



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CURSO DE ESPECIALIDAD EN CIRUGÍA ONCOLÓGICA

**FACTORES PRONOSTICOS EN CANCER DE LENGUA
TEMPRANO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALISTA EN CIRUGÍA ONCOLÓGICA

PRESENTA:

DR. ALEJANDRO ALFARO GOLDARACENA

DR. ANTONIO GOMEZ PEDRAZA

DIRECTOR DE TESIS



CIUDAD DE MÉXICO

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AUTOR

Alejandro Alfaro Goldaracena

Médico Residente Tercer Año Subespecialidad Cirugía Oncológica

Instituto Nacional de Cancerología

ASESOR DE TESIS:

Dr José Antonio Gómez Pedraza

CIRUJANO ONCOLOGO

ADSCRITO AL SERVICIO CABEZA Y CUELLO

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA

DEDICATORIA:

A mi padres, a mi hermana, a mis maestros y sobretodo a Alejandra mi esposa que estuvo a mi lado todo este tiempo, fundamental apoyo moral y espiritual, y cuyos ánimos día a día lograron que se terminara de forjar este camino. Por ser la gran motivación de mi esfuerzo.

“FACTORES PRONOSTICOS EN PACIENTES CON CANCER DE LENGUA TEMPRANO”

MARCO TEORICO

El cáncer de cabeza y cuello, en su mayoría epidermoide, representa la 6ta neoplasia mas frecuente a nivel mundial y se caracteriza por un grupo de tumores con comportamiento biológico muy diverso. Su incidencia es mayor en países asiáticos. Mas del 90% de estos ocurren en superficies mucosas; el 90% ocurre en orofarínge, laringe y cavidad oral. El cáncer de cavidad oral, que ocurre en cavidad bucal, lengua y labio causa una muy alta morbilidad y mortalidad sobretodo en grupos de nivel socioeconómico bajo.

De acuerdo a diferentes series, el cáncer de lengua es el mas frecuente y se caracteriza por un aumento en su incidencia y pobre supervivencia.

Tiene un predominio mayor en hombres que en mujeres y en poblaciones de riesgo como en Karachoi, Pakistan, puede afectar tanto a 22% de hombres como 11% de mujeres. Pese a que se presentan en sitios normalmente visibles, dos terceras partes de los canceres de cavidad oral se diagnostican como enfermedad avanzada.

Los principales factores de riesgo para el cáncer de cabeza y cuello son el consumo de alcohol y tabaco, sobretodo en el mundo occidental. Estos se han ido modificando en diferentes poblaciones de acuerdo a cambios asociados en dichos hábitos y disminución en el uso de tabaco masticable o nuez de Betel. Aún con la disminución del Cáncer de cabeza y Cuello por los factores

antes mencionados, existe un aumento de cáncer de orofarínge y lengua. Otros factores incluyen radiación, deficiencia vitamínica, enfermedad periodontal e inmunosupresión.

Existen poblaciones con una mayor prevalencia en la que se encuentran genotipos como GSTM1/GSTT1 así como variaciones en alelos de CYP1A1, mutaciones en H y K-Ras en poblaciones Indias. Un 10% adicional de los cánceres en el Sur de Asia se han asociado a condiciones premalignas como leucoplaquia y eritroplaquia.

Cambios genéticos que se generan en el cáncer de cavidad oral pueden ser cambios recesivos o dominantes. En los dominantes la mayoría de estos son protooncogenes y la minoría Genes Supresores de Tumores (GST)., mientras que los cambios recesivos, son por pérdida de función en GST y ganancia genes involucrados con la vía de inhibición/crecimiento. Existen diferentes tipos de variaciones en genes encargados de controlar la reparación del ADN, inmortalización, apoptosis, proliferación, invasión, invasión, receptores de factores de crecimiento, factores de transcripción, angiogénesis, transductores de señal, entre las células epiteliales normales del tracto aerodigestivo superior y las células cancerígenas. Además de estas variaciones genéticas existen alteraciones epigenéticas como metilación del ADN, modificación de histonas y silenciamiento de ARN mediante otros genes (miRNA) también asociados en el cáncer de cavidad bucal.

Identificar los factores genéticos, mecanismos moleculares y biomarcadores involucrados en el cáncer de cavidad bucal proveerán las bases para el entendimiento y potencial prevención de la propagación del cáncer de cavidad oral.

Se rastrea la inestabilidad genética o cambios genéticos en número y estructura de cromosomas al considerarlos un rasgo importante en la oncogénesis. Inestabilidad genética se adquiere en las células tumorales por defectos en segregación de cromosomas, alteración en el número de copias,

pérdida de heterogeneidad, estabilidad en telómeros y regulación en puntos clave para la regulación del ciclo celular y la reparación del ADN.

Se ha encontrado inestabilidad cromosomal en cromosomas 7,9 y 11 en 11.7% de pacientes con cáncer de cavidad bucal, y este se asocia con una menor Supervivencia libre de enfermedad.

Inestabilidad cromosomal causada por defectos de segregación cromosomal en líneas celulares como células madre SOX2 y no SOX2, sugiriendo que la inestabilidad cromosomal puede volver a estas células resistentes a tratamiento.

Otro mecanismo, es la alteración en el número de copias , conforme avanza la enfermedad, el número de anormalidades en el ensamblaje genético aumenta con respecto a la frecuencia, tipo y tamaño de anormalidades. Aumento en el numero de copias somáticas en el genoma altera tanto copias GST como oncogenes, así como “genes pasajeros ”. por ejemplo en el cáncer de cavidad bucal se ha visto significancia clínica en el número alterado de copias de alrededor de 30 genes.

La pérdida de heterogeneidad es causada por acumulación de mutaciones en el DNA celular, y la acumulación de ciertos GST sugiere asociación con el desarrollo de cáncer. Esta es la alteración genética molecular mejor conocida, y se asocia al desarrollo de síndromes de cáncer hereditario por perdidas somáticas a alelos no mutados, exponiendo GST mutados. Específicamente para el cáncer de cavidad oral se han observado en diferentes regiones, 4q,8p,9p y 11q. En población india se han encontrado PDH para APC (Adenomatosis Polyposis Coli) en 25% de pacientes con leucoplaquia y en 3% de pacientes masticadores de tabaco. De igual forma se han estudiado PDH en p53 en pacientes con cáncer de cavidad oral, encontrando 2 polimorfismos en restricción de longitud de fragmentos en exon 4 e intron 6, con PDH en 66 y 55% de los individuos respectivamente. De esto se concluye que la inactivación del p53 se relaciona a progresión a

cáncer de cavidad oral, su inactivación se considera un paso común, y estos genes se pueden utilizar para tamizaje en cáncer de cavidad oral.

Puntos clave o “checkpoints” en la regulación del ciclo celular, estos puntos claves regulan el momento y la secuencia de transiciones y verifican la replicación del DNA y la segregación cromosómica. Además responden a daño y paran el ciclo celular permitiendo y facilitando la reparación. La pérdida de estos puntos clave da pie a inestabilidad genómica y resulta en la transformación de células normales en células tumorales. Inhibidores de Cinasas dependientes de familia de ciclinas de la familia serina/treonina (TKIs), se utilizan como agentes terapéuticos al regular la progresión y división del ciclo celular. P53 al ser GST causa apoptosis al aumentar o disminuir expresión genética. Los carcinógenos del tabaco juegan un rol importante en mutaciones del p53 en cáncer de cavidad oral.

El daño al ADN nuclear interfiere en mecanismos moleculares como replicación y transcripción. Una red celular conocida como Respuesta al Daño Celular, es el encargado del control genético y elimina el VPH episomal del DNA de las células. Proteínas componentes de esta respuesta al Daño Celular son nuevos blancos terapéuticos como el Olaparib (inhibidor PARP) en mutaciones BRCA1 y BRCA2. Deficiencias en las vías de señalización del daño al DNA por una alta expresión de reguladores negativos en la vía del cáncer de cavidad bucal se han asociado a resistencia a cisplatino. De la misma forma se ha encontrado un mayor daño al DNA en leucoplaquia y Carcinoma epidermoide en comparación con fibrosis submucosa oral.

La vía de señalización Notch, controlan el destino celular al interactuar con células adyacentes, regulando patrones de formación y mantenimiento de células madre. Este tipo de señalización se ha visto alterado en el cáncer de cabeza y cuello. En el cáncer de cavidad bucal, NOTCH1 y el dominio intracelular NOTCH1 se expresa negativamente, este paso se relaciona con desarrollo del

primario así como la aparición de metástasis. En un estudio en población China, se encontraron mutaciones NOTCH1 en 54% y 60% en primarios y lesiones premalignas de cáncer de cavidad bucal.

La infección por VPH esta asociado principalmente con cáncer de orofarínge (hipofarínge y base de lengua), y representa el subgrupo de pacientes mas jóvenes y definen un subgrupo de pacientes con un mejor pronóstico.

La función oncogénica del VPH consiste en la expresión codificadora de oncogenes virales, particularmente E6 y E7, el primero promueve la degradación de p53 (proteína supresora de tumores a través de regulación de crecimiento y apoptosis) E7 se une e inactiva la proteína del retinoblastoma e induce sobreexpresión de p16, que a su vez es un inhibidor de cinasa dependiente de ciclina, y detiene le ciclo celular en estadio G1.

Se puede medir el DNA del VPH por Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), sin embargo la detección por este método tiene poca especificidad. En cambio la medición de E6/E7 del VPH se puede hacer por expresión de mRNA, la cual requiere de material congelado y es el estándar de oro de medición.

Existe una asociación entre el CCC e infección por VPH, especialmente en orofarínge con una tasa de detección de 63-81%. No esta clara la relación para cácer de cavidad oral, especialmente lengua móvil, con detecciones de acuerdo a las series de 6%.

Para Cancer de orofarínge incluso se implementado par al (va edición de la AJCC la presencia de sobreexpresión de p16 por Inmunohistoquímica.

Con relación al estadiaje ganglionar, se agregó la presencia de involucro cutáneo, fijación a planos musculares profundos, involucro clínico nervioso. Y se clasifica como involucro extranodal.

La expresión de p53 con IHQ es diferente si esta es causada por factores de riesgo como tabaquismo y alcoholismo, son por mutaciones somáticas y la expresión de una proteína de p53 inactiva. En el caso del VPH, el oncogen E6 degrada el p53 por lo que la ausencia de su expresión es característico.

En un reporte en población japonesa en la que se midieron la presencia por IHQ y PCR la presencia de, así como se comparó supervivencia en dichos casos:

El 14.2% sobreexpresó p16 y 35.4% sobreexpresaron p53 7.1% positivos para DNA de VPH y 5.5% positivos para E6 y/o E7 (de estos 7 pacientes).

Cambios epigenéticos y ARN no codificantes pueden ejercer su actividad por regulación post-transcripcional de expresión genética que resulta en la inhibición de RNA mensajeros blanco.

Los microRNA son una clase de RNA no codificantes de 18-22 nucleótidos que juegan un papel muy importante en la carcinogénesis, tienen una actividad de regulación post-transcripcional, y que tiene un papel en la diferenciación celular, proliferación y apoptosis, uniéndose a la región '3 del mRNA blanco. Dependiendo de su objetivo, pueden tener efecto supresor de tumores y se pueden ser regulados a la baja en cáncer, mientras los denominados oncomiRs, son regulados a la alta en neoplasias malignas y actúan como oncogenes. Existen un número de microRNAs que han sido implicados en la formación de metástasis, denominados metastamiRs. La expresión de microRNAs son normalmente desreguladas en todos los tumores sólidos incluyendo el cáncer de Cabeza y Cuello, Cavidad oral y lengua. Un oncomiR bien estudiado es el miRNA-21, que sobreexpresado se ha asociado con invasión tumoral y pobre pronóstico en cánceres de cavidad bucal. Otro miR involucrado es el miR 183, el cual es regulado a la alta en varios tumores de cabeza y cuello. Este puede actuar como supresor de tumores, por lo que es regulado a la baja en metástasis cervicales de cáncer de cabeza y cuello. En 60 pacientes con cáncer de lengua

seleccionados aleatoriamente en muestras congeladas de tumor, y con un seguimiento promedio de 36 meses. Se encontró regulación a la alta de ambos en el carcinoma de lengua, encontrándose miR 183 en el 68.3% de los pacientes, y que a su vez se asoció a tumores mas avanzados (EC III), así como se encontró asociación con el tamaño tumoral, ganglios linfáticos positivos y recaída locorregional, así se encontró diferencia significativa en la sobrevida libre de enfermedad. Este a su vez esta relacionado con la alta ingesta de alcohol. Estos parámetros no se vieron afectados por la sobreexpresión de miR-21 el cual se observó en 31.7%.

Esto significa que este miR-138 pudiera ser un biomarcador, así como un factor pronóstico.

La hipermetilacion de la E-cadherina se ha asociado a pobre sobrevida en cáncer de cavidad bucal avanzado.

Otro marcador molecular considerar es la neurofilina 2, que juega un papel de pobre pronóstico en cáncer de lengua temprano.

La presentación clínica varía de acuerdo al al sitio primario. El cáncer de lengua, se presenta como una lesión infiltrativa y/o exofítica. El síntoma principal de los pacientes con cáncer cavidad oral es dolor, con o sin disartria, la cual implica la xerostomía, e cual es la reducción del flujo salival, que a su vez resulta en infecciones fúngicas, problemas en salivación y alteración en el gusto.

PROBLEMA:

A pesar de que sabemos que la presencia de ciertos marcadores tumorales, en especial el p16 asociado al Virus del Papiloma Humano es factor pronóstico y predictivo en cáncer de orofarínge, para el cáncer de lengua temprano no se cuenta con algún factor pronóstico o predictivo que nos permita detectar a este subgrupo de pacientes que tendrán una peor evolución, con recurrencias tempranas y mayor agresividad tumoral pese a resecciones adecuadas como tratamiento inicial. El

cáncer de lengua pese a una disminución de la incidencia del resto de los cánceres de cabeza y cuello, ha tenido un aumento en su incidencia.

JUSTIFICACIÓN:

Al identificar este grupo de pacientes que tendrán un peor pronóstico se podrá idear una estrategia de manejo más agresiva de forma que se tome en cuenta no solamente la “radicalización”, es decir la ampliación de márgenes, la adición de radioterapia o la disección ganglionar electiva. Sino que se deberán implementar estrategias para realizar un seguimiento estrecho con estudios de imagen para realizar intervenciones con el objetivo de tratar la recurrencia temprana.

HIPÓTESIS

Existen factores pronósticos y predictores para el cáncer de lengua temprano que nos pueden ayudar a identificar a los pacientes con un comportamiento biológico más agresivo.

Pese a que existen poblaciones de riesgo y factores pronósticos identificados para el cáncer de cavidad bucal, incluyendo VPH para orofarínge en poblaciones principalmente anglosajona, para nuestra población y específicamente para cáncer de lengua, no es un factor relevante que nos pueda predecir ni la evolución clínica, ni la respuesta al tratamiento. Se buscará identificar como factor pronóstico la presencia del mismo y se valorarán los márgenes iniciales y el riesgo de recurrencia loco regional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño: Estudio retrospectivo observacional.

Se realizó una búsqueda en expedientes para formación de una base de datos de todos los pacientes con diagnóstico de cáncer de lengua móvil, estadio clínico temprano definido con tumores menores de 4 centímetros sin adenopatías cervicales clínicamente positivas. Pacientes con fecha de ingreso de cirugía desde septiembre 2010 hasta la fecha. Estos pacientes fueron sometidos a manejo quirúrgico de inicio que incluyó resección de tumor de lengua con márgenes macroscópicos de por lo menos 1cm, los pacientes con márgenes cercanos y de acuerdo al médico tratante (Cirujanos oncólogos adscritos al departamento de cabeza y cuello), se envió a ampliación de márgenes o a radioterapia adyuvantes. A su vez todos los pacientes con ganglio centinela positivo fueron llevados a disección cervical supraomohioidea o selectiva de niveles I-III.

Se valoró edad de presentación, tamaño tumoral, tamaño tumoral en pieza de patología, presencia de ganglios centinelas positivos, ruptura capsular, recurrencia, inmunohistoquímica para p53, p16, p21. Margen quirúrgico mas cercano, estado actual del paciente.

RESULTADOS:

Se revisó la base de datos con un total de 41 pacientes, de los cuales 56% fueron hombres y el 44% mujeres. El principal grupo de edad consistió en pacientes >60 años con un 37%, seguido de pacientes entre 51-60 años con un 22%. 41-50 años, 20%. 31-40 años, 17%. Y un porcentaje pequeño (5%) de pacientes menores de 30 años.

Dentro de los Estadios Clínicos en los que se encontraron a los pacientes, todos ellos EC tempranos de acuerdo a la AJCC 7ma edición, el 61% fueron clasificados como T1N0M0, y el 39% como T2N0M0.

Se encontró recurrencia, la cual se clasificó como enfermedad después del tratamiento primario tanto local como a distancia, de 10 pacientes, es decir el 24.3%, de los cuales 5 pacientes tenían tumores entre 2 y 3 cms, 2 entre 1 y 2 cms, 1 entre 3 y 4 cms y solo 1 paciente mayor a 4cms.

Con relación a los márgenes microscópicos mas cercanos, es decir tras el margen quirúrgico de 1cm el margen medido por patología del espécimen, se encontraron 5 pacientes con bordes 1mm. 4 pacientes con bordes de 2 mm, 6 pacientes con bordes de 3mm, 6 pacientes con bordes de 4mm y 18 pacientes con bordes de >5mm. De acuerdo a su relación con recurrencia: 20% con bordes 1mm, 25% bordes 2mm, 66.6% bordes 3mm, 16.6% bordes 4mm y 14.2% de los pacientes con bordes de 5mm o mas.

De acuerdo a la inmunohistoquímica buscando p16 y p53, se midió el primero en 12 paciente, con 2 (+); p53 en 11, con 8(+). Estos sin relación o diferencia significativa con relación a las recurrencias.

DISCUSION

Vale la pena mencionar que la recurrencia va de acuerdo a lo reportado a la literatura y los diferentes factores pronósticos con relación a p16 y p53 no presentaron diferencia significativa con relación a recurrencia, por lo que de acuerdo también a lo reportado en la literatura parece no representar un factor pronostico o predictivo para esta neoplasia.

Llama la atención el alto porcentaje de recurrencia para el grupo con márgenes de 3mm, por lo que valdrá la pena revisar el porcentaje de pacientes con márgenes cercanos que recibieron Radioterapia adyuvante y si este grupo en particular se benefició de esta terapia y si esta es la causa de la alta recurrencia, por lo que se deberá de definir un grupo de riesgo con relación a márgenes microscópicos.

CONCLUSIONES

El cáncer de cavidad oral temprano , en específico el cáncer de lengua móvil tiene un comportamiento biológico poco predecible, en el que aún existe un grupo de pacientes que evolucionarán con recurrencia temprana y agresiva. Es fundamental continuar en la búsqueda de factores pronósticos tanto del paciente como de la pieza quirúrgica incluyendo alteraciones moleculares en múltiples pasos y niveles que nos pudieran ayudar a predecir que pacientes se benefician de un seguimiento estrecho y terapia local mas agresiva o el adicional tratamiento sistémico aún en etapas tempranas.

REFERENCIAS

1. Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer* 1984; 53:563.
2. Part II Head and Neck. In: *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th, Amid MB, (Ed), Springer, New York 2017. p.53.
3. Rennemo E, Zätterström U, Boysen M. Synchronous second primary tumors in 2,016 head and neck cancer patients: role of symptom-directed panendoscopy. *Laryngoscope* 2011; 121:304.
4. Strobel K, Haerle SK, Stoeckli SJ, et al. Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)--detection of synchronous primaries with (18)F-FDG-PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:919.

5. Hujala K, Sipilä J, Grenman R. Panendoscopy and synchronous second primary tumors in head and neck cancer patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2005; 262:17.
6. Rodriguez-Bruno K, Ali MJ, Wang SJ. Role of panendoscopy to identify synchronous second primary malignancies in patients with oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2011; 33:949.
7. Haerle SK, Strobel K, Hany TF, et al. (18)F-FDG-PET/CT versus panendoscopy for the detection of synchronous second primary tumors in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2010; 32:319.
8. Feldman PS, Kaplan MJ, Johns ME, Cantrell RW. Fine-needle aspiration in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol* 1983; 109:735.
9. Tandon S, Shahab R, Benton JI, et al. Fine-needle aspiration cytology in a regional head and neck cancer center: comparison with a systematic review and meta-analysis. *Head Neck* 2008; 30:1246.
10. Pisharodi LR. False-negative diagnosis in fine-needle aspirations of squamous-cell carcinoma of head and neck. *Diagn Cytopathol* 1997; 17:70.
11. Righi PD, Kopecky KK, Caldemeyer KS, et al. Comparison of ultrasound-fine needle aspiration and computed tomography in patients undergoing elective neck dissection. *Head Neck* 1997; 19:604.
12. Takes RP, Righi P, Meeuwis CA, et al. The value of ultrasound with ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy compared to computed tomography in the detection of regional metastases in the clinically negative neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 40:1027.
13. Dammann F, Horger M, Mueller-Berg M, et al. Rational diagnosis of squamous cell carcinoma of the head and neck region: comparative evaluation of CT, MRI, and 18FDG PET. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184:1326.

14. Wong WL, Hussain K, Chevretton E, et al. Validation and clinical application of computer-combined computed tomography and positron emission tomography with 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose head and neck images. *Am J Surg* 1996; 172:628.
15. Atula TS, Varpula MJ, Kurki TJ, et al. Assessment of cervical lymph node status in head and neck cancer patients: palpation, computed tomography and low field magnetic resonance imaging compared with ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology. *Eur J Radiol* 1997; 25:152.
16. Alkureishi LW, Ross GL, Shoaib T, et al. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell cancer: 5-year follow-up of a European multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2010; 17:2459.
17. Barzan L, Sulfaro S, Alberti F, et al. An extended use of the sentinel node in head and neck squamous cell carcinoma: results of a prospective study of 100 patients. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2004; 24:145.
18. Stoeckli SJ, Broglie MA. Sentinel node biopsy for early oral carcinoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 20:103.
19. Thompson CF, St John MA, Lawson G, et al. Diagnostic value of sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 270:2115.
20. Monroe MM, Lai SY. Sentinel lymph node biopsy for oral cancer: supporting evidence and recent novel developments. *Curr Oncol Rep* 2014; 16:385.
21. Albert JM. Radiation risk from CT: implications for cancer screening. *AJR Am J Roentgenol* 2013; 201:W81.
22. Weissman JL, Akindele R. Current imaging techniques for head and neck tumors. *Oncology (Williston Park)* 1999; 13:697.
23. Kuno H, Onaya H, Iwata R, et al. Evaluation of cartilage invasion by laryngeal and

- hypopharyngeal squamous cell carcinoma with dual-energy CT. *Radiology* 2012; 265:488.
24. Kuno H, Onaya H, Fujii S, et al. Primary staging of laryngeal and hypopharyngeal cancer: CT, MR imaging and dual-energy CT. *Eur J Radiol* 2014; 83:e23.
25. Vogl TJ, Schulz B, Bauer RW, et al. Dual-energy CT applications in head and neck imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 199:S34.
26. Prehn RB, Pasic TR, Harari PM, et al. Influence of computed tomography on pretherapeutic tumor staging in head and neck cancer patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 119:628.
27. Anzai Y, Brunberg JA, Lufkin RB. Imaging of nodal metastases in the head and neck. *J Magn Reson Imaging* 1997; 7:774.
28. Curtin HD, Ishwaran H, Mancuso AA, et al. Comparison of CT and MR imaging in staging of neck metastases. *Radiology* 1998; 207:123.
29. van den Brekel MW, Stel HV, Castelijns JA, et al. Cervical lymph node metastasis: assessment of radiologic criteria. *Radiology* 1990; 177:379.
30. Human papillomavirus and p16 protein expression as prognostic biomarkers in mobile tongue cancer. Kazuhiko Minami, Yasunao Kogashiwa, Yasuhiro Ebihara, Mitsuhiko Nakahira, Masashi Sugawara, Takashi Fujino & Masanori Yasuda *Acta Otolaryngologica*, DOI: 10.1080/00016489.2017.1339327
31. [4] Lingen MW, Xiao W, Schmitt A, et al. Low etiologic fraction for high-risk human papillomavirus in oral cavity squamous cell carcinomas. *Oral Oncol.* 2013;49:1–8. [5] Zafereo ME, Xu L, Dahlstrom KR, et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity often overexpresses p16 but is rarely driven by human papillomavirus. *Oral Oncol.* 2016;56:47–53.

32. [13] Poling JS, Ma XJ, Bui S, et al. Human papillomavirus (HPV) status of non-tobacco related squamous cell carcinomas of the lateral tongue. *Oral Oncol.* 2014;50:306–310.
33. Clin Oral Invest miR-183 and miR-21 expression as biomarkers of progression and survival in tongue carcinoma patients
34. Gordana Supic^{1,2} & Katarina Zeljic³ & Aleksandra Divac Rankov⁴ & Ruzica Kozomara^{1,5} &
35. Aleksandra Nikolic⁴ & Dragica Radojkovic⁴ & Zvonko Magic^{1,2} Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017
36. Hedback N, Jensen DH, Specht L, Fiehn AM, Therkildsen MH, Friis-Hansen L, Dabelsteen E, von Buchwald C (2014) MiR-21 expression in the tumor stroma of oral squamous cell carcinoma: an independent biomarker of disease free survival. *PLoS One* 9(4): 14.
37. He Q, Chen Z, Cabay RJ, Zhang L, Luan X, Chen D, Yu T, Wang A, Zhou X (2016) microRNA-21 and microRNA-375 from oral cytology as biomarkers for oral tongue cancer detection. *Oral Oncol* 57:15–20.
38. 15. Kawakita A, Yanamoto S, Yamada S, Naruse T, Takahashi H, Kawasaki G, Umeda M (2014) MicroRNA-21 promotes oral cancer
39. invasion via the Wnt/beta-catenin pathway by targeting DKK2. *Pathol Oncol Res* 20(2):253–261. doi:10.1007/s12253-013-9689-y
40. 16. Li J, Huang H, Sun L, Yang M, Pan C, Chen W, Wu D, Lin Z, Zeng C, Yao Y, Zhang P, Song E (2009) MiR-21 indicates poor prognosis in tongue squamous cell carcinomas as an apoptosis inhibitor. *Clin Cancer Res* 15(12):3998–4008. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2017; xxx: xxx–xxx
41. Cytoplasmic neuropilin 2 is associated with metastasis and a poor prognosis in early tongue cancer patients H. S. Ong, S. Gokavarapu, Q. Xu, Z. Tian, J. Li, T. Ji, C. P. Zhang: Cytoplasmic neuropilin 2 is associated with metastasis and a poor prognosis in early tongue

cancer patients. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2017; xxx: xxx–xxx. © 2017 International Association of Oral and Maxillofacial Surgeons.