

El virus del papiloma humano como factor pronóstico en pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello

Celia Flores-de la Torre,* Dulce María Hernández-Hernández,**
José Francisco Gallegos-Hernández***

Resumen

Introducción: Los tres principales factores pronóstico en pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (CECyC) son tamaño del tumor, estado histológico ganglionar y origen del tumor. Se ha reconocido al virus del papiloma humano, sobre todo la variedad 16 (VPH-16), como factor pronóstico, sin embargo, resulta controversial que los pacientes VPH+ tengan mejor supervivencia que los VPH-. El objetivo del presente es conocer si la infección por VPH tiene valor pronóstico en pacientes con CECyC.

Material y métodos: Evaluación retrospectiva de pacientes con CECyC. Se analizó supervivencia, localización tumoral, estado general (ECOG), tipo de tratamiento y asociación a VPH identificado por PCR en tejido tumoral. Análisis descriptivo de frecuencias simples, medidas de tendencia central y dispersión, de acuerdo con el tipo de variables. Análisis descriptivo para supervivencia con Kaplan-Meier y regresión de Cox, con intervalo de confianza de 95%.

Resultados: Se incluyeron 179 pacientes, 119 (66.5%) hombres; promedio de edad de 64 años; 34% de los tumores se localizó en cavidad oral y 33% en laringe. Factores asociados con supervivencia: ECOG (RR = 11.3, 2.6-48), estadio clínico (RR = 7.8, 1.7-34), edad mayor a 70 años (RR = 3.5, 1.4-8.5) y tratamiento no quirúrgico (RR = 2.3, 1.4-3.8). La mediana de supervivencia para pacientes con VPH-16 fue de 22 meses *versus* 28 meses de quienes tuvieron otros tipos virales. La infección por VPH no se asoció con el pronóstico.

Conclusiones: El ECOG en el momento del diagnóstico y la etapa clínica fueron los factores pronóstico más importantes en esta serie; el VPH no mostró valor pronóstico.

Palabras clave: Cáncer de cabeza y cuello, virus del papiloma humano.

Abstract

Background: The three most important prognostic factors in patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) are tumor size, nodular histological condition and tumor origin. Recently, human papilloma virus (HPV), particularly HPV-16, has been acknowledged as a prognostic factor. HPV+ patients have better survival than HPV-. This has created a controversy because other factors may influence the prognosis. The objective of this study was to investigate whether HPV has prognostic value in patients with HNSCC.

Methods: We carried out a retrospective evaluation of patients with HNSCC and the following variables were analyzed: survival, tumor location, stage, general condition according to Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) status, treatment and HPV association identified by PCR. We used a descriptive analysis of simple frequencies and central tendency and dispersion measures according to the type of variables. We used descriptive analysis for overall survival with Kaplan-Meier and Cox regression with 95% confidence interval.

Results: There were 179 patients included: 119 (66.5%) were male. Average age of patients was 64 years; 34% of the tumors were located in the oral cavity and 33% were located in the larynx. Factors associated with survival were ECOG (RR = 11.3; 2.6-48), clinical stage (RR = 7.8; 1.7-34), age >70 years (RR = 3.5, 1.4-8.5) and nonsurgical treatment (RR = 2.3; 1.4-3.8). Average overall survival for patients with HPV16 was 22 months vs. 28 months in those with other types of viruses. HPV infection was not associated with the prognosis in this series.

Conclusions: ECOG at the time of the diagnosis and clinical stage were the most significant prognostic factors in this series. HPV did not show any prognostic value.

Key words: Squamous cell head and neck cancer, human papillomavirus.

* Departamento de Oncología Médica.

** Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas.

*** Departamento de Tumores de Cabeza y Cuello.

Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D. F.

Correspondencia:

José Francisco Gallegos-Hernández, Departamento de Tumores de Cabeza y Cuello, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, 06725 México, D. F.

Tel.: (55) 5627 6900, extensión 22778.

E-mail: gal61@prodigy.net.mx

Recibido para publicación: 21-10-2009

Aceptado para publicación: 18-01-2010

Introducción

El carcinoma epidermoide es la neoplasia más frecuentemente diagnosticada en la mucosa del área cervicofacial, originada por el estímulo nociceptivo causado por el consumo crónico de tabaco, alcohol, cannabis y factores locales irritantes como la placa dentobacteriana.^{1,2}

La infección por virus del papiloma humano (VPH) ha sido asociada como factor de riesgo para padecer esta neoplasia; se estima que entre 30 y 60% (según el sitio afectado) de los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (CECyC) tienen infección por VPH, principalmente tipo 16 (muy alto riesgo) y 18 (alto riesgo).³ También se ha descrito la relación de la infección por VPH genital y anogenital con la infección viral de las mucosas del área de cabeza y cuello, dado que es una infección sexualmente transmisible; existe evidencia clínica nivel 1 que ha demostrado que el número de parejas sexuales y el contacto orogenital son, en forma significativa, factores de riesgo para contraer la infección.³⁻⁵

La zona que con mayor frecuencia presenta la infección es la orofaringe, seguida por la cavidad oral y la laringe; actualmente se relaciona la infección por VPH como causa de carcinoma en pacientes jóvenes no fumadores ni bebedores y en mujeres menores de 40 años.

Un hecho interesante y controvertido es que en pacientes con carcinoma de cabeza y cuello, la asociación de infección de VPH implica mejor pronóstico comparados con pacientes sin esta infección. En enfermos con CECyC generalmente jóvenes y con infección por VPH-16 se ha encontrado mejor tasa de respuesta a radioterapia y mejor control local, además de incremento en la supervivencia a cinco años comparados con los pacientes no infectados. Sin embargo, este hallazgo es debatible y otros autores han atribuido ese buen pronóstico a mayor radiosensibilidad de la neoplasia pero en asociación con los demás factores pronósticos conocidos en cáncer de cabeza y cuello, principalmente la presencia o no de metástasis ganglionares cervicales.^{6,7}

Actualmente se trata de saber si la determinación del VPH en pacientes con CECyC debe hacerse en forma rutinaria con el objeto de identificar subgrupos de pacientes en los que el tratamiento inicial sea con radioterapia en lugar de cirugía debido a la mayor radiosensibilidad, y evitar la asociación quimio-radioterapia ya sea neoadyuvante o adyuvante en caso de alto riesgo, debido al buen pronóstico que en teoría tendrían estos pacientes. Así mismo, se debate sobre la teórica utilidad de la vacunación a la población abierta en contra del VPH.⁸

El objetivo del presente estudio es conocer el valor, como factor pronóstico, que la infección por VPH tiene en pacientes con cáncer del área cervicofacial y saber si puede ser considerada un factor pronóstico independiente.

La Organización Mundial de la Salud ha informado recientemente un incremento importante en el número de pacientes diagnosticados con cáncer de cabeza y cuello originado principalmente en la lengua; si bien el grupo más afectado son los individuos del sexo masculino con edad mayor de 55 años y consumo de alcohol y tabaco, la frecuencia de esta neoplasia en mujeres menores de 45 años que no fuman ni beben etanol se ha incrementado en forma exponencial. Se estima que esta neoplasia ocupa el sexto lugar mundial entre todos los tumores.^{9,10} En México representa 5% de todas las neoplasias y la cavidad oral es el sitio más afectado.¹¹ El Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas de la Dirección General de Epidemiología, de la Secretaría de Salud de México, registró 2619 nuevos casos de cáncer originado en mucosas de cabeza y cuello en el año 2002, y 1844 personas que murieron a causa de ello.¹²

La mayor parte de los pacientes en nuestro medio se presenta con enfermedad local o locorregionalmente avanzada en el momento del diagnóstico (34 y 46%, respectivamente) y 10% tiene enfermedad sistémica, lo que explica la alta tasa de letalidad de la neoplasia.^{11,12}

Si bien aún no podemos considerar al cáncer de cabeza y cuello como un problema de salud en nuestro medio, el incremento del alcoholismo, tabaquismo y la asociación con la infección por VPH hacen prever que en el próximo lustro el número de casos se incrementará.¹³

El objetivo del presente análisis es conocer si el VPH tiene valor pronóstico en pacientes con CECyC.

Material y métodos

Análisis retrospectivo de los expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico de CECyC tratados entre el 7 de enero de 2003 y el 26 de enero de 2007.

Fueron incluidos todos los subsitios del área cervicofacial, siempre y cuando la neoplasia se hubiese originado en mucosas y fuese carcinoma epidermoide; se excluyeron todos los pacientes previamente tratados. Los pacientes con carcinoma epidermoide en labio fueron incluidos cuando el origen de la neoplasia era la porción mucosa (intraoral) o del sulcus; fueron excluidos todos los carcinomas originados en la porción dérmica labial y por fuera de la cavidad oral.

El tamaño de la muestra fue calculado teniendo en cuenta los valores aceptados de nivel de confianza (95%) y poder de la prueba (80%). Para una probabilidad de encontrar 30% de mortalidad en etapas tempranas en relación con la mortalidad esperada en etapas tardías se estimó una muestra de 123 pacientes, calculada con el programa estadístico Epi-Info 2000 versión 1.1.

Las variables dependientes estudiadas fueron el tiempo de supervivencia, la supervivencia libre de recurrencia y la supervivencia global; las variables independientes fueron la etapa, el estado general del paciente (ECOG), la localización del tumor, la histología y la infección por VPH.

Determinación del virus del papiloma humano y extracción del ADN

Las muestras se obtuvieron de biopsias y células exfoliadas de pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de las vías aereodigestivas superiores; en todos la muestra fue tomada del tumor primario y antes del tratamiento.

Se tomaron 500 µl de las muestras de células exfoliadas y fueron colocados en medio de transporte (DIGENE). Se les agregaron 50 µl de proteinasa K (20 mg/ml) y se incubaron a 55 °C por dos horas. Las biopsias fueron seccionadas y se les agregó 100 µl de proteinasa K; se incubaron a 55 °C por ocho horas.

Se extrajo el ADN por el método de Salting Out (Miller, Dykes y Polesky, 1988),¹⁴ se agregó NaCl 5M a cada una de las muestras, se precipitó el ADN con etanol a 100% y finalmente se hicieron varios lavados con etanol a 70%.

Amplificación y secuenciación

Para corroborar la integridad del ADN obtenido se utilizan *primers* que amplifican un fragmento del gen β-globina.

La presencia del virus se determina por la amplificación por PCR con los *primers* consenso MY09/MY11 y GP5+/GP6+, que amplifican una región del gen L1 de varios tipos diferentes de VHP (de Roda Husman y colaboradores, 1995; Bauer y colaboradores, 1992).¹⁵ Para comprobar los resultados se corren 5 µl de cada uno de los productos de PCR en gel de agarosa a 2%.

El producto de PCR de las muestras que dieron positivas a las pruebas anteriores se limpia con QIAquick PCR Purification Kit (QUIAGEN) y se secuencia directamente para determinar el tipo de VHP.

Análisis de datos

La captura de la información se realizó en una base de datos con el programa SPSS, en una computadora personal. Para la estadística descriptiva se empleó análisis univariado, obteniendo frecuencias, medias, desviación estándar y medianas. Para la comparación de las medias se utilizó t para muestras independientes y para las variables cualitativas, estadística no paramétrica con χ^2 o prueba exacta de Fisher, calculando los respectivos intervalos de confianza de 95%.

Se realizó análisis descriptivo para supervivencia con Kaplan-Meier y regresión de Cox para obtener riesgos ajustados.

Resultados

Se incluyeron 179 pacientes con CECyC, con media de edad de 64.5 ± 12.7 años, sin diferencia entre hombres y mujeres (p = 0.3). La relación entre ambos sexos fue de 2:1 a favor de los hombres (119:60).

La distribución por sitios de origen del tumor se muestra en los cuadros I y II; en 105 pacientes (58.6%) el tumor se originó en la cavidad bucal y en 59, en la laringe (32.9%).

El tiempo promedio transcurrido entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico fue de 7.7 meses, con mediana de tres. El tiempo medio de seguimiento fue de 19 meses, con intervalo de uno a 48 meses.

En la presente serie, el CECyC fue más frecuente en hombres (p = 0.002) y menores de 50 años de edad (p ≤ 0.001); el tabaquismo estuvo presente de manera significativa (p = 0.003).

Factores pronósticos

No se encontró diferencia en la supervivencia global en relación con el sexo, tabaquismo, alcoholismo, antecedentes familiares de cáncer, edad, presencia y tipo de ADN del VPH; el único factor que mostró valor estadístico fue el peso corporal (p < 0.001) al comparar el que se tenía antes del inicio de los síntomas con el del momento del diagnóstico (cuadro III y figura 1).

Los principales factores pronóstico de supervivencia identificados fueron el ECOG (2 *versus* 0, RR = 9.1, 2.4-34.7; 3 *versus* 0, RR = 11.3, 2.6-48) y el estadio clínico (IVB *versus* 0, RR = 7.8, 1.7-34; IVA *versus* 0, RR = 5.6, 1.5-20.5) (cuadro IV).

Cuadro I. Frecuencia de casos de tumores de cabeza y cuello de acuerdo con el sitio afectado

Sitio afectado	Frecuencia (n = 179)	
	n	%
Lengua	41	22.9
Laringe	59	32.9
Piso de la boca/paladar	20	11.2
Labio	14	7.8
Orofaringe/amígdala	15	8.4
Encía	18	10.1
Trígono retromolar/carrillos	12	6.7

Cuadro II. Características de 179 pacientes con cáncer epidermoide de cabeza y cuello

	Lengua (n = 14) %	Laringe (n = 59) %	Piso boca/ paladar (n = 20) %	Labio (n = 14) %	Orofaringe/ amígdala (n = 15) %	Encía (n = 18) %	Carrillos/TR (n = 12) %	p
Edad								
< 50	29.3	3.4	10	7.1	0	0	16.7	0.001
50-69	26.8	66.1	45	35.7	53.3	50	50	
> 70	43.9	30.5	45	57.1	46.7	50	33.3	
Sexo								
Masculino	46.3	79.7	85	57.1	80	61.1	41.7	0.002
Femenino	53.7	20.3	15	42.9	20	38.9	58.3	
Tabaquismo								
Alcoholismo	56.1	91.4	80	57.1	80	66.7	66.7	0.003
Tiempo al diagnóstico	73.2	83.1	85	85.7	73.3	70.6	58.3	0.4
Tiempo de seguimiento	6.1 ± 8.1	8.7 ± 11	4.9 ± 4.9	17.6 ± 27.5	3.4 ± 2.5	3.7 ± 3.2	6.2 ± 8.4	0.06*
Volumen tumoral	21.7 ± 14.8	20 ± 12.8	10.3 ± 9.9	19.9 ± 13.4	23 ± 14.7	19.7 ± 14.7	20.9 ± 15.9	0.06
	3.3 ± 1.4	2.7 ± 2	4.3 ± 3	3 ± 1	4.4 ± 2.7	3.8 ± 2.3	5.2 ± 3.8	0.03

TR = trígono retromolar.

*Los valores de p fueron estimados con el estadístico de Kruskal-Wallis, valor estadístico de 95%.

Al analizar la supervivencia en pacientes con infección por VPH comparados con los que el ADN del virus no fue identificado, no encontramos diferencia estadísticamente significativa, con lo que concluimos que el ECOG y la etapa son los dos factores pronósticos con mayor peso e independencia en la presente serie (figuras 2 y 3).

El intervalo libre de enfermedad se relacionó en forma inversamente proporcional con la etapa clínica en el momento del diagnóstico (cuadro V).

Ocho pacientes tuvieron segundos tumores primarios, principalmente de origen broncogénico (5%), asociados a infección por VPH.

Discusión

Los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello representan 10% de todas las neoplasias malignas informadas en el mundo.² En Estados Unidos su incidencia es alrededor de 4 a 5% y ocasionan 2% de todas las muertes por cáncer.² Aproximadamente 72 mil nuevos casos se notifican en hombres y 29 mil en mujeres por año, con una relación hombre:mujer de 2.5. La edad media de presentación es de 60 años y la incidencia se incrementa con la edad. La variante histológica más común es el carcinoma de células

escamosas o carcinoma epidermoide: se diagnostica en 85 a 95% de todos los tumores originados en mucosas de las vías aereodigestivas superiores.¹

Factores de riesgo

Diversos mecanismos han sido implicados en la génesis de los tumores originados en el epitelio del área de la cabeza y cuello; el tabaquismo y la ingesta de alcohol son los dos más conocidos y directamente asociados.¹

Otros factores relacionados con la génesis del carcinoma epidermoide de mucosas del área de la cabeza y cuello son las alteraciones genéticas e infección por virus, de éstos al menos dos tipos diferentes están estrechamente implicados en la promoción neoplásica: el virus Epstein-Barr y el VPH.^{12,16}

La infección por VPH ha sido informada como un cofactor de riesgo con valor independiente, esto es, incrementa la posibilidad de adquirir una neoplasia de la mucosa independientemente de los hábitos conocidos y recientemente se le ha asociado, aunque en forma controvertida, con mejor pronóstico cuando se compara la supervivencia y control local de los pacientes que no expresan el genoma viral. En nuestro país se ha informado la prevalencia de VPH asociado a cáncer de cabeza y cuello pero no como factor pronóstico.¹⁷

Cuadro III. Tiempo de supervivencia y factores sociodemográficos

Variable	n	Defunciones	Supervivencia (%)	Tiempo medio de supervivencia	Intervalo de confianza	p
Sexo						
Masculino	119	54	54.6	28	25-32	0.812
Femenino	60	29	28	28	23-33	
Tabaquismo						
Positivo	132	59	55.3	29	25-32	0.3
Negativo	46	24	47.8	26	20-32	
Antecedente cáncer familiar						
Positivo	66	30	54.6	30	25-34	0.4
Negativo	112	53	52.7	27	23-31	
Pérdida de peso						
Presente	130	66	48.5	26	22-29	0.0009
Ausente	48	16	66.7	34	29-38	
Edad						
< 50	20	8	60	32	24-41	0.15
51-60	44	22	50	27	22-33	
61-70	53	20	62.3	32	27-37	
> 70	62	33	46.8	23	18-28	
Alcoholismo						
Positivo	138	62	55	29	26-32	0.33
Negativo	40	21	47.5	25	19-31	
VPH						
Positivo a VPH-16	34	20	41.18	22	16-29	0.5
Positivo a otros tipos	15	6	60	28	18-39	
Negativo	68	38	44.12	22	21-31	

El objeto del presente análisis es registrar el valor que la infección por VPH tiene como factor pronóstico en pacientes con cáncer de cabeza y cuello, lo cual podría tener implicaciones a futuro para identificar pacientes con mejor pronóstico en quienes el tratamiento fuese diferente a quienes no tienen expresión viral.

El estadio y el estado ganglionar son los factores pronóstico más importantes, aunque en el área cervicofacial en particular, el subsitio de origen del tumor tiene también un valor independiente en la evolución al igual que la infección por VPH. La frecuencia de ésta última parece tener variaciones geográficas (la frecuencia de infección por VPH identificada en carcinoma de esófago en China^{15,18} es mucho mayor que en la mayoría de las series europeas y americanas^{19,20}) y anatómicas (es más común en orofaringe que en laringe).²¹

Como factor pronóstico se ha observado que los pacientes positivos a VPH tienen una reducción del riesgo de mortalidad de 60 a 80%, comparados con los negativos. El motivo no es claro pero se cree que la inmunidad a los antígenos virales y la ausencia de campo de cancerización (en pacientes no fumadores) confieren una respuesta apoptótica intacta y una mayor respuesta a la radioterapia y quimioterapia. La falta de un “campo de cancerización” condicionado por el uso crónico de alcohol-tabaco podría justificar que la tasa de segundos tumores primarios en el área cervicofacial fuese menor y, por lo tanto, la mortalidad disminuyese en este grupo de pacientes, si bien esta tesis no está aún dilucidada.

Hasta el momento, el factor pronóstico de mayor peso es la etapa clínica, relacionada en forma inversamente proporcional con la supervivencia global, es decir, en los pacientes

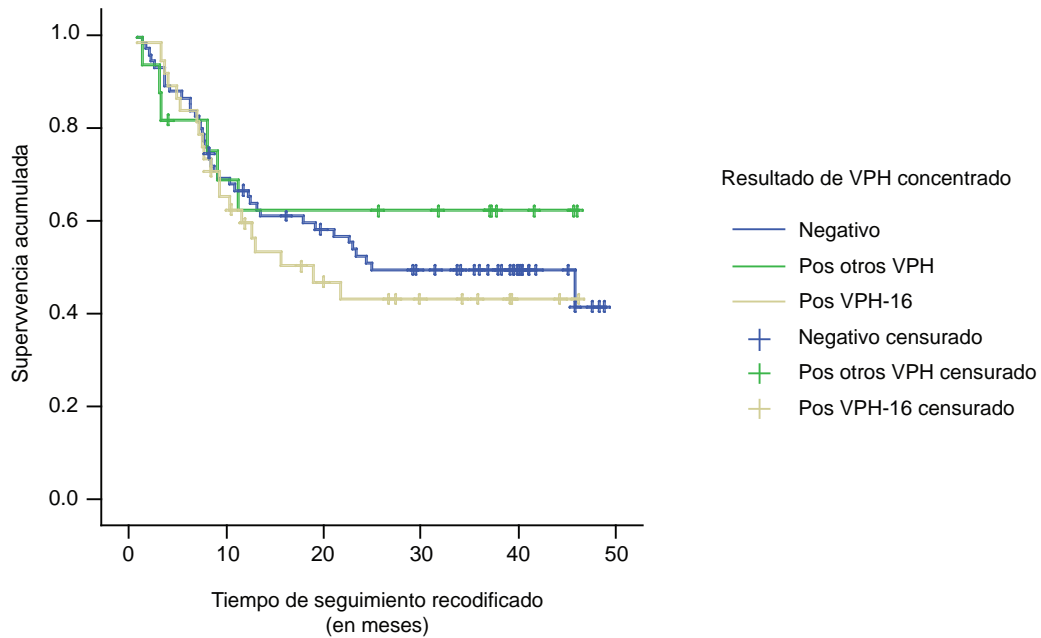


Figura 1. Análisis de supervivencia de acuerdo con la infección de virus de papiloma humano.

con etapas tempranas (I-II) la supervivencia a cinco años es mayor a 80%, mientras en etapas tardías (III-IV) es menor de 40%, independientemente de la asociación de tratamientos recibidos.

En el presente estudio fueron analizados 179 pacientes con carcinoma epidermoide originado en mucosas de cabeza

y cuello, con el propósito de identificar los factores pronóstico de control locorregional y supervivencia.

En nuestra serie se encontró que el ECOG fue un factor pronóstico determinante con p estadísticamente significativa. La pérdida de peso (asociada al estado general del paciente) tiene impacto en la supervivencia. Estos hallazgos

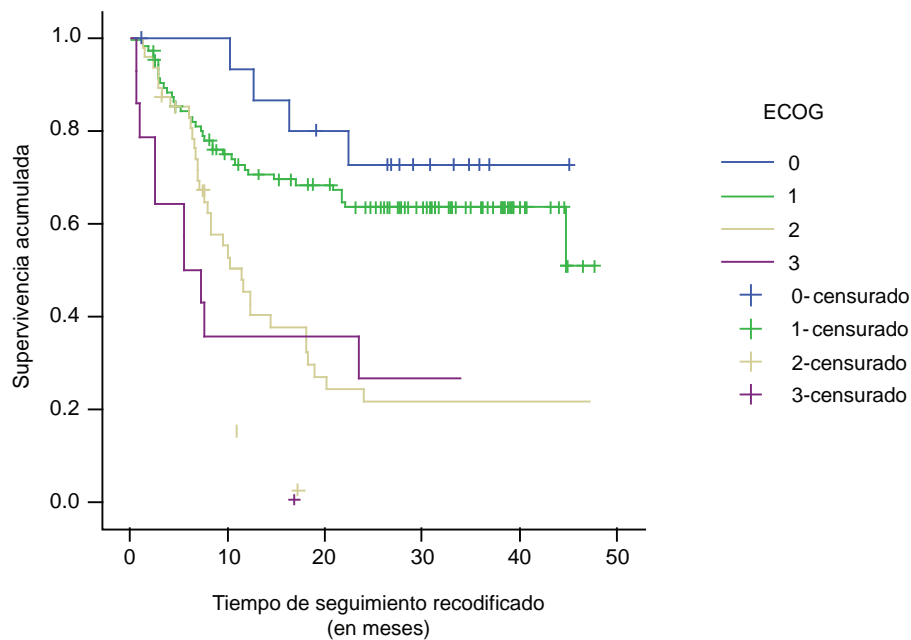


Figura 2. Análisis de supervivencia de acuerdo con el ECOG (que estratifica el estado general).

Cuadro IV. Factores pronóstico ajustados con el análisis de regresión de Cox, en pacientes con tumores de cabeza y cuello

Variable	n	Defunciones	Riesgo relativo	Intervalo de confianza
ECOG				
0	16		1	—
1	102		1.7	0.5-6.1
2	47		9.1	2.4-34.7
3	14		11.3	2.6-48
Sitio				
Lengua	41	18	1	—
Laringe	59	20	0.54	0.22-1.3
Piso de boca/paladar	20	16	1.8	0.86-4
Labio	14	5	1.5	0.5-4.4
Orofaringe/amígdala	15	4	0.4	0.16-1.1
Encía	18	10	0.67	0.27-1.6
Trígono RM/carrillos	12	6	0.5	0.14-1.7
Edad				
< 50	20	9	1	—
50-69	97	34	1.5	0.6-3.7
> 70	62	31	3.5	1.4-8.5
Tipo de tratamiento				
Cirugía	130	47	1	—
No tratamiento oncologico	12	12	4.9	1.9-12.6
Otros	37	24	0.8	0.4-1.6
Etapa clínica				
I	15	4	1	—
II	35	13	1.5	0.3-6
III	49	16	1.6	0.4-6
IVA	69	51	5.6	1.5-20.5
IVB	11	10	7.8	1.7-34

El ECOG (que estratifica el estado general) y la etapa fueron los que mayor impacto tuvieron en el pronóstico.

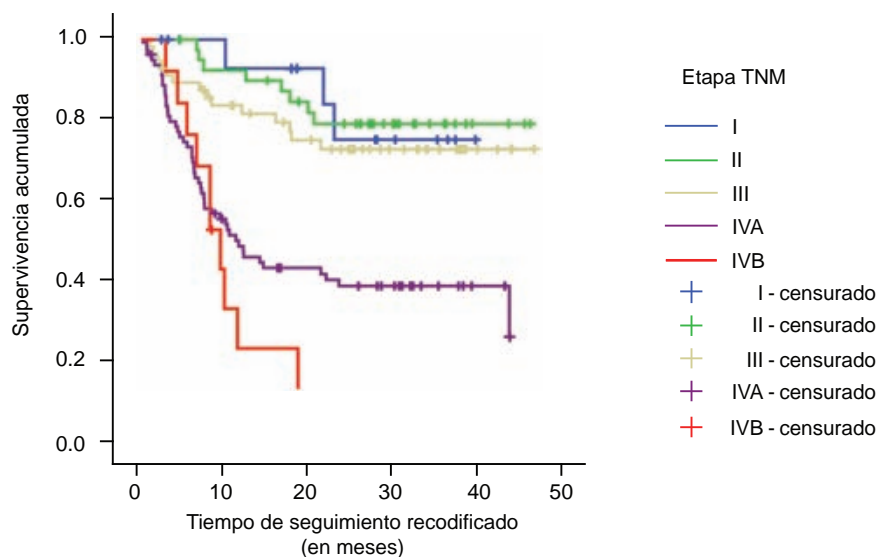


Figura 3. Análisis de supervivencia de acuerdo con el estadio clínico.

Cuadro V. Supervivencia libre de enfermedad

Etapa clínica	n	Defunciones	Supervivencia (%)	Tiempo medio de supervivencia	Intervalo de confianza
I	15	4	73.3	32.72	26.5-38.94
II	35	13	62.9	35.34	29.7-41
III	49	16	66.45	34.2	28.8-39.6
IVA	68	51	25	17.6	13.5-21.7
IVB	11	10	9.1	9	6.2-11.9

La supervivencia tiene una relación inversamente proporcional con el estadio en los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello.

pueden estar relacionados con factores sociodemográficos de la población (nivel económico y estado nutricional).

Aunque no encontramos diferencia significativa en el pronóstico en pacientes VPH+, probablemente por el número de efectivos, un hallazgo interesante fue que los VPH+ que recibieron radioterapia como parte del tratamiento tuvieron mejor control local y supervivencia, aunque no en forma estadísticamente significativa. Probablemente el análisis de una muestra mayor podría darle validez a este hallazgo.

Conclusiones

Los resultados en la presente serie nos han llevado a iniciar un estudio incluyendo mayor número de pacientes con el objeto de descartar al VPH como factor pronóstico independiente en cáncer de cabeza y cuello; si se logra identificar al virus del papiloma como marcador de evolución podríamos identificar pacientes a quienes, sin importar la etapa, pudiésemos ofrecer un tratamiento específico de acuerdo con el estado de la infección viral.

Referencias

- Gallegos-Hernández JF. El cáncer de cabeza y cuello. Factores de riesgo y prevención. *Cir Ciruj* 2006;74:287-293.
- Parkin DM, Bray FI, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;94:153-156.
- Gallegos-Hernández JF, Hernández-Hernández DM, Flores-Díaz R, Apresa-García T, Minauro-Muñoz G, Arias-Ceballos H. Frequency and types of human papilloma virus in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;132(8):897.
- Sikoara AG, Morris LGT, Shurgis EM. A population-based analysis of the association of oral/pharyngeal carcinomas with HPV-related anogenital cancers in men. *Proceedings of the 7th Int Conference on Head and Neck Cancer*. San Francisco: 2008; S-361.
- Yohodom R, Bedrin L, Vered M, Talmi YP, Pheffer R, Teicher S, et al. Squamous cell carcinoma of oral tongue in young adults: a clinical and pathological analysis of risking etiologic entity. *Proceedings of the 7th Int Conference on Head and Neck Cancer*. San Francisco: 2008; S363.
- Hafkamp HC, Haesevoets A, Voogd AC, Schepers M, Bot FJ, Hopman AH, et al. Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *Int J Cancer* 2008;15:2656-2664.
- Shiboski CH, Da Costa MM, Palefsky JM, Jordan RCK. Lack of association between HPV infection and oral tongue carcinoma in young and older patients. S362. *Proceedings of the 7th Int Conference on Head and Neck Cancer*. San Francisco: 2008; S362.
- Laurence J. HPV-linked oral cancer: another argument for universal HPV vaccination of boys and girls. *AIDS Read* 2008;18:345-346.
- Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol* 2009;45:309-316.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2006;56:106-130.
- Dirección General de Epidemiología. Compendio del registro histopatológico de neoplasias en México. Morbilidad y mortalidad. México: Secretaría de Salud; 1996. p. 130.
- Dirección General de Epidemiología. Inforcompendio de registro histopatológico de neoplasias malignas en México 1993-1997. México: Secretaría de Salud; 1998. Disponible en <http://www.degepi.salud.gob.mx>
- Jarret WFH. Environmental carcinogens and papillomaviruses in the pathogenesis of cancer. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1987;231:1-11.
- Mineta H, Ogino T, Amano HM. Human papilloma virus (HPV) type 16 and 18 detected in head and neck squamous cell carcinoma. *Anti-cancer Res* 1998;18:4765-4768.
- Chen B, Yin H, Dhurandhar N. Detection of human papillomavirus DNA in esophageal squamous cell carcinomas by the polymerase chain reaction using general consensus primers. *Hum Pathol* 1994;25:920-923.
- Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *J Mol Diagn* 2001;3:1-10.
- Gallegos-Hernández JF, Hernández-Hernández DM, Flores-Díaz R, Arias-Ceballos H, Minauro-Muñoz GG, Hernández-Sanjuan M, et al. Human papilloma virus in head and neck cancer patients. 1st Meeting Int Academy of Oral Oncology. Amsterdam: May 2007; Abstr. P138. *Oral Oncol Head Neck Oncol Pathol Suppl* 2007:173.
- Chang F, Syrjänen S, Shen Q, Ji H, Syrjänen K. Human papillomavirus (HPV) DNA in esophageal precancer lesions and squamous cell carcinomas from China. *Int J Cancer* 1990;45:21-25.
- Smit HL, Tjong-A-Hung SP, Ter Shegget J, Nooter K, Kok T. Absence of human papillomavirus DNA from esophageal carcinoma as determined by multiple broad spectrum polymerase chain reactions. *J Med Virol* 1995;46:213-215.
- Brandsma JL, Abramson AL. Association of papillomavirus with cancers of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;115:621-625.
- Paz IB, Cook N, Odom-Maryon T, Xie Y, Wilczynski SP. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. An association of HPV 16 with squamous cell carcinoma of Waldeyer's tonsillar ring. *Cancer* 1997;79:595-604.