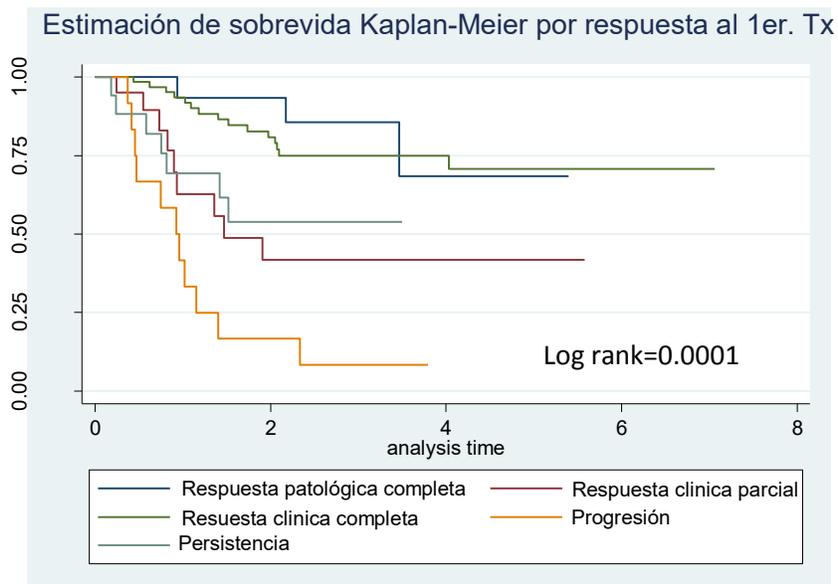


Fig. 9. Estimación de sobrevivida Kaplan-Meier por respuesta al Tx 1rio

14.6 Índice de Karnosky

De manera similar, los pacientes de esta cohorte con escala de Karnofsky menor o igual de 80 tuvieron 2.03 veces de riesgo de morir comparativamente con los pacientes con Karnofsky igual o mayor de 90 ($p= 0.0009$).

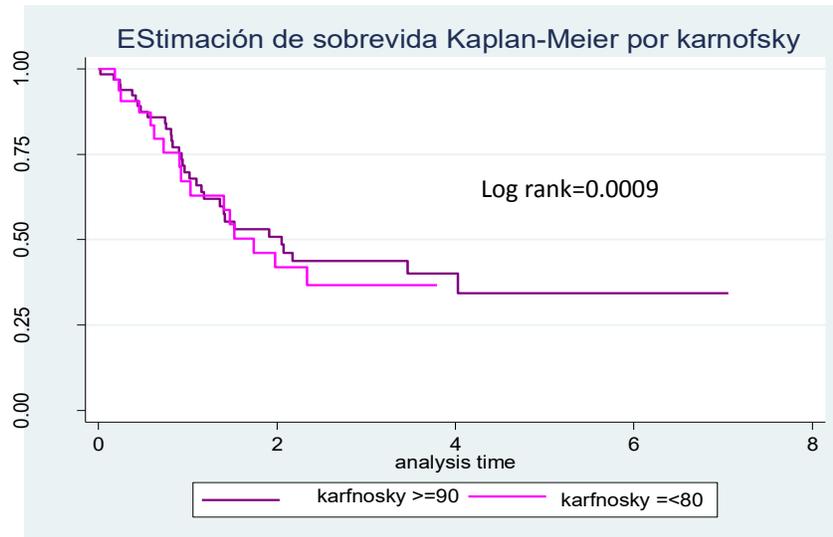


Fig. 10. Estimación de sobrevida Kaplan-Meier por respuesta al Tx 1 rio

15. DISCUSIÓN

Las neoplasias de cavidad oral y orofarínge se caracterizan por una etiología multifactorial; sin embargo, en nuestro medio existe poca información publicada en relación con estas neoplasias y el curso clínico de la enfermedad.

En este estudio se investigaron factores sociodemográficos, clínicos y patológicos, además de la presencia del VPH en tejido tumoral, tratando de establecer el papel de éste como factor pronóstico en el CByO.

Este, es uno de los primeros estudios a nivel nacional que investiga de manera concomitante, mediante un diseño de cohorte retrospectiva el análisis de factores que pueden impactar en el desenlace de estas neoplasias, incluyendo el VPH.

El VPH ha cobrado un interés creciente como factor de riesgo y como factor independiente de supervivencia global en los CByO. Por otro lado, con la mejora de los métodos de diagnóstico, la comprensión del papel VPH, junto con otros factores pronósticos ya conocidos, permite cada vez más conocer con una mejor precisión el curso de la enfermedad. Esto a su vez puede permitir brindar una mejor calidad de la atención médica e impactar sobre la calidad de vida de los pacientes con CByO.

En este estudio se encontró en el análisis univariado una asociación en la supervivencia global con la edad, índice de Karnofsky al diagnóstico, estadio clínico, tratamiento primario, respuesta al primer tratamiento, localización de la recurrencia o progresión, leucocitos al diagnóstico y albúmina sérica al primer tratamiento. En el análisis multivarado, el VHP se asoció de manera independiente a un mejor pronóstico, reduciendo el riesgo de morir por este tipo de neoplasias en pacientes con recurrencia (HR=0.24, p= 0.030, I.C. 95%= 0.06-0.87). Este resultado es similar al realizado por Guo T, et.al y el "Radiation Therapy Oncology Group (RTOG)", ambos informando que la presencia de VPH es un factor protector independiente, aún con la progresión de la enfermedad (HR=0.48, p=0.01 I.C.=0.27-0.84), por lo que sugieren que debe considerarse como factor de estratificación pronóstica, tanto para la recurrencia como para la enfermedad metastásica (57-59).

La prevalencia reportada por VPH en esta cohorte fue de 20.7% concordando con un estudio realizado en Taiwan por Li-Ang Lee y cols.(60); así como a un metanálisis italiano realizado por Termine y cols.(61), en donde se incluyeron estudios de países como Estados Unidos, Francia, Canadá y Alemania. Nuestros datos, también son consistentes con la revisión sistemática de Isayeva y cols. (62), misma que incluye países de América Latina como México, Brasil, Puerto Rico, Argentina y Venezuela, además de Estados Unidos, España, Alemania, Japón, India y Sudáfrica. En esta revisión la prevalencia de VPH fue de 20.2%, muy similar a la hallada en nuestro estudio. Otros estudios, han informado una prevalencia discretamente más alta (27).

El tipo de VPH más prevalente en esta serie fue el VPH 16, lo que es consistente con lo informado en la literatura (63-66) También se encontraron tipos de VPH menos frecuentes como el 35,44, 52(60), 58(67, 68) y 66, Kreimer y cols (27), y Ligen y cols(69). Similar a estos autores, en nuestro estudio se utilizaron cebadores SPF10 y se obtuvieron tipos de VPH similares con una prevalencia de VPH del 21.3% en cavidad oral.

El cebador SPF10 tiene la capacidad de amplificar la región L1 del genoma viral con sólo 65 pares de bases, lo que sin duda es más sensible. De acuerdo con la técnica de INNO-LiPA se pueden identificar hasta 32 genotipos de VPH. Dentro de las ventajas de ésta técnica no limitada, es que en este estudio se pudieron identificar otros tipos de VPH, con una prevalencia de coinfecciones del 4.2%. La prevalencia de coinfección es similar a lo informado en Finlandia con una prevalencia 6.6% (67).

Diversos estudios han encontrado al VPH como un factor importante en la supervivencia. Nuestro estudio cumplió con la hipótesis comprobando el VPH es un factor independiente en la supervivencia de estos pacientes con cáncer no sólo a nivel orofaríngeo si no en conjunto en cavidad oral.

La supervivencia en estos pacientes se ve influida por diversos factores, uno de ellos es la demora del diagnóstico. En este estudio se encontró una prevalencia alta en la etapa IV (38.4%) semejante al estudio de Li Ang Lee y cols (60). En nuestro medio los pacientes llegan con frecuencia en estadios avanzados, aún cuando la

cavidad oral es un sitio fácilmente accesible para revisar y detectar las lesiones en sus fases más tempranas. Algunas de las razones por las que los pacientes llegan en fases más avanzadas, cuando el tratamiento es más agresivo y costoso, con menos posibilidades de cura obedecen en otros a: 1) no existe el hábito de inspeccionarnos la cavidad oral. 2) Falta mayor difusión acerca de los signos y síntomas de este tipo de cáncer. 3) No existe un centro de lesiones premalignas en la ciudad de México, el cual podría brindar un tratamiento oportuno y se evitaría la progresión de la enfermedad. 4) Error en el diagnóstico y tratamiento por parte de odontólogos y médicos. 5) Demora en ser atendidos principalmente por cuestiones económicas.

En las regiones con altas tasas de carcinoma oral y orofaríngeo como India, Pakistán, Sri Lanka y Blangadesch se ha observado que este grupo de neoplasias es más frecuente en los hombres; sin embargo, este patrón con el tiempo ha ido cambiado. En nuestro estudio el 53.7% de los pacientes fueron mujeres y el 46.3% hombres. La razón de ello no está clara, pero se cree que al aumentar la ingesta de bebidas alcohólicas por parte de las mujeres, el riesgo por esta variable se esta igualando. De manera similar se observa con el tabaquismo. Aún cuando en esta serie hubo una cantidad de mujeres mayor que de hombres, el 20.8% de los hombres reportaron antecedentes de tabaquismo vs. sólo 1.7% en las mujeres. Cabe señalar que el mayor porcentaje de datos perdidos fue en las mujeres, por lo que en nuestro estudio esta información podría estar sesgada. En nuestro medio, es probable que la presión social negativa en las mujeres sea un cofactor para no informar sobre este hábito. Contrario a lo anterior, algunos autores como Ritchie JM. y cols(70), han señalado que los hombres tienden a tener comportamientos de mayor riesgo, por lo que el riesgo de presentar algunas de estas neoplasias es mayor en comparación con las mujeres.

Estudios en nuestro país, realizados en 2008 y 2011, concuerdan con una mayor prevalencia de casos en este tipo de cáncer en el sexo masculino, lo que contrasta con nuestros hallazgos. Este es un dato que debe estudiarse con mayor profundidad

en estudios venideros. Aún cuando la proporción de mujeres fue mayor, esta variable no fue significativa en cuanto a la respuesta o supervivencia.

Una gran proporción de pacientes en este estudio, no cuentan con hábito de tabáquico ni de alcohol (54.1%) demostrado que no tienen factores tradicionales de riesgo a la neoplasia, concordando con Lindel y cols (71), además estos autores, encontraron en pacientes no tienen el hábito de fumar tienen más probabilidades de ser diagnosticadas con neoplasias VPH positivas. Por su parte, estos hábitos no estuvieron asociados a la supervivencia del estudio aún controlándolos como confusores, coincidiendo con Takatsugu y cols (28).

Respecto al $IMC \geq 25 \text{kg/m}^2$ se ha asociado como factor de riesgo para diversas patologías, e incluso se ha asociado con una peor sobrevida global y específica de la enfermedad debido a la presencia de comorbilidades principalmente enfermedades cardiovasculares.

Los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, tienen un alto riesgo de ser desnutridos en el momento del diagnóstico o durante el tratamiento. Algunos estudios han informado que un 30 a 60% tiene desnutrición, causada por factores complejos, incluyendo síntomas tumorales y relacionados con el tratamiento, como odinofagia, disfagia, xerostomía, obstrucción mecánica, anorexia y fatiga (72).

En diversos tipos de neoplasias como el cáncer de mama y colón(73, 74) IMC altos son desfavorables para la supervivencia; sin embargo, se ha demostrado que un $IMC > 25 \text{kg/m}^2$ previo al tratamiento en pacientes con cáncer de cabeza y cuello es protector. En un estudio de casos y controles se encontró que un IMC bajo se asoció con un mayor riesgo de morir que en los sujetos con un IMC normal, mientras que el $IMC \geq 25,0 \text{ kg / m}^2$ se asoció con un menor riesgo de muerte. Hallazgos similares se observaron también en un estudio de cohorte prospectivo (36).

Se cree que los pacientes con sobrepeso que son capaces de mantener su peso durante el tratamiento pueden no experimentar inmunidad comprometida y tener mejores tasas de supervivencia (75). Sin embargo en nuestro estudio, el IMC no fue

significativo para la supervivencia debido a datos perdidos, por lo que se sugiere tomar en cuenta en futuras investigaciones.

Por otra parte, la albúmina fue considerada en este estudio porque es utilizada comúnmente como un indicador del estado nutricional del paciente (76). La mala nutrición disminuye la capacidad del sistema inmune para funcionar eficazmente (77) aumentando el riesgo de infecciones, hospitalización e interrupción del tratamiento, potencialmente resultando en pobres resultados frente a la respuesta al tratamiento (78). Se ha reportado que la hipoalbuminemia está fuertemente asociada con un importante incremento de las complicaciones postoperatorias (79); sin embargo, son muy pocos los estudios que toman en cuenta este factor antes del primer tratamiento y lo analizan como factor pronóstico. En nuestro estudio se encontró que por cada aumento de 1 gramo por decilitro de albumina antes del primer tratamiento y estratificado por recurrencia, existió una disminución de riesgo de morir del 77% (HR=0.23, $p=0.001$, I.C. 95%= 0.095-0.56).

Un factor importante en la vigilancia clínica, es la recurrencia local; sin embargo, en la mayoría de los estudios que incluyen pacientes con cáncer oral y orofaríngeo no se ha tomado en cuenta; esto, a pesar que es un factor importante en el desenlace de un paciente con cáncer. Lo anterior, en parte se debe a limitaciones metodológicas, y a la limitación de estudios prospectivos en CByO. Esto es sin duda, un nicho de oportunidad para estudios futuros.

Se ha sugerido poner especial atención en los pacientes que recurren, ya que representan un subgrupo distinto en relación con la enfermedad (80).

En nuestro estudio se observó que los pacientes que recurren y en el tumor se encuentra la presencia del VPH, tienen menos riesgo de morir, inclusive después de ajustar por edad, etapa clínica, tipo de tratamiento primario y albúmina (HR= 0.24, $p=0.030$, I.C.95%=0.069-.0.087). En un estudio de Guo T y cols., en Johns Hopkins, publicado en 2016 se observaron datos similares (HR 0.21, $p < 0,001$)(80).

Respecto al tipo de tratamiento, y como era de esperarse por lo avanzado de la enfermedad, los pacientes que recibieron radioterapia como tratamiento primario,

tuvieron 47.78 veces más riesgo de morir frente aquellos que sólo recibieron cirugía ($p=0.001$). Los pacientes que recibieron quimiorradioterapia tuvieron 4.34 veces el riesgo de morir versus sólo cirugía ($p=0.024$). En cuanto a los pacientes que recibieron cirugía combinada con quimoradioterapia tuvieron 5.97 veces más probabilidad de morir ($p=0.022$) comparado con los pacientes que a los que se les realizó sólo cirugía. Nuestro estudio concuerda similarmente con resultados de Huang F. y cols. al estratificarlo por estadio clínico (81).

Este trabajo es uno de los más grandes realizados en México, ya que engloba diversas covariables, tanto biológicas, clínicas como epidemiológicas. Por otro lado, el control de calidad llevado al cabo durante todo el procesamiento de las muestras para evitar la contaminación cruzada por el VPH da a nuestro estudio un mayor rigor metodológico. El carácter longitudinal del mismo, habiendo partido de la exposición al VPH, también permite establecer algunas asociaciones causales, con las reservas que cualquier estudio retrospectivo puede tener.

16. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

A pesar de lo anterior, y como cualquier estudio retrospectivo, éste presenta algunas limitaciones, entre las que destacan los sesgos de información, además de poca precisión en la evaluación de algunas de estas, principalmente alcoholismo y tabaquismo.

Otra limitante fue el tamaño de muestra particularmente al bajo número de pacientes con cáncer orofaríngeo; así como también, la pérdida de información, tanto en datos del expediente clínico como en los especímenes de patología, lo que obligó a realizar estratificación para tener un modelo más flexible, con la consecuencia de solo poder estimar la recurrencia en un solo modelo. Se sugiere que en futuras investigaciones se incluyan más años de seguimiento o se realice un estudio prospectivo para evitar al máximo las pérdidas de información y se puedan controlar diversas covariables importantes para el desenlace.

17. CONCLUSIÓN

El estudio de la presencia de VPH en CByO a través de INNOLIPA fue 20.7%, predominando el subtipo 16, de alto riesgo, encontrando el 4.2% de co-infecciones.

La presencia del VPH en el tejido tumoral de los pacientes con cáncer bucal y orofaríngeo resultó ser un factor independiente en la supervivencia global de la enfermedad, y en la supervivencia libre de enfermedad con un mejor pronóstico, estratificado por recurrencia.

La etapa clínica, el tipo de tratamiento y la albúmina al primer tratamiento fueron también factores asociados con la supervivencia global de la enfermedad.

18. PERSPECTIVAS

La prevalencia de infecciones por VPH a nivel oral se ha incrementado en las últimas décadas, por lo que es necesario ampliar la información en relación con ello en nuestro país. Por otro lado, se requieren más y mejores estudios en relación con el valor pronóstico del VPH en el CByO.

La recurrencia y mortalidad en este tipo de neoplasia representa un desafío, ya que el 50% fallece, por lo que el estudio y aplicación de biomarcadores es prometedora. Se requieren de más elementos clínicos e histopatológicos que nos ayuden a predecir tanto la agresividad de la enfermedad como el mejor tratamiento.

A nivel preventivo es necesario concientizar a la gente y hacer campañas extensivas de información y detección, para así disminuir el número de casos avanzados y muertes relacionadas, muchas de ellas prevenibles. Lo anterior debe impactar sobre una mejor calidad de vida de los pacientes y un costo menor, tanto para las instituciones de salud como para el gasto de bolsillo de los pacientes.

19. APÉNDICE

19.1 Carta de aprobación por el comité de investigación del INCan



Instituto Nacional de Cancerología



"2015 Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón"

No. Ref. INCAN/CI/211/15

09 Abril' 2015

Dra. Diana Vilar Compte
Dra. Elizabeth Pérez Islas
Investigadoras Principales
Presente.

Se autoriza el estudio retrospectivo "Virus de papiloma humano de alto riesgo y supervivencia en pacientes con cáncer bucal y faríngeo en el Instituto Nacional de Cancerología", (Rev/03/15), debido a que es un estudio sin riesgo, ya que utilizaran material archivado en patología y expedientes clínicos, **NO** es necesario la aprobación de un Consentimiento informado.

Atentamente

Dr. Luis A. Herrera Montalvo
Presidente del Comité de Investigación

Dr. David F. Cantú de León
Secretario del Comité de Investigación

LAHM/DFCL/asr

19.2 Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Nivel de medición
INDEPENDIENTE			
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)	Pertenece a la familia <i>Papillomaviridae</i> , es epiteliotropico es decir tiene una afinidad por los epitelios y mucosas. Existen más de 100 tipos de VPH. Los cuales se han clasificado como de alto riesgo y de bajo riesgo. ³⁵	La presencia en boca del VPH se establecerá de acuerdo a la presencia y calidad de DNA genómico humano en el tejido de las muestras. Por medio de la técnica de INNO-LiPA <ul style="list-style-type: none"> Negativo: No existe genoma del VPH en la muestra Positivo: Existe genoma del VPH en la muestra 	Cualitativa nominal dicotómica
DEPENDIENTE			
SUPERVIVENCIA	Supervivencia Global:	Tiempo de supervivencia global (meses/años)	Cuantitativa continua
	Tiempo que transcurre desde el momento del diagnóstico hasta la muerte del paciente.	posibles respuestas: 1) Vive 2) Muere 3) Perdido	Cualitativa nominal
	Supervivencia libre de enfermedad	Tiempo de supervivencia libre de enfermedad (meses/años)	Cuantitativa continua
Porcentaje de pacientes en etapa temprana y estadio avanzado resecable que no presentan signos de cáncer durante un periodo determinado de tiempo después del tratamiento.	Posibles respuestas : 1) No recurre 2) Recurre (después de 6 meses de haber finalizado Tx): a) locoregionalmente c) distante 3) Progresión (antes de los 6 meses de haber finalizado Tx) a) locoregionalmente c) distante • Misma operacionalización anterior	Cualitativa nominal	
Supervivencia libre de progresión	Porcentaje de pacientes en etapa avanzada irresecable que no presentan signos de cáncer durante un periodo determinado de tiempo después del tratamiento.		Cualitativa nominal

Variable Antecedentes	Definición conceptual	Definición Operacional	Nivel de medición
EDAD	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de una persona.	Se obtendrá a partir del expediente clínico de cada paciente y se tomarán los años cumplidos en el momento del diagnóstico	Cuantitativa discreta
SEXO	Característica biológica y fisiológica, dividida en 2 grupos: hombre o mujer.	Esta variable se obtendrá a partir de expediente clínico y se determinará si es <ul style="list-style-type: none"> • Hombre • Mujer 	Cualitativa nominal Dicotómica
EDO. CIVIL		<ul style="list-style-type: none"> • Soltero/a • Casado/a • Unión Libre • Viudo/a 	Cuantitativa nominal
OCUPACIÓN		<ul style="list-style-type: none"> • Sin empleo • Trabajo no calificado • Trabajadores de los servicio 	Cuantitativa nominal
ESCOLARIDAD	Grado de estudios realizados	<ul style="list-style-type: none"> • Analfabeta • Educación básica • Educación media superior • Educación superior 	Cualitativa ordinal
AHF A CANCER		<ul style="list-style-type: none"> • Si • No 	Cualitativa dicotómica
DEMORA EN EL DIAGNOSTICO	Tiempo transcurrido antes del dx histopatológico	fecha dx histopatológico – fecha aparición síntomas (meses)	Cuantitativa discreta
DEMORA EN EL TX PRIMARIO	Tiempo transcurrido del dx al primer Tratamiento	fecha tx primario – fecha dx (días)	Cuantitativa discreta
ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)	Definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en personas adultas. IMC= peso (kg) / talla ² (m)	Clasificación de acuerdo a la OMS <ul style="list-style-type: none"> • Bajo peso: <18.5 • Normal: 18.5 – 24.9 • Sobrepeso: 25 – 29.9 • Obesidad : 30 ≥ 40 	Cualitativa ordinal
CONSUMO DE TABACO (ESTATUS)	Enfermedad crónica sistémica que pertenece al conjunto de las adicciones y que es una de las principales causas de mortalidad evitable en todo el mundo.	De acuerdo a los reactivos de la encuesta nacional de adicciones Se clasificará por estatus del consumo: <ul style="list-style-type: none"> • <u>Fumador</u>: Persona que al momento de la entrevista reporta fumar por lo menos en el último año. • <u>Exfumador</u>: Persona que al momento de la entrevista reporta no haber fumado en el último año pero si antes con cualquier patrón de consumo. • <u>Nunca fumador</u>: Persona que nunca en su vida ha consumido cigarro. 	Cualitativa nominal politémica
ÍNDICE TABAQUICO	$\frac{\text{No. cigarrillos} \times \text{duración}}{20}$	No. de cigarrillos Duración del hábito	Cuantitativa Discreta
CONSUMO DE ALCOHOL	Ingerir cualquier bebida que contenga alcohol.	Clasificada por estatus del hábito : <ul style="list-style-type: none"> • <u>Bebedor actual</u>: Persona que ha tomado alcohol por lo menos el último año • <u>Ex bebedor</u>: Persona que ha tomado alcohol alguna vez pero no lo ha vuelto hacer en el último año. • <u>Abstemio</u>: Persona que nunca ha tomado alcohol 	Cualitativa nominal politémica

LOCALIZACIÓN ANATOMICA	Sitio anatómico donde se encuentra la neoplasia maligna.	Se obtendrá a partir de datos secundarios y serán clasificados de acuerdo a la clasificación internacional de enfermedades. <ul style="list-style-type: none"> • Cavidad Oral • Orofaringe 	Cualitativa Nominal																						
ESCALA KARNOFSKY	Escala para medir la capacidad de los pacientes con cáncer para realizar actividades cotidianas	<table border="1"> <tr> <td>100</td> <td>Asintomático Sin evidencia de la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>90</td> <td>Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas</td> </tr> <tr> <td>70</td> <td>Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>Moribundo</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>Fallecido</td> </tr> </table>	100	Asintomático Sin evidencia de la enfermedad	90	Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad	80	Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas	70	Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo	60	Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades	50	Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos	40	Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia	30	Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente	20	Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo	10	Moribundo	0	Fallecido	Cuantitativa discreta
100	Asintomático Sin evidencia de la enfermedad																								
90	Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad																								
80	Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas																								
70	Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo																								
60	Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades																								
50	Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos																								
40	Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia																								
30	Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente																								
20	Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo																								
10	Moribundo																								
0	Fallecido																								
ESCALA DE FUNCIONAL ECOG/OMS	Desarrollada por el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) y validada por la OMS. Esta escala mide la calidad de vida de un paciente exclusivamente con cáncer.	<table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>Actividad normal sin limitaciones</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Capaz de realizar trabajos ligeros</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>Exitus</td> </tr> </table>	0	Actividad normal sin limitaciones	1	Capaz de realizar trabajos ligeros	2	No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%	3	Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%	4	Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día	5	Exitus	Cualitativa Ordinal										
0	Actividad normal sin limitaciones																								
1	Capaz de realizar trabajos ligeros																								
2	No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%																								
3	Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%																								
4	Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día																								
5	Exitus																								
GRADO DE DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA	Semejanza que tengan las células del tumor con las células normales del mismo tipo de tejido.	Se obtendrá de acuerdo a la clasificación histológica según Broder modificada por la OMS (Barnes <i>et al.</i> , 2005). <ul style="list-style-type: none"> • Bien diferenciados • Moderadamente diferenciados • Poco diferenciados 	Cualitativa Ordinal																						
DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO		<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma Epidermoide • Carcinoma Epidermoide con áreas acantolíticas • Carcinoma Basoloide 	Cualitativa nominal																						

ESTADIO CLÍNICO	<p>El sistema más empleado el <i>TNM</i> (Tumor, <i>Nódulo</i> y Metástasis) que valora la enfermedad local (tamaño tumoral), regional (número de ganglios afectados) y diseminación a distancia (presencia de metástasis).</p> <p>Se utiliza para describir la gravedad del cáncer basándose en la extensión del tumor original.</p>	<p>T: Se refiere al tamaño tumoral y la invasión local en superficie o profundidad y en relación con las estructuras adyacentes afectadas</p> <p>N: afectación de los ganglios linfáticos regionales</p> <p>M: presencia de metástasis a distancia</p>	Cualitativa Ordinal escala																																						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Estadio</th> <th>T</th> <th>N</th> <th>M</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>Tis</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>I</td> <td>T1</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>T2</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">III</td> <td>T3</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>T1 a T3</td> <td>N1</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">IVA</td> <td>T4a</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>T1 a T4a</td> <td>N2</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">IVB</td> <td>Cualquier T</td> <td>N3</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>T4b</td> <td>Cualquier N</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>IVC</td> <td>Cualquier T</td> <td>Cualquier N</td> <td>M1</td> </tr> </tbody> </table>		Estadio	T	N	M	0	Tis	N0	M0	I	T1	N0	M0	II	T2	N0	M0	III	T3	N0	M0	T1 a T3	N1	M0	IVA	T4a	N0	M0	T1 a T4a	N2	M0	IVB	Cualquier T	N3	M0	T4b	Cualquier N	M0	IVC
Estadio	T	N	M																																						
0	Tis	N0	M0																																						
I	T1	N0	M0																																						
II	T2	N0	M0																																						
III	T3	N0	M0																																						
	T1 a T3	N1	M0																																						
IVA	T4a	N0	M0																																						
	T1 a T4a	N2	M0																																						
IVB	Cualquier T	N3	M0																																						
	T4b	Cualquier N	M0																																						
IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1																																						
ALGORITMO DE RESPUESTA	Clasificación de acuerdo de a la etapa clínica para la selección del tratamiento.	<ul style="list-style-type: none"> • Temprano • Avanzado resecable • Avanzado Irresecable • Metástasis 																																							
TIPO DE TRATAMIENTO PRIMARIO	Conjunto de medios cuya finalidad es la curación o el alivio de las enfermedades o síntomas.	<ul style="list-style-type: none"> • Cirugía • Radioterapia • Quimioradioterapia • Cirugía/radioquimioterapia <p>Fecha del <u>último tratamiento</u> Fecha inicial</p>	<p>Cualitativa nominal politómica</p> <p>Cuantitativa discreta</p>																																						
RESPUESTA AL PRIMER TRATAMIENTO	Efecto del tratamiento sobre el tumor	<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta clínica parcial: Reducción del 50% en el tumor medible • Respuesta clínica completa: El tumor ya no es observado en los exámenes visuales ni de exploración • Respuesta patológica completa: Histológicamente ya no es observable • Sin respuesta • Progresión • Persistencia 	Cualitativa nominal																																						
COMORBILIDAD	Presencia de uno o más trastornos (o enfermedades) además de la enfermedad o trastorno primario	<ul style="list-style-type: none"> • Sin comorbilidad • Comorbilidad leve • Comorbilidad moderada • Comorbilidad grave 	Cuantitativa Discreta																																						
DEMORA DEL DIAGNOSTICO	Tiempo transcurrido antes del diagnóstico histopatológico	Fecha emitida del paciente al inicio de aparición de síntomas	Cuantitativa discreta																																						

ESCALA KARNOFSKY	Escala para medir la capacidad de los pacientes con cáncer para realizar actividades cotidianas	<table border="1"> <tr><td>100</td><td>Asintomático Sin evidencia de la enfermedad</td></tr> <tr><td>90</td><td>Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad</td></tr> <tr><td>80</td><td>Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas</td></tr> <tr><td>70</td><td>Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo</td></tr> <tr><td>60</td><td>Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades</td></tr> <tr><td>50</td><td>Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos</td></tr> <tr><td>40</td><td>Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia</td></tr> <tr><td>30</td><td>Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente</td></tr> <tr><td>20</td><td>Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo</td></tr> <tr><td>10</td><td>Moribundo</td></tr> <tr><td>0</td><td>Fallecido</td></tr> </table>	100	Asintomático Sin evidencia de la enfermedad	90	Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad	80	Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas	70	Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo	60	Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades	50	Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos	40	Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia	30	Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente	20	Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo	10	Moribundo	0	Fallecido	Cuantitativa discreta
100	Asintomático Sin evidencia de la enfermedad																								
90	Capaz de realizar actividad normal, síntomas menores de la enfermedad																								
80	Actividad normal con esfuerzo, algunos síntomas																								
70	Incapaz de realizar actividad normal o trabajar, se vale por sí mismo																								
60	Asistencia ocasional, se hace cargo de la mayoría de sus necesidades																								
50	Considerable asistencia frecuentes cuidados médicos																								
40	Imposibilitado, requiere cuidados especiales y asistencia																								
30	Gravemente imposibilitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente																								
20	Muy enfermo. Precisa hospitalización, requiere tx de soporte activo																								
10	Moribundo																								
0	Fallecido																								
ESCALA DE FUNCIONAL ECOG/OMS	Desarrollada por el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) y validada por la OMS. Esta escala mide la calidad de vida de un paciente exclusivamente con cáncer.	<table border="1"> <tr><td>0</td><td>Actividad normal sin limitaciones</td></tr> <tr><td>1</td><td>Capaz de realizar trabajos ligeros</td></tr> <tr><td>2</td><td>No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%</td></tr> <tr><td>3</td><td>Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%</td></tr> <tr><td>4</td><td>Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día</td></tr> <tr><td>5</td><td>Exitus</td></tr> </table>	0	Actividad normal sin limitaciones	1	Capaz de realizar trabajos ligeros	2	No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%	3	Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%	4	Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día	5	Exitus	Cualitativa Ordinal										
0	Actividad normal sin limitaciones																								
1	Capaz de realizar trabajos ligeros																								
2	No puede realizar trabajos aunque sea ligeros pero si todas de autocuidado. Permanece levantado más del 50%																								
3	Limitación de autocuidado Sintomático Cama/sillón más del 50%																								
4	Completamente imposibilitado Encamado la mayor parte del día																								
5	Exitus																								
VARIABLES DE LABORATORIO		<p>ANTES DEL PRIMER TX</p> <p>Albumina inicial y cercana al 1er. Tx</p> <p>Leucocitos</p> <p>Hemoglobina</p> <p>Hematocrito</p> <p>Plaquetas</p> <p>Neutrófilos absolutos</p> <p>Linfocitos absolutos</p> <p>Glucosa</p> <p>Creatinina</p>	Cualitativa continúa																						

19.3 Evaluación de variables

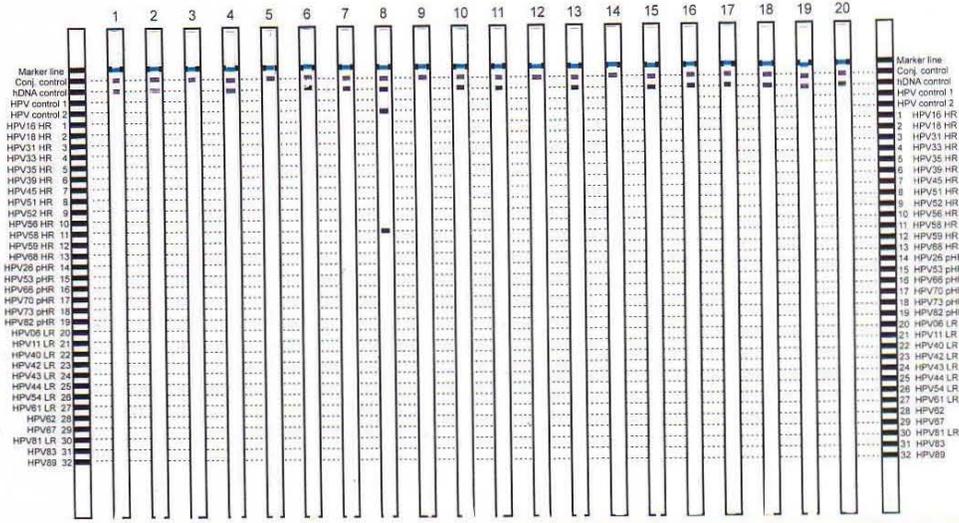
VARIABLE	MODELO UNIVARIADO		Pr. chi2 ($\leq .20$)	Proporcionalidad	Pr. chi2 (≥ 0.05)	Sig. conjunta	Pr. chi2 (≤ 0.05)	MISSING total(n)=%	Logística HPV (pr de chi2)	Xi2 con corrección (spss)	Prueba de Fisher	Variab es agrupas
Edo. Civil	No (140)		0.1201	Si	0.8544	No	0.296	0	0.1932		0.070	
Ocupación	Si (140)		0.0795	Si	0.7850	No	0.292	0	0.7232		0.328	
Grupo edad 25-69años y 70-94 años	Si (140)		0.0333	Si	0.8463	Si	0.0281	0	0.3225	0.334 Xi2 Celdil (6) stata		
Comorbilidad (dicotómica)	Si (140)		0.0782	Si	0.6751	Si	0.0762	0	0.0237	0.027 stat Celdil (7)		
Localización anatómica	Si (140)		0.1674	Si	0.6901	No	0.130	0	0.1476 Con xi2 0.118 cel(4)	Sps corre no lo hice noagrupada	0.221	
Tx primario	Si (140)		0.0001	Si	0.8755	Si	0.0001	0	0.0099		0.011	
Tipo de Cx	Si (140)		0.0001	Si	0.8674	Si	0.0001	0	0.0171		0.071	0.010 fisher
Respuesta al 1er. Tx	Si (127=9.2%)		0.0001	Si	0.4326	Si	0.0001	110=21.4	0.9508		0.924	
Grupo escolaridad	Si (140)		0.1710	Si	0.3528	No	0.3910	0	0.1162		0.101	
Karfnosky	Si (140)		0.0452	Si	0.8777	Si	0.0088	0	0.1692		0.182	
ECOG	Si (139)		0.1413	Si	0.7792	Si	0.036	1=7.1	0.5634		0.221	
IMC	Si (134=4.2%)		0.2448	Si	0.6764	Si	0.0247	134=4.2	0.7824		0.851	0.791 fisher
Etapla clínica	Si (140)		0.0008	Si	0.2312	Si	0.0003	0	0.1541		0.131	0.152 fisher
Clasificación TNM	Si (140)		0.0003	Si	0.1714	Si	0.0001	0	0.4725		0.338	

Índice tabáquico	Si (109=22.1%)		0.1848	Si	0.6710	No	0.873	109=8.2	0.3118		0.270	0.536
Grado de comorbilidad	Si (140)		0.1480	Si	0.1260	No	0.1081	0	0.1124		0.131	
Localización de la recurrencia o progresión	Si (106= 24.2%)		0.0001	Si	0.2381	Si	0.0034	106= 24.2	0.6176		0.486	
Leucocitos	Si (135=3.5%)		0.0055	Si	0.4641	Si	0.0021	135= 3.5	0.7001		0.775	
Neutrófilos	Si (134= 4.2%)		0.0515	Si	0.2930	Si	0.0001	134= 4.2	0.0474		0.044	
Linfocitos	Si (135=3.5%)		0.1976	Si	0.0569	No	0.167	135=3.5	0.2300		0.193	
*Edad	Si (140)		0.4857	Si	0.6375	*	*	0	0.0463 TTESTS (normal)	Regresión log 0.0642	Regresión log 0.0642	Pwcorr vari continu -0.1687
*Demora en Dx	Si (140)		0.0879	Si	0.5524	*	*	0	0.7971 no normal	0.7971reg log	0.7971reg log	Pwcorr vari continu 0.0223
*Demora al 1er. Tx	Si (140)		0.1852	Si	0.3689	*	*	0	0.0223 no normal	0.0223 reg log	0.0223 reg log	Pwcorr vari continu 0.2091

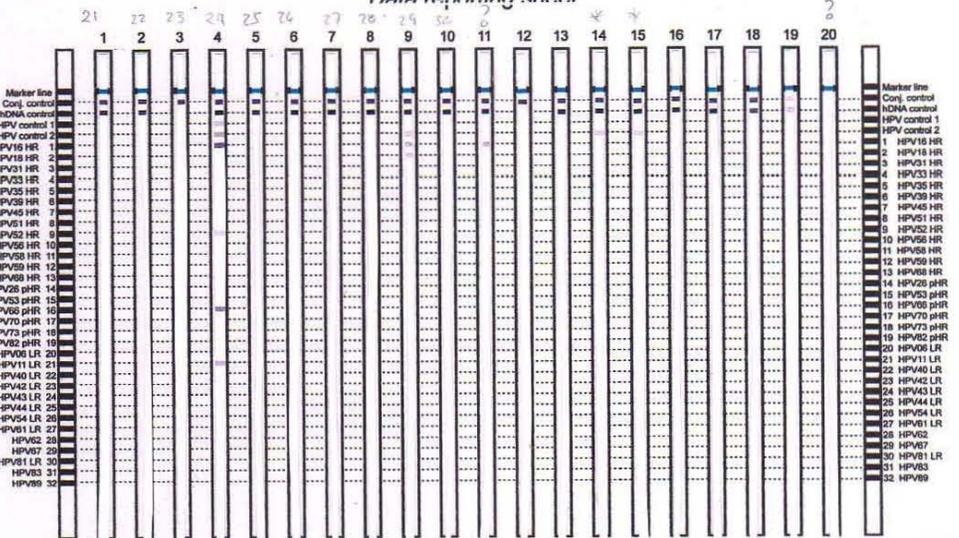
*Es continua no lleva prueba de significancia conjunta

19.4 Resultados de INNO-LiPA

INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra II* Data reporting sheet

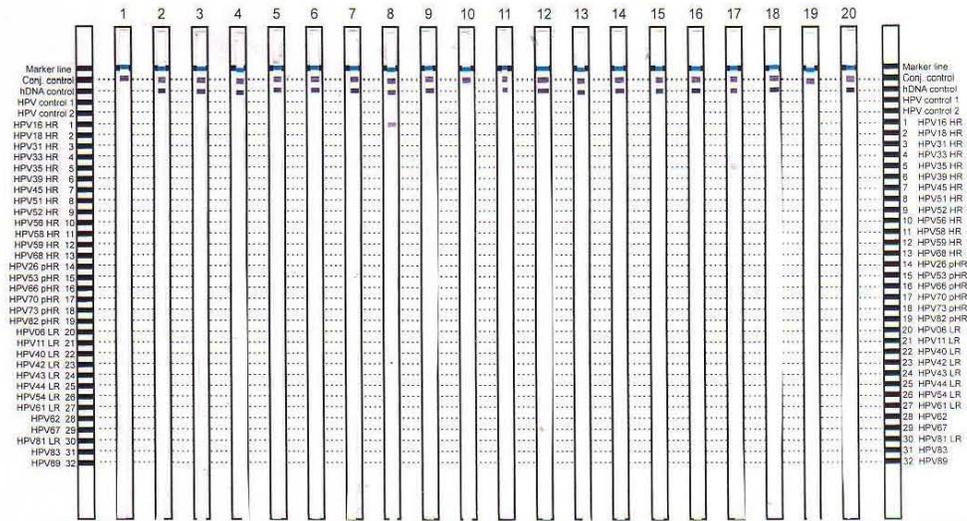


INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra II* Data reporting sheet

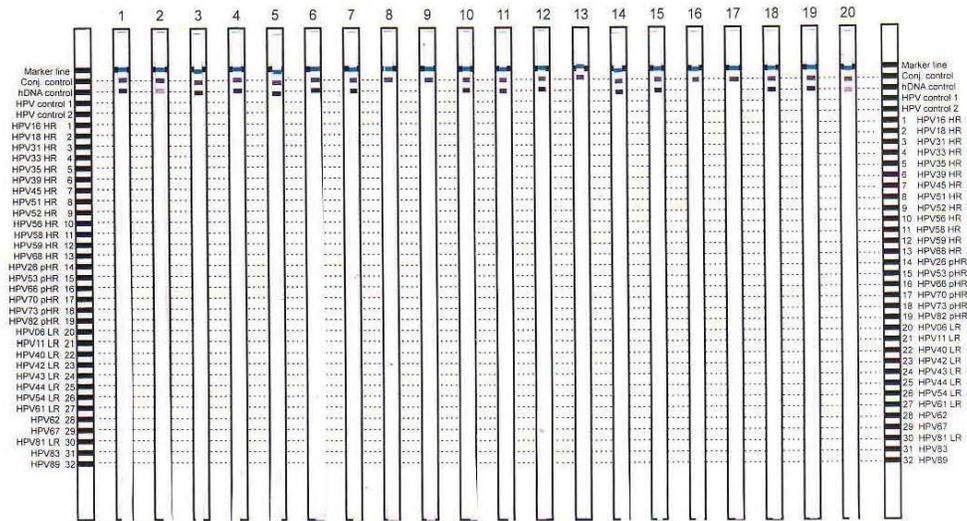


Resultados de INNO-LiPA

INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Data reporting sheet



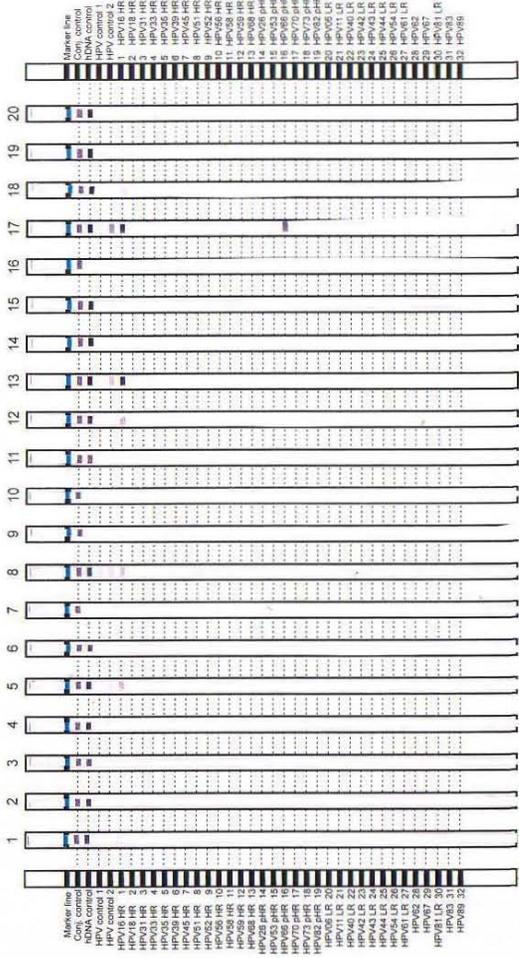
INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Data reporting sheet



Resultados de INNO-LiPA

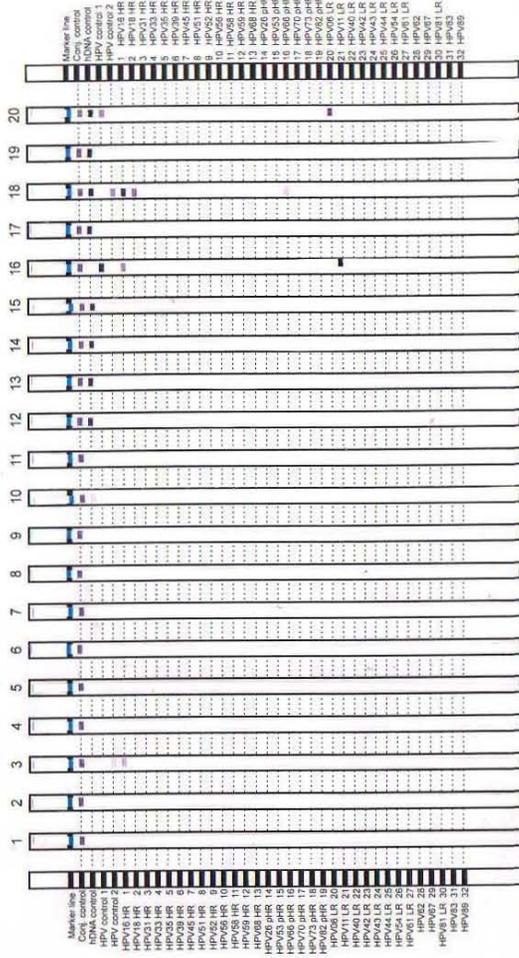
INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II

Data reporting sheet



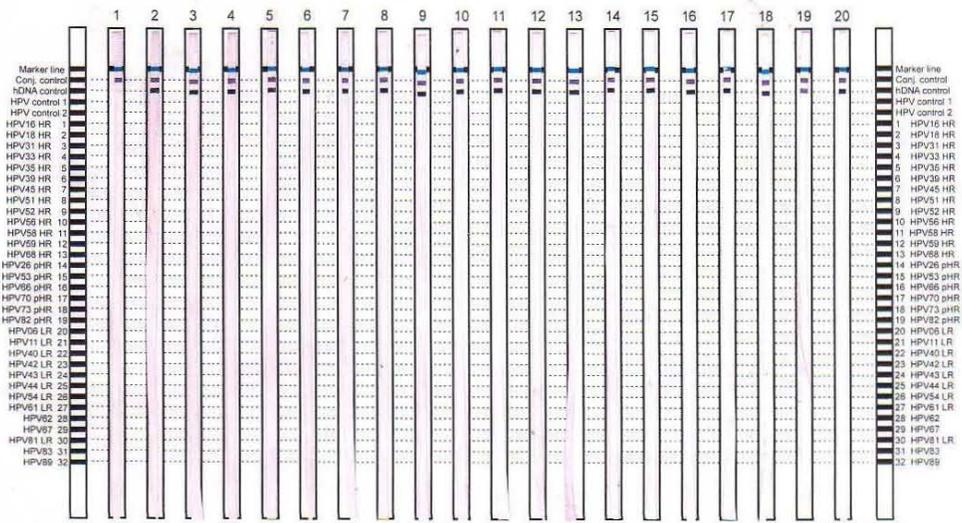
INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II

Data reporting sheet



Resultados de INNO-LiPA

INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II Data reporting sheet



20.BIBLIOGRAFÍA

1. Petersen PE. Oral cancer prevention and control--the approach of the World Health Organization. *Oral oncology*. 2009;45(4-5):454-60.
2. DGE-RHNM. Compendio del Registro Histopatológico de las neoplasias en México. Mortalidad y Morbilidad. Dirección General de Epidemiología 2002.
3. Sánchez GS JC, Espinel BC, Mould QJ, Gómez DH, Fuente HJ, et al. Egresos hospitalarios por cáncer bucal en el IMSS de 1991-2000. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2008; 46(1):101-8 .
4. Silverman S, Jr. Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge. *Journal of the American Dental Association*. 2001;132 Suppl:7S-11S.
5. Deschler DG, Richmon JD, Khariwala SS, Ferris RL, Wang MB. The "new" head and neck cancer patient--young, nonsmoker, nondrinker, and HPV positive: evaluation. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2014;151(3):375-80.
6. Sankaranarayanan R, Masuyer E, Swaminathan R, Ferlay J, Whelan S. Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer research*. 1998;18(6B):4779-86.
7. Jiron J, Sethi S, Ali-Fehmi R, Franceschi S, Struijk L, van Doorn LJ, et al. Racial disparities in Human Papillomavirus (HPV) associated head and neck cancer. *American journal of otolaryngology*. 2014;35(2):147-53.
8. Lajer CB, von Buchwald C. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2010;118(6-7):510-9.
9. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *Jama*. 2012;307(7):693-703.
10. Syrjanen KJ, Pyrhonen S, Syrjanen SM, Lamberg MA. Immunohistochemical demonstration of human papilloma virus (HPV) antigens in oral squamous cell lesions. *The British journal of oral surgery*. 1983;21(2):147-53.
11. Shope RE, Hurst EW. Infectious Papillomatosis of Rabbits : With a Note on the Histopathology. *The Journal of experimental medicine*. 1933;58(5):607-24.
12. Parsons RJ, Kidd JG. Oral Papillomatosis of Rabbits: A Virus Disease. *The Journal of experimental medicine*. 1943;77(3):233-50.

13. zur Hausen H, Meinhof W, Scheiber W, Bornkamm GW. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. *International journal of cancer*. 1974;13(5):650-6.
14. zur Hausen H, Schulte-Holthausen H, Wolf H, Dorries K, Egger H. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. II. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human herpes group viruses. *International journal of cancer*. 1974;13(5):657-64.
15. Brandsma JL, Abramson AL. Association of papillomavirus with cancers of the head and neck. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*. 1989;115(5):621-5.
16. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(4):261-9.
17. Braakhuis BJ, Brakenhoff RH, Meijer CJ, Snijders PJ, Leemans CR. Human papilloma virus in head and neck cancer: the need for a standardised assay to assess the full clinical importance. *European journal of cancer*. 2009;45(17):2935-9.
18. Licitra L, Felip E, Group EGW. Squamous cell carcinoma of the head and neck: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2009;20 Suppl 4:121-2.
19. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *The New England journal of medicine*. 2003;348(6):518-27.
20. Hoory T, Monie A, Gravitt P, Wu TC. Molecular epidemiology of human papillomavirus. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*. 2008;107(3):198-217.
21. Rivero ER, Nunes FD. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. *Brazilian oral research*. 2006;20(1):21-4.
22. Izarzugaza MI, Esparza H, Aguirre JM. Epidemiological aspects of oral and pharyngeal cancers in the Basque Country. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2001;30(9):521-6.

23. Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, Dunne EF, Mahajan R, Ocfemia MC, et al. Sexually transmitted infections among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. *Sexually transmitted diseases*. 2013;40(3):187-93.
24. Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, Markowitz LE. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sexually transmitted diseases*. 2014;41(11):660-4.
25. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, et al. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health And Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *The Journal of infectious diseases*. 2011;204(4):566-73.
26. Ragin CC, Taioli E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. *International journal of cancer*. 2007;121(8):1813-20.
27. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2005;14(2):467-75.
28. Mizumachi T, Kano S, Sakashita T, Hatakeyama H, Suzuki S, Homma A, et al. Improved survival of Japanese patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *International journal of clinical oncology*. 2013;18(5):824-8.
29. Schache AG, Liloglou T, Risk JM, Filia A, Jones TM, Sheard J, et al. Evaluation of human papilloma virus diagnostic testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma: sensitivity, specificity, and prognostic discrimination. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011;17(19):6262-71.
30. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2000;92(9):709-20.
31. Deng Z, Hasegawa M, Aoki K, Matayoshi S, Kiyuna A, Yamashita Y, et al. A comprehensive evaluation of human papillomavirus positive status and p16INK4a overexpression as a prognostic biomarker in head and neck squamous cell carcinoma. *International journal of oncology*. 2014;45(1):67-76.
32. Attner P, Du J, Nasman A, Hammarstedt L, Ramqvist T, Lindholm J, et al. The role of human papillomavirus in the increased incidence of base of tongue cancer. *International journal of cancer*. 2010;126(12):2879-84.

33. Ibieta-Zarco BR, Carrillo-Garcia A, Ponce-de-Leon-Rosales S, Flores-Miranda MM, Mohar A, Lizano M. Frequency and genotype distribution of multiple human papillomavirus infections in cancer of the head and neck in a Mexican population. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2012;114(3):350-7.
34. Anaya-Saavedra G, Ramirez-Amador V, Irigoyen-Camacho ME, Garcia-Cuellar CM, Guido-Jimenez M, Mendez-Martinez R, et al. High association of human papillomavirus infection with oral cancer: a case-control study. *Archives of medical research*. 2008;39(2):189-97.
35. Inverso G, Mahal BA, Aizer AA, Donoff RB, Chau NG, Haddad RI. Marital status and head and neck cancer outcomes. *Cancer*. 2015;121(8):1273-8.
36. Albergotti WG, Davis KS, Abberbock S, Bauman JE, Ohr J, Clump DA, et al. Association of pretreatment body mass index and survival in human papillomavirus positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral oncology*. 2016;60:55-60.
37. Bahig H, Fortin B, Alizadeh M, Lambert L, Filion E, Guertin L, et al. Predictive factors of survival and treatment tolerance in older patients treated with chemotherapy and radiotherapy for locally advanced head and neck cancer. *Oral oncology*. 2015;51(5):521-8.
38. Kolokythas A, Park S, Schlieve T, Pytynia K, Cox D. Squamous cell carcinoma of the oral tongue: histopathological parameters associated with outcome. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2015;44(9):1069-74.
39. Hafkamp HC, Manni JJ, Haesevoets A, Voogd AC, Schepers M, Bot FJ, et al. Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *International journal of cancer*. 2008;122(12):2656-64.
40. Beenken SW, Krontiras H, Maddox WA, Peters GE, Soong S, Urist MM. T1 and T2 squamous cell carcinoma of the oral tongue: prognostic factors and the role of elective lymph node dissection. *Head & neck*. 1999;21(2):124-30.
41. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L. The World Cancer Report and the burden of oral cancer. *European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation*. 2004;13(2):139-42.
42. Mazarro A, de Pablo A, Puiggros C, Velasco MM, Saez M, Pamias J, et al. Indications, reconstructive techniques, and results for total glossectomy. *Head & neck*. 2016;38 Suppl 1:E2004-10.

43. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1073-81.
44. Perisanidis C, Kornek G, Pöschl PW, Holzinger D, Pirklbauer K, Schopper C, et al. High neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent marker of poor disease-specific survival in patients with oral cancer. *Medical Oncology*. 2013;30(1):1-8.
45. Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, Day TA, Alberg AJ, Li Z. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head & neck*. 2016;38 Suppl 1:E1068-74.
46. Farhan-Alanie OM, McMahon J, McMillan DC. Systemic inflammatory response and survival in patients undergoing curative resection of oral squamous cell carcinoma. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2015;53(2):126-31.
47. Jung AC, Briolat J, Millon R, de Reynies A, Rickman D, Thomas E, et al. Biological and clinical relevance of transcriptionally active human papillomavirus (HPV) infection in oropharynx squamous cell carcinoma. *International journal of cancer*. 2010;126(8):1882-94.
48. Pyeon D, Newton MA, Lambert PF, den Boon JA, Sengupta S, Marsit CJ, et al. Fundamental differences in cell cycle deregulation in human papillomavirus-positive and human papillomavirus-negative head/neck and cervical cancers. *Cancer research*. 2007;67(10):4605-19.
49. Jung AC, Guihard S, Krugell S, Ledrappier S, Brochot A, Dalstein V, et al. CD8-alpha T-cell infiltration in human papillomavirus-related oropharyngeal carcinoma correlates with improved patient prognosis. *International journal of cancer*. 2013;132(2):E26-36.
50. Hoffmann TK, Arsov C, Schirlau K, Bas M, Friebe-Hoffmann U, Klusmann JP, et al. T cells specific for HPV16 E7 epitopes in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx. *International journal of cancer*. 2006;118(8):1984-91.
51. Williams R, Lee DW, Elzey BD, Anderson ME, Hostager BS, Lee JH. Preclinical models of HPV+ and HPV- HNSCC in mice: an immune clearance of HPV+ HNSCC. *Head & neck*. 2009;31(7):911-8.
52. Heusinkveld M, Goedemans R, Briet RJ, Gelderblom H, Nortier JW, Gorter A, et al. Systemic and local human papillomavirus 16-specific T-cell immunity in patients with head and neck cancer. *International journal of cancer*. 2012;131(2):E74-85.

53. Castellsague X, Alemany L, Quer M, Halc G, Quiros B, Tous S, et al. HPV Involvement in Head and Neck Cancers: Comprehensive Assessment of Biomarkers in 3680 Patients. *Journal of the National Cancer Institute*. 2016;108(6):djv403.
54. Levine AJ, Perry ME, Chang A, Silver A, Dittmer D, Wu M, et al. The 1993 Walter Hubert Lecture: the role of the p53 tumour-suppressor gene in tumorigenesis. *British journal of cancer*. 1994;69(3):409-16.
55. Haraf DJ, Nodzenski E, Brachman D, Mick R, Montag A, Graves D, et al. Human papilloma virus and p53 in head and neck cancer: clinical correlates and survival. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1996;2(4):755-62.
56. Worden FP, Kumar B, Lee JS, Wolf GT, Cordell KG, Taylor JM, et al. Chemoselection as a strategy for organ preservation in advanced oropharynx cancer: response and survival positively associated with HPV16 copy number. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(19):3138-46.
57. Fakhry C, Zhang Q, Nguyen-Tan PF, Rosenthal D, El-Naggar A, Garden AS, et al. Human papillomavirus and overall survival after progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2014;32(30):3365-73.
58. Guo T, Qualliotine JR, Ha PK, Califano JA, Kim Y, Saunders JR, et al. Surgical salvage improves overall survival for patients with HPV-positive and HPV-negative recurrent locoregional and distant metastatic oropharyngeal cancer. *Cancer*. 2015;121(12):1977-84.
59. Argiris A, Li S, Ghebremichael M, Egloff AM, Wang L, Forastiere AA, et al. Prognostic significance of human papillomavirus in recurrent or metastatic head and neck cancer: an analysis of Eastern Cooperative Oncology Group trials. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2014;25(7):1410-6.
60. Lee LA, Huang CG, Liao CT, Lee LY, Hsueh C, Chen TC, et al. Human papillomavirus-16 infection in advanced oral cavity cancer patients is related to an increased risk of distant metastases and poor survival. *PloS one*. 2012;7(7):e40767.
61. Termine N, Panzarella V, Falaschini S, Russo A, Matranga D, Lo Muzio L, et al. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2008;19(10):1681-90.

62. Isayeva T, Li Y, Maswahu D, Brandwein-Gensler M. Human papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head and neck pathology*. 2012;6 Suppl 1:S104-20.
63. Koyama K, Uobe K, Tanaka A. Highly sensitive detection of HPV-DNA in paraffin sections of human oral carcinomas. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2007;36(1):18-24.
64. El-Mofty SK, Patil S. Human papillomavirus (HPV)-related oropharyngeal nonkeratinizing squamous cell carcinoma: characterization of a distinct phenotype. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2006;101(3):339-45.
65. Sugiyama M, Bhawal UK, Kawamura M, Ishioka Y, Shigeishi H, Higashikawa K, et al. Human papillomavirus-16 in oral squamous cell carcinoma: clinical correlates and 5-year survival. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2007;45(2):116-22.
66. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klusmann JP, Lee JH, Wang D, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *International journal of cancer*. 2004;108(5):766-72.
67. Rautava J, Kuuskoski J, Syrjanen K, Grenman R, Syrjanen S. HPV genotypes and their prognostic significance in head and neck squamous cell carcinomas. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2012;53(2):116-20.
68. Mazul AL, Rodriguez-Ormaza N, Taylor JM, Desai DD, Brennan P, Anantharaman D, et al. Prognostic significance of non-HPV16 genotypes in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral oncology*. 2016;61:98-103.
69. Lingen MW, Xiao W, Schmitt A, Jiang B, Pickard R, Kreinbrink P, et al. Low etiologic fraction for high-risk human papillomavirus in oral cavity squamous cell carcinomas. *Oral oncology*. 2013;49(1):1-8.
70. Ritchie JM, Smith EM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang D, Klusmann JP, et al. Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *International journal of cancer*. 2003;104(3):336-44.
71. Lindel K, Beer KT, Laissue J, Greiner RH, Aebbersold DM. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer*. 2001;92(4):805-13.
72. Moon H, Roh JL, Lee SW, Kim SB, Choi SH, Nam SY, et al. Prognostic value of nutritional and hematologic markers in head and neck squamous cell carcinoma

treated by chemoradiotherapy. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2016;118(2):330-4.

73. Laake I, Larsen IK, Selmer R, Thune I, Veierod MB. Pre-diagnostic body mass index and weight change in relation to colorectal cancer survival among incident cases from a population-based cohort study. *BMC cancer*. 2016;16:402.

74. Sebastiani F, Cortesi L, Sant M, Lucarini V, Cirilli C, De Matteis E, et al. Increased Incidence of Breast Cancer in Postmenopausal Women with High Body Mass Index at the Modena Screening Program. *Journal of breast cancer*. 2016;19(3):283-91.

75. Hofbauer SL, Pantuck AJ, de Martino M, Lucca I, Haitel A, Shariat SF, et al. The preoperative prognostic nutritional index is an independent predictor of survival in patients with renal cell carcinoma. *Urologic oncology*. 2015;33(2):68 e1-7.

76. Sung J, Bochicchio GV, Joshi M, Bochicchio K, Costas A, Tracy K, et al. Admission serum albumin is predictive of outcome in critically ill trauma patients. *The American surgeon*. 2004;70(12):1099-102.

77. Delafuente JC. Nutrients and immune responses. *Rheumatic diseases clinics of North America*. 1991;17(2):203-12.

78. Daly JM, Hearne B, Dunaj J, LePorte B, Vikram B, Strong E, et al. Nutritional rehabilitation in patients with advanced head and neck cancer receiving radiation therapy. *American journal of surgery*. 1984;148(4):514-20.

79. Lee JI, Kwon M, Roh JL, Choi JW, Choi SH, Nam SY, et al. Postoperative hypoalbuminemia as a risk factor for surgical site infection after oral cancer surgery. *Oral diseases*. 2015;21(2):178-84.

80. Guo T, Rettig E, Fakhry C. Understanding the impact of survival and human papillomavirus tumor status on timing of recurrence in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral oncology*. 2016;52:97-103.

81. Huang JF, Wang JW, He BC, Chen F, Liu FP, Yan LJ, et al. [Study of survival factors of oral squamous cell carcinoma]. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]*. 2016;50(10):880-6.