

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



**NUEVAS TERAPIAS Y FACTORES PRONÓSTICOS EN
TUMORES LOCALMENTE AVANZADOS DE CABEZA Y
CUELLO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Ricardo Hitt Sabag

Bajo la dirección de la Doctora:

Rita Enríquez de Salamanca

Madrid, 2003

ISBN: 84-669-2121-4

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

**NUEVAS TERAPIAS Y FACTORES PRONÓSTICOS EN
TUMORES LOCALMENTE AVANZADOS DE CABEZA Y
CUELLO**

Autor: Ricardo Hitt

Director: Profesor R. Enriquez de Salamanca

Madrid, 2002.

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

La Tesis Doctoral: “Nuevas terapias y nuevos factores pronósticos en tumores localmente avanzados de cabeza y cuello”, realizada por D. Ricardo Hitt, reúne los requisitos necesarios de contenido y forma para optar al grado de Doctor, y puede ser presentada ante el tribunal calificador.

Vº Bº

EL TUTOR

El Director de la Tesis

Fdo: Profesor R. Enriquez de Salamanca

(fecha y firma)

Catedrático de Medicina.

DNI: 1464335

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

La Tesis Doctoral: “Nuevas terapias y nuevos factores pronósticos en tumores localmente avanzados de cabeza y cuello”, realizada por D. Ricardo Hitt, reúne los requisitos necesarios de contenido y forma para optar al grado de Doctor, y puede ser presentada ante el tribunal calificador.

Fecha reunión
Consejo Departamento

El Director del Departamento
Fdo:

AGRADECIMIENTOS

A mi Padre, que a pesar de su ausencia, me sigue enseñando el camino de los aciertos y errores.

A mi mujer, Cora, a mis hijas, Eugenia y Virginia, los pilares de mi vida, por su incondicional apoyo y cariño.

A mis hermanos, a mi Madre, a toda mi familia, por el amor transmitido, por mi ausencia.

A mi gran Maestro de la Medicina: Profesor M. Forteza, me enseñó lo más difícil de aprender: Ser Médico.

Al Profesor J.J. Alvarez-Vicent, por su dedicación a los enfermos, a la ciencia, a la enseñanza de los que le seguimos.

Al Dr. H Cortés-Funes, mi jefe y mentor en la Oncología, visionario de esta compleja especialidad.

A mis amigos, M. Sánchez-Freytes , A. Brandáriz, J.M. Millán y C. Peña, me transmitieron los primeros pasos de la Medicina Interna y Oncología de Cabeza y Cuello, gracias por cada día.

A Eva López, Pablo del Pino y sus equipos, por creer en mis proyectos, por sus incondicionales apoyos, por tantos favores. A todos ellos mi más sincero agradecimiento.

A José J. Sánchez, por todo el soporte estadístico, por las horas dedicadas.

A los Drs. C. Ballestín y A. Benito, Patólogos, que dedicaron parte de su tiempo para que esta tesis se realizara.

A todos los miembros del Servicio de Oncología Médica y ORL, por su largo y productivo apoyo.

A todos aquellos que dedicaron, desde el anonimato, parte de su vida al cuidado de los enfermos y a la investigación.

A todos los enfermos que confiaron en mí, por su paciencia, dolor y fe, que este pequeño aporte científico sirva para ellos.

A mi país, Argentina, por los recuerdos y aprendizajes que me brindó, por estar ahí parte de mi vida, mi familia, mis amigos, mi Universidad Nacional de Córdoba, cuna de Doctos que debieron buscar nuevos caminos, bastión Jesuita de la enseñanza Médica.

A todos aquellos que creen , que luchan, para que cada día podamos un poco más con el cáncer.

A pesar de la riqueza de nuestro idioma, pido disculpas ante los anglicismos empleados en esta Tesis Doctoral, producto de la no fiable traducción que resultaría de algunas palabras, y al uso del inglés en forma cotidiana que se utiliza para referirse a determinados vocablos, lo cual nunca menoscaba la interminable lengua de Cervantes, solo que por mantener el rigor de determinados significados he recurrido a escribirlos en el idioma en que fueron descriptos por primera vez.

Gracias y Perdón.

El autor.

INTRODUCCIÓN

Los tumores de cabeza y cuello comportan un grupo heterogéneo de enfermedades , las cuales están caracterizadas por un patrón de comportamiento semejante, compartir en algunos casos factores etiológicos comunes , un comportamiento en lo que respecta a abordaje terapéutico similar, y unas bases de biología molecular que lo distinguen de otras patologías oncológicas, siendo hoy en día un modelo tumoral único desde el inicio de lesiones premalignas hasta el desarrollo de la enfermedad avanzada. Así mismo este amplio grupo de enfermedades permite el abordaje terapéutico con toda la batería desarrollada para el tratamiento del cáncer, desde la quimioprevención, cirugía, radioterapia, quimioterapia, quimio-radioterapia, hasta el tratamiento con nuevos fármacos, terapia génica y dianas moleculares.

Debido a la complejidad y extensión de la patología la misma será desarrollada en secciones diferentes, agrupándolas como se detalla a continuación :

- Biología Molecular
- Epidemiología
- Localizaciones Anatómicas
- Estadios
- Conceptos Generales de Tratamiento

Posteriormente serán desarrollados en extenso los conceptos que hacen a esta tesis, donde se analizan los siguientes parámetros:

Nuevos y Clásicos Marcadores Moleculares y Clínicos y su Relación con un Nuevo Esquema de Quimioterapia de Inducción en Base a Paclitaxel.

El objetivo sería poder definir nuevos marcadores y nuevas terapias que permitan beneficiar la supervivencia de estos enfermos, la cual no ha variado sustancialmente en los últimos 20 años (1).

A modo de breve comentario diremos que los Tumores de Cabeza y Cuello a los cuales hacemos referencia en esta Tesis se refieren básicamente a los tumores escamosos de Cavidad Oral, Orofaringe, Hipofaringe y Laringe, los cuales comportan el 80% de la patología tumoral de Cabeza y Cuello, solo mencionando y a título informativo que existen otras localizaciones e histologías como son los Tumores de Rinofaringe, Senos, Nariz y Labios, los cuales presentan rasgos diferentes en cuanto al abordaje que motivó la investigación desarrollada en esta tesis, y por lo tanto no serán aquí analizados.

Biología Molecular en Tumores de cabeza y Cuello

El cáncer es una compleja enfermedad genética derivada de la acumulación de varios cambios genéticos que incluyen activación de protooncogenes e inactivación de genes supresores. Además, de la inactivación de genes supresores se requiere también la inactivación de alelos por mutaciones y deleciones cromosómicas. La correlación de estos cambios genéticos específicos observados en lesiones premalignas de colon que evolucionan a carcinoma de colon invasivo, han servido para marcar el desarrollo molecular de diferentes neoplasias, entre ellas los tumores de cabeza y cuello (1).

Se ha observado un número específico de cambios genéticos en los tumores de cabeza y cuello desde lesiones benignas hasta tumores avanzados, y gracias a que hoy es posible

extraer el DNA para su análisis, es posible identificar nuevos target diagnósticos con posibles implicaciones terapéuticas .

Susceptibilidad Genética:

Se ha estimado que hasta un 10% de los tumores presentan un componente hereditario. Generalmente esto ha sido observado primariamente en grupos de familias con diferentes tipos de cáncer. En lo que respecta a tumores de cabeza y cuello se han observados grupos étnicos con mayor incidencia de tumores de cabeza y cuello y una mayor incidencia de tumores de cabeza y cuello ha sido observada en familiares de enfermos con esta patología (2,3).

Un nuevo campo de estudio es la prevalencia de cambios enzimáticos comprometidos en la detoxificación de carcinógenos como aquellos dependientes del tabaco. Un gran estudio que incluyó a 162 pacientes con tumores de cabeza y cuello y a 315 controles sanos, sugirió que ciertos genotipos de glutathione-S-transferasa podrían representar un grupo con factor de riesgo independiente para tumores de cabeza y cuello (4). Por lo visto los cambios genéticos observados en la glutathione-S-transferasa producían alteraciones en la metabolización de ciertos derivados del tabaco, lo que podía explicar el incremento en la incidencia de tumores de cabeza y cuello en grupos de poblaciones homogéneas para otros factores de riesgo, pero que presentaban cambios en esta enzima.

Alteraciones Citogenéticas:

Análisis detallados basados en la incidencia de tumores de cabeza y cuello (TCC) han sugerido que estos tumores se podrían originar después de la acumulación de 6 al 10 cambios genéticos independientes (5). Estudios citogenéticos han demostrados áreas de

delecciones y amplificaciones que estarían comprometidas en la progresión de estos tumores.

Estudios de cariotipo han objetivado que la pérdida de los cromosomas 3p, 5q, 8p, 9p, 18q y 21q , son los cambios mas comúnmente observados (6) . Adicionalmente por ejemplo también se ha demostrado que múltiples breakpoints que incluyen 1p22, 3p21, 8p11 se correlacionan con menor radio-sensibilidad (7).

Protooncogenes

Los protooncogenes fueron inicialmente identificados como genes activadores celulares específicamente alterados en algunos tumores (8), entre ellos en los TCC. Uno de los mecanismos mas conocidos por los cuales se pueden activar los protooncogenes es la Amplificación, donde la 11q13 amplifica un oncogen denominado cyclin D1, la cual se ha demostrado hasta en el 30% de los tumores de cabeza y cuello(23). Otra amplificación destacada en los tumores de cabeza y cuello es la 3q, relacionada como la anterior con la progresión de estos tumores.

El papel de cyclin D1 en la progresión de los TCC hoy en día esta bien establecido. Otros genes supresores incluyendo el Rb y p16 son reguladores negativos de cyclin D1 y a menudo están inactivados en los tumores.

Probablemente el papel de otros oncogenes en tumores de cabeza y cuello sea menos definitivo, por ejemplo, pocas mutaciones del ras han sido observadas. Aunque el epidermal growth factor receptor (EGFR) ha sido un interesante candidato, los aumentos de niveles del receptor rara vez se correlacionan con amplificaciones del DNA (10). Nuevas evidencias sugieren que la activación de las señales a través del Stat-

3 conduce a que el EGFR medie en el crecimiento celular y que la supresión mediante terapia antisense suprima EGFR y pueda producir apoptosis (11).

Adicionalmente varios otros genes o productos de genes han sido hallados en los TCC. Altos niveles de ciclooxigenasa (COX-2) fueron encontrados en tumores escamosos mediante PCR (12), representando este hallazgo un probable target para la quimioprevención, tal como veremos posteriormente.

Supresión en la regulación del crecimiento:

Como existen factores positivos en la regulación y crecimiento celular, también existen otros Factores con efectos Negativos sobre el desarrollo celular, los cuales pueden inhibir el crecimiento. El transforming growth factor-beta (TGF- β) es entre estos factores inhibidores el mas ampliamente identificado y conocido en suprimir el crecimiento tumoral. Algunas líneas celulares de TCC han presentado receptores para el TGF-beta, hallándose estas mutaciones en 6 de 28 tumores primarios de cabeza y cuello (13). La interacción entre el TGF-beta y el receptor normalmente conduce a un incremento negativo del ciclo celular y a un paro del mismo en G1/S, de este modo una regulación normal negativa puede ser conseguida por una mutación en el TGF-beta receptor.

A través de diferentes mecanismos, los receptores del ácido retinoico también han sido implicados como reguladores negativos del crecimiento celular en TCC. Esta regulación negativa ha sido implicada como el target para la quimioprevención con ácido retinoico y derivados para reducir la incidencia de segundos tumores primarios (14) Algunos estudios bien diseñados han demostrado una reducción de la incidencia de segundos tumores en pacientes con carcinomas de cabeza y cuello. Aunque la regulación de los retinoides es compleja, un punto crítico puede ser la down-regulación de RAR-beta.

Estudios en pacientes con lesiones premalignas (leucoplasia) han sugerido que los niveles de RAR-beta se correlacionan con la respuestas a retinoides (15), demostrando que tumores con bajos niveles de RAR-beta no responden a ácido retinoico.

Genes Supresores:

Los análisis actuales de biología molecular han revolucionado hoy en día el entendimiento de los genes y su observación. Técnicas anteriores como el Southern Blot que requerían una gran cantidad de DNA han sido suplantadas por métodos mas modernos como Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) en donde con pequeñas cantidades de DNA extraídos de bloques de parafina, hoy en día es posible y en poco tiempo evaluar una gran cantidad de genes. Mediante esta técnica ahora podemos valorar cambios críticos que ocurren en tumores de cabeza y cuello como son las deleciones localizadas en los cromosomas 9p21-22 (16). La pérdida del cromosoma 9p21 ocurre en la mayoría de los tumores invasivos y se objetiva también en una alta frecuencia en lesiones premalignas y carcinomas in situ (17). Además las deleciones homocigotas en esta región son frecuentes en los TCC y representan unos de los cambios mas comunes en las neoplasias humanas. p16 esta dentro de estas críticas deleciones y es un potente inhibidor de cyclin D1/CDK4 , de este modo p16 es uno de los mas importantes genes supresores en esta área (18). También se ha especulado que otro gen supresor resida en 9p21, llamado p16-beta. Se ha demostrado en líneas celulares que la introducción de p16 o p16-beta produce una potente inhibición del crecimiento celular (19) . Futuros estudios deberán establecer el papel que juegan p16 y p16-beta en la inactivación de tumores escamosos de cabeza y cuello.

Otra deleción común en TCC es la observada en cromosoma 3p (20). Los análisis de las pérdidas 3p21 en tumores de cabeza y cuello han revelado que esta alteración ocurre

tempranamente en el desarrollo estas neoplasias, al igual que ocurre con los carcinomas de pulmón .

Otra pérdida que merece especial atención es la observada en el cromosoma 17p la cual ocurre hasta en el 60% de los tumores invasivos de cabeza y cuello, dando origen a lo que conocemos como p53. Aunque la inactivación de p53 se correlaciona con la pérdida de 17p en lesiones invasivas, rara vez mutaciones en p53 se objetivan en lesiones precoces que inclusive pueden presentar pérdida de 17p (21). Posiblemente un segundo gen supresor localizado en 17p pueda estar comprometido en la progresión de lesiones precoces a tumores invasivos.

Posteriormente detallaremos en extenso el papel de este gen supresor en TCC, ya que es motivo del análisis de esta tesis.

Recientemente se han identificado las pérdidas alélicas y las secuencias mas comunes en tumores de cabeza y cuello, en lesiones preinvasivas e invasivas, desarrollando un modelo de progresión tumoral (22). Como se puede demostrar en este modelo molecular, la progresión en tumores de cabeza y cuello requiere la inactivación de varios genes supresores. Los cromosomas 9p y 3p parecen ser las primeras pérdidas que ocurren, seguidas posteriormente por la pérdida de 17p. Mutaciones en p53 se objetivan en la progresión de lesiones preinvasivas a lesiones invasivas, y muchos otros eventos genéticos ocurren tardíamente en la progresión de la enfermedad. Otros eventos genéticos específicos , tales como la amplificación de cyclin D1 y la inactivación de p16, son observados ya en lesiones invasivas y su papel en la progresión molecular no ha sido claramente establecido.

Estos cambios críticos que ocurren desde las lesiones preinvasivas a lesiones invasivas pueden ser útiles como marcadores pronósticos y posiblemente terapéuticos. Por ejemplo las pérdidas p27 se correlacionan con una mala supervivencia, mientras que las

pérdidas de 3p14 y 9p21 pueden persistir en lesiones premalignas expuestas a quimioprevención y podrían predecir lesiones que terminarán en carcinomas invasivos a pesar de remisiones histológicas (85).

Cancerización por Campos:

Los pacientes con TCC a menudo presentan otro tumor sincrónico o metacrónico de vías aero-digestivas. Además algunos pacientes con lesiones avanzadas presentan en la vecindad del tumor lesiones preinvasivas. Slaughter (23) llamo a esta observación “cancerización por campos” y atribuyó este fenómeno a un defecto del epitelio que predisponía al crecimiento tumoral en múltiples sitios. Estudios previos en carcinoma de vejiga han demostrado que tumores múltiples en un mismo paciente, derivan de la proliferación descontrolada de una sola célula transformada (24). Estos tumores posteriormente crecen en forma independiente, con los correspondientes cambios citogenéticos. En tumores de cabeza y cuello se ha podido demostrar que alrededor del tumor primario ocurren los mismos cambios genéticos (9p21, 3p21) presentes en el tumor primario, sugiriendo que una sola célula transformada origina distintas áreas independientes de tumores. Siguiendo la observación de Slaughter podemos decir que una célula sufre eventos genéticos críticos y migra a través de la mucosa, originando tumores en diferentes sitios, dando lugar al origen monoclonal de la enfermedad.

Este fenómeno podría explicar porque pacientes con TCC en estadios precoces presentan una elevada incidencia de segundos tumores (hasta 10%/año) que muchas veces es lo que marca la supervivencia de esta población. Además la cancerización por

campos es la base teórica de la quimioprevención, debido al alto índice de segundas neoplasias del tracto aereo-digestivo observadas en estos pacientes.

Resumen de Progresión Molecular:

Como hemos visto las neoplasias de cabeza y cuello presentan un origen monoclonal, sometidas a eventos genéticos entre proto-oncogenes y genes supresores. La pérdida cromosómica en la región 9p21 es el cambio mas frecuente que ocurre precozmente en estos enfermos (25). El principal efecto de esta pérdida es la inactivación de p16 el cual actúa como inhibidor de cyclin-depedent Kinase (CDK) lo cual es crítico en la regulación del ciclo celular (26) . Aproximadamente mas de la mitad de los TCC presentan mutación de p53 en 17p13 (27). Esta pérdida en la función de p53 por mutación favorece la progresión de lesiones preinvasivas a lesiones invasivas, incrementando la posibilidad de otros cambios genéticos y produciendo una mayor progresión tumoral.

La amplificación de cyclin D1, la cual también regula el ciclo celular, se ha objetivado en 1/3 de los enfermos con lesiones invasivas (28).

El modelo de progresión molecular en TCC ha demostrado que tejidos con apariencia histológica benigna, pueden presentar cambios clonales que no se correlacionan con cambios histológicos (29). De este modo el estudio de estas alteraciones genéticas en lesiones incipientes pueden diagnosticar pacientes con riesgo elevado de tener carcinomas invasivos.

Algunos enfermos que se presentan con metástasis cervicales de un primario desconocido de cabeza y cuello, se ha podido observar que tiempo después del

diagnóstico inicial de las adenopatías, alteraciones genéticas de la mucosa aerodigestiva coincidían con las mismas alteraciones observadas en los ganglios, y que algunos pacientes con estas alteración de mucosas, desarrollaba tiempo después un tumor primario en esa región, avalando la hipótesis de Cancerización por Campos (23), donde se confirma el origen monoclonal de estas neoplasias.

➤ **EPIDEMIOLOGÍA (molecular)**

Las características específicas de mutaciones genéticas observadas en estos tumores pueden hoy en día dar información acerca de cómo los factores etiológicos interactúan a nivel genético en este particular tipo de carcinoma.

p53 puede ser inactivado en pacientes expuestos al alcohol y tabaco tal como se demostró en un estudio con 129 pacientes con TCC (30). Además se demostró que el alcohol parece incrementar el efecto del tabaco, sugiriéndose que el alcohol no es carcinógeno per se, si no que aumenta la absorción de carcinógenos que contiene el tabaco . También se ha demostrado que la mutación CpG son raras en pacientes que fuman, mientras que esta constituye la mas frecuente mutación observada en no fumadores y no bebedores (49).

Otro factor analizado como de riesgo epidemiológico es la presencia del Papilomavirus Humano (HPV) en algunos tumores de cabeza y cuello.. En un ensayo con mas de 250 pacientes usando técnicas de PCR e in situ hibridización (31), se demostró la presencia de HPV hasta en el 25% de lesiones de cabeza y cuello, siendo la mayoría observada en

Orofaringe. Curiosamente los pacientes HPV + eran menos fumadores y bebedores, comportando este grupo de enfermos, una entidad clínica diferente a la mayoría de los enfermos que presentan el tabaco y el alcohol como los principales factores de riesgo.

Hay que mencionar la incidencia de tumores de cabeza y cuello en no fumadores ni bebedores, como entidad clínica y epidemiológica diferente, ya que mas del 80% de estos enfermos (TCC) presentan los dos factores de riesgos antes mencionados como dato epidemiológico diferente. En un estudio realizado con no fumadores, ex fumadores y fumadores (32) se analizaron : mutación de p53, HPV, pérdida de heterogocidad (LOH) en 10 loci de cromosomas. Se emplearon técnicas de PCR y se objetivaron los siguientes hallazgos: entre los no fumadores destacaban las mujeres con tumores de cavidad oral, entre los fumadores eran mas frecuentes los tumores de laringe, hipofaringe y orofaringe. Las mutaciones de p53 fue mas frecuente en fumadores, el porcentaje de LOH en 3p, 4q y 11q13 fue bajo en no fumadores. Las conclusiones de este ensayo fue que los no fumadores contenían una baja frecuencia de cambios genéticos, sin poder aportar una clara explicación a esta eventualidad de presentación.

Con respecto al tabaco, sus partículas mas carcinógenas residen en la fracción Tar que sería la que interactúa con el alcohol, objetivándose una reducción de la cantidad de la misma solo después de 15 años de abandonado este hábito tóxico, plazo en el cual ya no es detectada en la saliva de ex fumadores (33).

En lo que respecta a la dieta evidencias epidemiológicas sugieren que la vitamina A y los beta-carotenos pueden tener algún papel protector sobre el epitelio (34,35). Varios grupos han estudiado la incidencia entre vitamina A, beta-carotenos y carcinomas de cavidad oral, hallando uno de estos estudios que el consumo de frutas y vegetales en mujeres es inversamente proporcional a la incidencia de estos tumores (36), sin embargo hasta la fecha no hay datos concluyentes al respecto.

En lo que respecta a la epidemiología molecular hoy en día es posible el análisis genético de fluidos (saliva) tal como se puede realizar en otras patologías como el carcinoma de colon (37) o en el cáncer de vejiga (38), donde es posible mediante materia fecal y orina determinar algunas mutaciones. Análisis de mutaciones de p53 también se han demostrado en la saliva de los pacientes con tumores de cabeza y cuello, al igual que alteraciones en la Telomerasa (39), aparentemente jugando esta última un papel en la progresión de lesiones premalignas a malignas.

La identificación de nuevos genes y marcadores moleculares puede ayudar en un futuro a la detección precoz de TCC en poblaciones de riesgos y de esta manera poder incrementar mediante el diagnóstico molecular temprano las posibilidades de curación y de quimioprevención, siempre teniendo en cuenta que estos métodos deben ser contrastados.

➤ **LOCALIZACIONES ANATOMICAS**

Como mencionamos al inicio los carcinomas de cabeza y cuello engloban a un gran grupo heterogéneo de enfermedades, algunas con relación entre si, otras totalmente diferentes. A continuación mencionaremos las diferentes localizaciones y sublocalizaciones anatómicas mas frecuentes que se incluyen bajo este epígrafe, pero solo haremos referencia posteriormente a los Tumores de Cavidad Oral, Orofaringe, Hipofaringe y Laringe, que son los analizados en esta tesis.

Localizaciones en Tumores de Cabeza y Cuello:

- ✓ Nasofaringe: tumores de Cavum
- ✓ Orofaringe: base de lengua, amígdala, vallécula, pared posterior
- ✓ Hipofaringe: seno piriforme
- ✓ Laringe: glóticos, infraglóticos, supraglóticos
- ✓ Cavityad oral: borde de lengua, suelo de boca, triángulo, encías.
- ✓ Labios
- ✓ Senos
- ✓ Orbita
- ✓ Cavityad Nasal
- ✓ Glándulas Salivales

Salvo los tumores que a continuación vamos a analizar, donde los conceptos moleculares y epidemiológicos, en su mayoría, son compartidos, solo mencionaremos que las otras localizaciones presentan aspectos muy diferentes y poco homogéneo aunque sean incluidas en tumores de cabeza y cuello. Por ejemplo los tumores de orofaringe, cavityad oral, hipofaringe y laringe, son en mas del 90% tumores escamosos, siendo las otras localizaciones muy diferentes desde el simple aspecto histológico hasta los cambios genéticos y epidemiológicos, por lo cual no serán comentados, salvo cabe mencionar a los Tumores de Nasofaringe donde pueden ser escamosos o Linfopiteliomas, el cual difiere por completo de lo comentado hasta ahora.

Del mismo modo el abordaje terapéutico de estas heterogéneas localizaciones es diferente a lo que posteriormente se analizará con motivo de esta tesis.

A continuación se detallaran las localizaciones tumorales previamente mencionadas como análisis de este trabajo, mencionado aspectos sobre patología y tratamiento, para posteriormente revisar los datos mas relevantes de nuevos factores pronósticos y tratamientos, agrupando todos los tumores analizados en la tesis.

Tumores de Cavidad oral y Orofaringe: (patología, estadios, tratamientos)

El tipo histológico predominante en estos tumores corresponden a los carcinomas escamosos, los cuales pueden ser de tres grados de diferenciación: bien diferenciados que muestran mas del 75% de queratinización, moderadamente diferenciados con un 25%-75% de queratinización, y pobremente diferenciados con menos de un 25%. Otras variantes menos frecuentes incluyen los tumores verrucosos, sarcomatoides y linfomas (40). Otros criterios utilizados por los patólogos, hace referencia a los desarrollados por Jacobsson (41): número de mitosis, presencia de invasión vascular, tamaño del núcleo , grado de infiltrado inflamatorio y bordes infiltrados.

Lesiones Premalignas: una serie de cambios patológicos que van desde lesiones premalignas a tumores malignos pueden ocurrir en cavidad oral y orofaringe. Entre las lesiones premalignas destacan la leucoplasia, eritroplasia, hiperplasia y displasia (42). La evaluación patológica de la leucoplasia revela hiperqueratosis, la cual es una variable asociada con la hiperqueratosis. La leucoplasia sin cambios displásicos rara vez se asocia con progresión a lesiones invasivas (menos de un 5% de transformación maligna). La eritroplasia esta habitualmente asociada con displasia epitelial subyacente y se puede objetivar transformación hacia lesiones malignas hasta en el 40% de los casos. La displasia esta caracterizada por cambios morfológicos que incluyen mitosis, pleomorfismo, etc y cuando compromete la profundidad de la mucosa es referida como

carcinoma in situ. La displasia puede evolucionar a carcinoma invasivo entre el 15%-30% de los casos (43).

Estadios :

El estadio empleado en este grupo de enfermedades es el propuesto por la American Joint Committee on Cancer (AJCC), basados en la clasificación TNM, donde T representa la extensión del tumor, N el estado nodal y M la presencia o no de metástasis. Un dato destacado de esta evaluación es que el estadio nodal es solo clínico, no incluyéndose la evaluación radiológica (44) por lo cual muchas veces se puede cometer errores a la hora de estadiar los enfermos, siendo la combinación clínica y radiológica el método mas idóneo para diagnosticar la extensión de la enfermedad.

Los criterios para evaluar el T difiere entre las diferentes localizaciones (cavidad oral/orofaringe) , siendo el N igual para todas. Debido a que la clasificación AJCC es compleja por las localizaciones no nos referiremos en extenso a la misma, destacando que estadios precoces corresponden a los I y II y los estadios avanzados al III/IV. Para una revisión completa de la misma se expondrá una tabla al final del análisis de todas las localizaciones .

Consideraciones de Tratamiento:

El manejo inicial de los pacientes con TCC no solo incluye una evaluación de la extensión de la enfermedad, si no que en esta patología como en otras es fundamental el estudio de diferentes detalles como son el estado de nutrición, soporte social, nivel cultural, estado de las piezas dentales, datos que muchas veces pueden influir a la hora de seleccionar un determinado tratamiento. Hay que destacar que la desnutrición o mala nutrición se puede observar hasta en el 25% de los enfermos con tumores de cavidad

oral/orofaringe (45), aumentando esto la morbilidad por los tratamientos oncológicos y empeorando los resultados obtenidos.

Como regla general podemos decir que el principal tratamiento en enfermos operables es la cirugía sobre el tumor primario, asegurando suficientes márgenes sin tumor, para reducir las recaídas.

Con respecto al manejo del cuello se ha demostrado que los tumores del tracto aerodigestivo superior pueden metastatizar al cuello hasta en un 30% de los casos a pesar de tener exploraciones previas negativas (46), lo que habla de la alta incidencia de enfermedad oculta en esta localización. Estas observaciones han conducido a que el manejo quirúrgico del cuello se haga como parte del tratamiento inicial, a pesar de ser N0, realizándose disecciones profilácticas funcionales en la mayoría de los enfermos (47).

En los pacientes con adenopatías clínicas al diagnóstico, habitualmente se recomienda la combinación de cirugía y radioterapia. Solamente se podría emplear la cirugía en caso de lesión ganglionar aislada sin ruptura capsular, siendo siempre recomendado los vaciamientos funcionales.

Para pacientes con enfermedad irreseccable se recomienda la combinación de quimioterapia y radioterapia. Dentro de este enfoque destaca el trabajo reportado por Merlano y col (48) donde se randomizaron los pacientes con tumores de cavidad oral/orofaringe irreseccables, a recibir tratamiento con radioterapia estándar vs un esquema alternante de quimio-radioterapia, demostrando una mejoría en respuesta y supervivencia en este último grupo de enfermos.

Posteriormente se hará referencia a los principales ensayos de enfermedad avanzada.

Principios de Quimioterapia:

La mediana de supervivencia para pacientes con enfermedad recurrente es de 6 meses, y la supervivencia al año del 20% (49) Esta estadística no ha cambiado en los últimos años por el uso de quimioterapia, por lo cual estos enfermos son candidatos a ensayos clínicos fases I y II o tratamientos experimentales con nuevas terapias.

Agentes Únicos:

Las drogas clásicas utilizadas en los pacientes con tumores avanzados de cabeza y cuello incluyen el metotrexato, blemomicina, cisplatino, ifosfamida, 5-fluoruracilo (5FU) , mientras que la actividad de nuevos agentes tales como taxanos, gemcitabine, topotecan , están siendo todavía evaluadas. (50, 51).

El metotrexate continúa siendo el tratamiento quimioterápico paliativo estándar para enfermedad avanzada, a dosis de 40 mg/m² semanal. El tratamiento con este fármaco es poco tóxico, económico y fácil de administrar (50). Dosis mas altas de metotrexate no han demostrado beneficios clínicos y si una mayor toxicidad. Otros fármacos derivados del metotrexate como el trimetotexate, adatrexate y piritrexim (52,53) han sido evaluados en pequeños ensayos fases II, demostrando actividad, pero no aparente ventaja con respecto al metotrexate.

Cisplatino es el agente por ahora mas importante en el tratamiento de los tumores de cabeza y cuello, la mayoría de los ensayos han utilizado dosis de 80-100 mg/m² cada 3 o 4 semanas con un índice de respuestas del 14%-41% (54). Dosis mas altas de cisplatino (+ 100 mg/m²) no han demostrado ventajas en supervivencias y si una mayor toxicidad (55).

Carboplatino presenta menos toxicidad renal, otológica y neurológica que el cisplatino y menor toxicidad gastro-intestinal, presentando un índice de respuestas del 14%-30% y estando recomendado para enfermos que no pueden recibir cisplatino (56) o que presenten neuropatía o nefropatía.

5-Fluorouracil fue evaluado inicialmente como bolus intravenoso durante 5 días en 2° y 3° línea de quimioterapia produciendo un índice de respuestas del 15% (50). Posteriormente se comenzaron a utilizar infusiones prolongadas de 96-120 hs a dosis de 1000 mg/m², mostrando como toxicidad limitante la mucositis e incrementando la actividad antitumoral. También se demostró una actividad sinérgica con el cisplatino, produciendo su combinación un régimen estándar en tumores de cabeza y cuello (54).

Los taxanos, paclitaxel y docetaxel, se unen a la tubulina induciendo la formación de microtúbulos estables e inhibiendo la despolarización de los mismos (57).

Inicialmente paclitaxel fue testeado en infusión de 24 hs cada 3 semanas. Tres ensayos fases II evaluando dosis de 250 mg/m² en 24 hs con soporte con factores fueron desarrollados en pacientes con enfermedad recurrente o metastásica, reportando un porcentaje de respuestas del 36%-43% (58). El ensayo realizado por ECOG objetivó que la mediana de supervivencia era de 9 meses y un 33% de supervivencia al año, sugiriendo una alta actividad de este fármaco.

El esquema óptimo de infusión de paclitaxel no ha sido claramente establecido, pero sabemos que a dosis de 135 mg/m² se consiguen adecuados niveles plasmáticos suficientes para inducir la polimerización de microtúbulos. Varios ensayos están en marcha utilizando diferentes dosis y esquemas de administración, desde infusiones prolongadas hasta infusiones semanales de 1 hs. Las toxicidades mas relevantes asociadas con paclitaxel se relacionan también con el esquema de administración,

destacando la mielosupresión, neuropatía sensitiva, alteraciones en la conducción cardíaca y anafilaxia como datos mas destacables.

Posteriormente, debido a que paclitaxel es el fármaco analizado en esta tesis, se realizará una revisión mas extensa del mismo y su empleo en TCC.

Con respecto a docetaxel, varios ensayos fases II han sido realizados en Estados Unidos y Europa. Porcentajes de respuestas del 21% al 42% han sido reportados previamente (59, 60) empleando dosis de 100 mg/m² cada 3 semanas. Las toxicidades mas destacables incluyen mielosupresión, retención de fluidos , astenia y toxicidad cutánea . Las dosis de 100 mg/m² se recomiendan en enfermos con buen estado general, empleándose dosis de 60-75 mg/m² en el resto de los enfermos (ECOG 2). Actualmente esquemas semanales de 30-40 mg/m² están siendo investigados.

Otros fármacos con actividad en carcinomas de pulmón como son la gemcitabine (61), vinorelbine (62) y topotecan (63), han demostrado una actividad menor en tumores de cabeza y cuello, con un porcentaje de respuestas menor del 20%, por lo cual su desarrollo clínico se ha visto limitado en estos tumores.

Quimioterapia de Combinación:

En los últimos 20 años numerosos ensayos fases II utilizando regímenes de cisplatino en combinación han sido desarrollados (51,54). La mayoría de estos ensayos han incluido un escaso número de pacientes y sugieren una mayor eficacia de la combinación frente a metotrexato Investigadores de Wayne State reportaron inicialmente un índice de respuestas del 70% con un 27% de remisiones completas cuando cisplatino 100 mg/m² fue combinado con 5FU a dosis de 1000 mg/m²/día en 96 hs repetido cada 21 días (64). Posteriormente se analizaron datos de 365 pacientes con enfermedad recurrente o

metastásica de 12 diferentes ensayos clínicos, reportando un índice de respuestas del 50% con un 16% de remisiones completas (65).

Tres grandes ensayos clínicos comunicados previamente (66,67,68) han comparado la combinación de cisplatino/5FU con agentes únicos como cisplatino, 5FU y metotrexato, siendo el resultado de los tres ensayos similares con un índice de respuestas del 30% para la combinación en los 3 ensayos, superior al empleo de agentes únicos, pero con datos de supervivencia no significativamente diferentes entre agentes únicos y combinación, con una mediana de sobrevida de 6 meses y una supervivencia al año del 20%.

Podemos concluir que los esquemas de cisplatino/5FU presentan un porcentaje de respuestas en 1/3 de los pacientes, con remisiones completas entre el 5%-15% de los enfermos, siendo recomendados estos esquemas en enfermos en buen estado general y sin quimioterapia previa, ya que el empleo de metotrexato como agente único ofrece la misma supervivencia con una menor toxicidad. Como mencionamos previamente, la mayoría de los enfermos con enfermedad recurrente deberían ser incluidos en ensayos clínicos.

Quimioterapia de Inducción

Ensayos iniciales de cisplatino en combinación en pacientes con TCC recién diagnosticados demostraron un porcentaje de respuestas del 70%-80%. Esto hizo suponer que la quimioterapia debía administrarse antes de cualquier otro tratamiento, debido a que la vasculatura tumoral estaba intacta, los fármacos penetraban mejor y de esta manera se podría mejorar el control loco-regional y la supervivencia (69). Años después se ha demostrado que varios ensayos randomizados no han conseguido un

beneficio en la supervivencia, pero si en el control loco-regional y en la preservación de órganos (70).

Investigadores de Wayne State University reportaron inicialmente que 3 ciclos de cisplatino/5FU producía como quimioterapia de inducción un porcentaje de respuestas del 93% con remisiones completas (RC) del 54% (71). Ensayos posteriores con este régimen han demostrado un porcentaje de respuestas del 85% con RC en el 40% de los enfermos. Hasta 2/3 de las remisiones completas clínicas son posteriormente confirmadas por patología, variando el porcentaje de remisiones de acuerdo a la localización del tumor primario, siendo laringe y nasofaringe los sitios con mejor respuesta y la cavidad oral con el menor porcentaje de remisiones (72).

Posteriores modificaciones al régimen inicial de cisplatino/5FU han sido evaluadas en un intento de incrementar las remisiones, añadiendo leucovorin al esquema (73), logrando en ensayos no controlados un 95% de remisiones con un 65% de RC.

Combinaciones de cisplatinos con taxanos también han sido ensayadas como quimioterapia de inducción en pacientes con enfermedad irresecable. Colevas y col han publicado un ensayo de docetaxel en combinación como quimioterapia de inducción en pacientes con estadios III/IV. Este régimen empleo docetaxel/cisplatino/5FU/leucovorin soportado con factores estimulantes de colonias. En 23 pacientes evaluados se objetivaron un 100% de respuestas con un 61% de RC después de 3 ciclos de este esquema. La toxicidad de este esquema fue prohibitiva con neutropenia, diarrea, neuropatía y nefropatía como datos mas destacables(74).

En general tal como veremos posteriormente, los taxanos añaden un incremento importante en el porcentaje de remisiones globales y completas a los esquemas de paltino, quedando por definir el mejor esquema de combinación y si en los ensayos

randomizados en curso se puede demostrar beneficio en supervivencia frente a la combinación de cisplatino/5FU.

Ensayos randomizados con quimioterapia de inducción:

Varios ensayos randomizados han comparado si la quimioterapia de inducción con posterior cirugía y radioterapia frente a cirugía y radioterapia, en enfermedad resecable, ofrece beneficios en la supervivencia, habiendo fracasado la mayoría de ellos en demostrar que con cisplatino/5FU se pueda incrementar la supervivencia cuando se administra como tratamiento de inducción(75, 76).

Muchos de estos ensayos han sido criticados por la metodología, pocos emplean dosis completas de cisplatino/5FU y en un ensayo con enfermedad Irresecable se pudo obtener un beneficio en la supervivencia (77). Varios estudios han demostrado una reducción de la incidencia de enfermedad a distancia, pero no un mayor control loco-regional (78,79).

Las siguientes conclusiones pueden ser realizadas después de múltiples ensayos con quimioterapia de inducción, donde se incluyen cientos de pacientes:

- la quimioterapia de inducción consigue un índice de respuestas del 60%--90% con RC en el 20%--50% de los enfermos con enfermedad avanzada.
- Respuestas completas patológicas son observadas en 2/3 de los enfermos con RC clínicas, y aparentemente los enfermos con remisiones patológicas obtendrían beneficios en la supervivencia.
- La respuesta a la quimioterapia de inducción es predictiva de probable respuesta a la radioterapia.
- No se observa un incremento en la morbilidad de la cirugía/radioterapia en los enfermos tratados previamente con quimioterapia.

- No se observa beneficio en supervivencia, salvo probablemente en la enfermedad irresecable, pero si una reducción de la enfermedad a distancia.
- La preservación de órganos es la única indicación estándar de la quimioterapia de inducción en pacientes con enfermedad resecable.
- Hacen faltas nuevos esquemas que empleen nuevos fármacos en ensayos randomizados comparando con cisplatino/5FU y aleatorizando los pacientes, entre otras variables, en enfermedad Resecable/Irresecable.

Quimio-Radioterapia (QTRT)

El objetivo de la administración de quimioterapia y radioterapia conjuntamente es mejorar la capacidad radiosensibilizante de la quimioterapia combinando fármacos que en lo posible presenten efectos aditivos sobre el tumor, sin un incremento marcado de la toxicidad, para mejorar el control loco-regional y la supervivencia en pacientes con TCC avanzados. La combinación permite incrementar el daño subletal que ocasiona la radioterapia, reducir la resistencia tumoral y mejorar la sincronización en el ciclo celular. Además la combinación puede reducir la aparición de clones resistentes a algunos de los tratamientos por separados (80).

Varios metaanálisis han comparado la quimioterapia de inducción, adyuvante y la quimio-radioterapia como control local y supervivencia. Los datos de uno de ellos donde se incluyeron 63 ensayos (81) han demostrado un beneficio de la quimioterapia de inducción del 4% y un beneficio del 8% para la QTRT, con mejoría en el control loco-regional, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global. La mayor crítica a este metaanálisis es que la quimioterapia de inducción analizada incluía regímenes antiguos en su mayoría, no se cuantificaron los números de ciclos

administrados, la intensidad de dosis de fármacos tampoco fue analizada, empleando en la mayoría de los ensayos evaluados combinaciones sin cisplatino/5FU. En los pacientes sometidos a QTRT la mayoría fueron tratados con esquemas mas modernos en base a cisplatino. De todas formas quedó claro el beneficio de la quimio-radioterapia en términos de control local y supervivencia.

Cisplatino ha sido combinado en varios estudios con radioterapia debido a que la mucositis no es un efecto típico de este fármaco (82). Múltiples esquemas de combinación han sido ensayados empleando por ejemplo dosis bajas semanales (20 mg/m²) o altas dosis intermitentes (100 mg/m² cada 3 semanas). El esquema que emplea dosis bajas semanales fue comparado con radioterapia convencional, objetivándose un mayor porcentaje de respuestas globales, pero sin diferencia en remisiones completas o supervivencia (83), probablemente debido a la baja intensidad de dosis de cisplatino. El esquema empleado por la RTOG con cisplatino 100 mg/m² cada 3 semanas ha demostrado beneficios significativos en respuestas y supervivencia, adoptándose hoy en día como pauta estándar (84).

Los esquemas con combinaciones de fármacos ofrecen un beneficio en respuestas pero a costa de una excesiva toxicidad, requiriendo la mayoría de los enfermos un soporte intensivo, y tal como mencionamos previamente, muchos de estos pacientes presentan ya al diagnóstico un deterioro del estado general por lo cual no suelen ser candidatos a tratamientos muy agresivos.

Podemos concluir que la QTRT es superior a la radioterapia convencional en pacientes con TCC, demostrado en ensayos randomizados, que los datos de los metaanálisis demuestran un beneficio del 8% en la supervivencia y que la combinación de cisplatino 100 mg/m² cada 3 semanas junto con la radioterapia puede ser la forma mas apropiada de combinación.

Principios de Quimioprevención:

Como se comentó previamente los pacientes con TCC tienen un incremento del riesgo de padecer un segundo tumor del tracto aero-digestivo, por lo cual ha tenido un gran desarrollo clínico la quimioprevención, es decir evitar mediante diferentes tratamientos, la aparición de segundas neoplasias en una población de riesgo, con el empleo de productos naturales o sintéticos que intenten revertir el estímulo carcinógeno (tabaco, alcohol) que presentan estos individuos.

Los productos iniciales que fueron evaluados son fundamentalmente los beta-carotenos y retinoides, los cuales pueden modular el crecimiento y diferenciación celular en el epitelio, ya sea este normal o premaligno (85).

Hong y col (86) reportaron el primer ensayo randomizado en el cual 44 pacientes fueron tratados con ácido cis-retinoico o placebo durante 3 meses. Se objetivó una mejoría significativa de la displasia a favor de los enfermos que recibieron ácido retinoico, sin embargo hubo una importante toxicidad en estos pacientes, especialmente en piel y mucosas. Aunque se demostró una reversión de la displasia, más del 50% de los enfermos recayeron después de 3 meses de suspendida la terapia.

En un segundo ensayo realizado por Hong se empleó tratamiento de mantenimiento con dosis más bajas de 13-cis retinoico, empleando dosis altas de inducción durante 3 meses (87). Los pacientes posteriormente al tratamiento de inducción fueron aleatorizados a recibir ácido retinoico a dosis bajas o beta-carotenos, demostrándose que las dosis bajas de retinoico fueron más efectivas en mantener una remisión que los beta-carotenos, y mejor toleradas que las dosis elevadas del ensayo previo.

Un ensayo reciente en pacientes con lesiones premalignas resecaadas, randomizó a recibir tratamiento de mantenimiento con fenretinide o placebo (88). Posterior a un seguimiento de 12 meses los pacientes tratados con fenretidine presentaron una recaída en el 8%, comparada con el 29% del grupo control.

Un dato relevante es que el beneficio de la quimioprevención de lesiones premalignas en estos ensayos randomizados, fueron observados en pacientes con lesiones laríngeas mas que en cavidad oral (89).

Estos datos comentados sobre ensayos randomizados incluyeron como comentábamos a pacientes con lesiones premalignas , pero los enfermos que ya han presentado un TCC y han logrado una remisión de su enfermedad también han sido incluidos en ensayos de quimioprevención, debido a que presentan un riesgo del 2%-5% anual de segundos tumores, y en pacientes con largos seguimientos este riesgo de desarrollar un segundo tumor aero-digestivo se incrementa hasta el 40% (90).

Investigadores del M.D. Anderson (91) evaluaron el papel del cis-retinoico en prevenir segundas neoplasias. Posterior a la cirugía, radioterapia o ambas, 103 enfermos con estadios I-IV de tumores de cabeza y cuello fueron randomizados a recibir ácido 13-cis retinoico durante 1 año o placebo. Después de 32 meses de seguimiento hubo una diferencia significativa en la reducción de segundos tumores en los pacientes que recibieron cis-retinoico (4% vs 24%). Aunque estos resultados fueron positivos, no hubo una diferencia en supervivencia, debido posiblemente a la pequeña población estudiada y a que la mayoría de los enfermos incluidos tenían enfermedad avanzada.

Otros dos ensayos realizados por el National Cancer Institute (NCI) empleando 13 cis-retinoico fueron desarrollados en pacientes con estadios I-II de tumores localizados en cavidad oral, faringe y laringe, tratados previamente con cirugía o radioterapia. En estos

ensayos los pacientes fueron asignados a recibir placebo o ácido retinoico a bajas dosis durante 3 años, no habiendo hasta la fecha datos concluyentes.

Podemos concluir que hasta este momento altas dosis de ácido retinoico con tratamiento de mantenimiento a dosis bajas son superiores a placebo en pacientes con lesiones premalignas, en lo que respecta al desarrollo de neoplasias avanzadas. En pacientes con carcinomas de cabeza y cuello ya establecidos, y en remisión tras cirugía o radioterapia, hasta la fecha no hay datos definitivos que la quimioprevención pueda reducir la incidencia de segundas neoplasias, estando pendiente todavía los datos finales de los ensayos avalados por el NCI, por lo cual no se recomienda su empleo fuera de ensayos clínicos para prevenir segundas neoplasias.

Después de haber realizado una revisión general de los diferentes aspectos patológicos y enfoques de tratamiento con respecto a los tumores de cavidad oral y orofaringe, a continuación se realizará una breve revisión por separado de cada uno de estos tumores, dando por desarrollado los aspectos previos mas relevantes.

Tumores de Cavidad Oral

Se estima una incidencia de 30.000 nuevos casos anuales de tumores de cavidad oral (92), habiéndose demostrado una clara relación con el tabaco (93), inclusive con la cantidad de tabaco consumido. A pesar de esta relación directa otros factores con independencia del tabaco también predisponen al desarrollo de este tipo de tumor, como pueden ser las mutaciones genéticas y los déficit en la reparación del DNA (94).

Algunos síndromes relacionados con estas alteraciones incluyen en Xeroderma pigmentoso, la anemia de Fanconi, la Ataxia Telangiectasia, donde los pacientes con estas patologías presentan un incremento en la incidencia de tumores de cavidad oral (95).

Otros factores que pueden predisponer a estos tumores son los déficit en vitamina A, donde la mucosa de estos enfermos tienen un mayor riesgo de transformación maligna independientemente del tabaco (96). Otros factores como pueden ser las irritaciones crónicas por mala higiene dental, mascar marihuana o infecciones predisponen a este tipo de carcinoma (97). Probables relaciones con orígenes virales como el Herpes Virus o el Papiloma Virus también han sido mencionadas, en especial este último (98).

Con respecto a la patología, como mencionamos previamente la mayoría de los tumores corresponden a carcinomas escamosos, sin embargo tumores adenoides quísticos, tumores mucoepidermoides, adenocarcinomas, melanomas, plasmocitomas y sarcomas, también han sido descriptos.

Debido a la diversidad de sublocalizaciones en los tumores comprendidos dentro de Cavidad Oral, haremos una breve referencia sobre cada uno de estos tipos, en base a que su enfoque terapéutico puede ser diferente, aunque lo comentado en la información general sobre enfermedad avanzada se podría aplicar a todas ellas.

Tumores de Labio:

Los carcinomas de labio presentan una incidencia de 3600 casos al año (99), siendo estos tumores en el 95% en hombres y comprometiendo en especial al labio inferior. Al igual que el resto de los tumores de cavidad oral, su principal etiología es el tabaco, incluyendo aquí el consumo de pipas y cigarrillos (100). Otro dato a considerar es que los

pacientes con susceptibilidad genética a enfermedades de piel como el xeroderma pigmentoso, o aquellos expuestos en forma frecuente a las irradiaciones ultravioletas tienen una mayor incidencia de estos tumores (101).

La diseminación a ganglios linfáticos ocurren en forma poco frecuente en tumores de labio (5%-10%), afectando fundamentalmente a ganglios submadibulares y submentonianos (102). Si embargo la incidencia de afectación ganglionar guarda relación con el grado histológico y el tamaño del tumor.

El pronóstico de estos tumores se relaciona con el estadio (103). Los tumores T1 tienen una supervivencia a 5 años del 90%, los T2 del 80%, pero cuando hay diseminación ganglionar la supervivencia baja al 50%.

Tratamiento:

En estadios precoces (I/II) cirugía o radioterapia son las opciones de tratamiento estándar, dependiendo la elección de algunos de estos tratamientos básicamente de la localización y tamaño tumoral. Si la lesión es pequeña y no compromete la función se recomienda cirugía, pero por ejemplo lesiones de comisura, donde pueden quedar daños funcionales, se recomienda la radioterapia. La braquiterapia sola puede ser utilizada en tumores T1/T2, consiguiendo excelentes resultados de control local y supervivencia.

Dada la baja frecuencia de afectación ganglionar en estadios precoces, la cirugía electiva de cuello no se recomienda en forma estándar.

En estadios avanzados (III/IV) resecables, la combinación de cirugía y radioterapia es el tratamiento estándar, recomendándose la cirugía de cuello en caso de afectación ganglionar, y la radioterapia cervical para enfermos con tumores T3N0, por el riesgo de metástasis ocultas (104), al igual que la cirugía electiva del mismo.

Para pacientes con estadios avanzados y con enfermedad irresecable se recomienda inclusión en ensayos clínicos, quimio-radioterapia, o quimioterapia de inducción,

seguido de cirugía y radioterapia. Es recomendable, como mencionamos previamente, el tratamiento quirúrgico del cuello en tumores avanzados.

Tumores de Suelo de Boca:

Presentan una incidencia de 0.5/100.000 (92). Es un tumor mas frecuente en hombres, con un incremento progresivo en mujeres, y con una mediana de edad a la presentación de 60 años.

Los tumores escamosos son los mas frecuentes, sin embargo también se suelen observar carcinomas verrucosos y sarcomatoides como variantes de los tumores escamosos.

Típicamente se presentan como lesiones infiltrativas y dolorosas en suelo de boca que posteriormente invaden lengua, huesos y músculos.

La frecuencia de afectación ganglionar se relaciona con el tamaño tumoral, mostrando una incidencia del 12% en tumores T1 y del 53% en tumores T4 (105).

La supervivencia a 5 años para estadios I es del 85%, siendo del 30% para estadios IV, demostrándose de esta forma la relación directa con el estadio.

Las opciones de tratamiento en estadios precoces pueden ser la cirugía o radioterapia, presentando un porcentaje de curación semejante con ambos tratamientos. El tratamiento electivo del cuello en estadios precoces es controvertido, recomendándose el vaciamiento cervical en tumores mayores de 4mm.

En enfermedad avanzada resecable, la combinación de cirugía y radioterapia es el tratamiento de elección, recomendándose cirugía de cuello, inclusive bilateral para tumores en línea media. Para enfermedad irresecable las recomendaciones mencionadas previamente son las mismas para estos tumores.

Carcinomas de Lengua:

Estos tumores presentan una incidencia de 6200 casos por año (92), con una mediana de edad de 60 años, siendo mas frecuentes en hombres.

Los tumores de lengua pueden crecer en forma infiltrante o exofítica, siendo sus principales síntomas el dolor y la dificultad en la deglución.

Estos tumores presentan una alta incidencia de diseminación linfática (15%-75%), dependiendo del tamaño de la lesión primaria (106), ocurriendo una afectación bilateral hasta en el 25% de los casos. El pronóstico se relaciona con el estadio, con una supervivencia del 75% en enfermedad precoz y del 30% en estadios avanzados.

Con respecto al tratamiento, tumores en estadios I/II pueden ser removidos quirúrgicamente con márgenes de seguridad, aunque el tratamiento con radioterapia presenta un porcentaje de supervivencia equivalente. Para pacientes con N0, dependiendo del tamaño de la lesión primaria, también se recomienda la cirugía electiva de cuello, o el tratamiento con radioterapia del mismo (104).

En enfermedad avanzada habitualmente el tratamiento quirúrgico es mutilante, recomendándose siempre la disección de cuello y radioterapia complementaria.

Un problema frecuente con estos tumores es la elevada incidencia de recaídas loco-regionales, siendo la cirugía de rescate solo posible en el 20% de los pacientes (107), por lo cual también se recomienda en enfermedad resecable, otras alternativas como pueden ser la quimio-radioterapia, en la cual las posibilidades de rescate quirúrgico pueden ser un poco mas altas, sin presentar la mutilación como tratamiento de primera línea (104), con resultados semejantes en control local y supervivencia que la cirugía + radioterapia.

Carcinoma de Orofaringe

La incidencia de este cáncer es de 4000 casos al año, con un pico de edad entre los 50-60 años, correspondiendo los mismos factores etiológicos que los carcinomas de cavidad oral (108). Dentro de estos tumores se incluyen básicamente la base de lengua, amígdala, paladar blando y pared faríngea.

Debido al crecimiento silente inicial, estos tumores en general se diagnostican en estadios avanzados, con dolor y disfagia. Es común al igual que los tumores de cavidad oral, la pérdida de peso y el deterioro progresivo del estado general.

Los tumores de base de lengua presentan una alta incidencia de afectación cervical, objetivándose que tumores T1 pueden tener una incidencia de afectación cervical hasta en el 70% de los casos, y tumores T4 hasta el 90%, con una alta probabilidad de afectación bilateral cervical (106). La supervivencia de estos enfermos se relaciona con el estadio, siendo a 5 años del 50% en estadios I y solo del 15% en estadios IV.

En lo que respecta al tratamiento los tumores en estadios precoces se tratan con cirugía o radioterapia, recomendándose siempre el vaciamiento cervical en tumores de base de lengua, independientemente del tamaño del tumor, e inclusive vaciamientos cervicales bilaterales para tumores de línea media.

Para enfermos con estadios avanzados resecables, se recomienda en ocasiones una resección completa de base de lengua y laringectomía total, esta última por la extensión que suelen tener los tumores a espacio preepiglótico y las dificultades posteriores para la deglución con episodios repetidos de broncoaspiración (109). En algunos enfermos con tumores de vallécula avanzados, la laringectomía supraglótica puede ofrecer un

buen control local, salvo que debido a la necesidad de complementar el tratamiento con radioterapia, muchos pacientes presentan posteriormente dificultades para la deglución.

En enfermedad irreseccable o en caso de no querer recurrir a una mutilación, quimio-radioterapia es una alternativa estándar.

En lo que se refiere a los tumores de amígdala y paladar, es de mencionar que las mismas observaciones realizadas para los tumores de base de lengua, se cumplen con estas localizaciones, mencionando que mas del 80% de los enfermos se presentan en estadios avanzados, con una alta incidencia de afectación cervical, recomendándose el mismo enfoque de tratamiento.

➤ **CARCINOMA DE LARINGE**

Epidemiología:

La incidencia del carcinoma de laringe es de 12.000 casos al año, relacionado también con el consumo de tabaco y alcohol, siendo muy rara su presentación en enfermos que nunca han fumado (110). Otros factores que han sido implicados en el desarrollo de este tipo de tumor incluyen la laringitis crónica, asbesto y la exposición a radiaciones ionizantes. Aparentemente el exceso de consumo de alcohol se relaciona mas con tumores supraglóticos que con tumores glóticos (111).

Patología/Patogénesis

Más del 95% de los tumores de laringe son carcinomas escamosos, existiendo también sarcomas, adenocarcinomas y tumores neuro-endocrinos (112).

Está demostrado que la mayoría de los carcinomas escamosos de laringe requieren un tiempo de desarrollo y de exposición a carcinógenos que estimulan la mucosa produciéndose previamente hiperplasia y metaplasia hasta llegar a un carcinoma invasivo. Un dato molecular destacado es que independientemente de la apariencia morfológica, algunos tumores con aneuploidía o cambios en el DNA pueden evolucionar a carcinomas invasivos (113).

En tumores supraglóticos las características celulares suelen ser de carcinomas poco diferenciados y no queratinizantes, lo que suele predisponer a un comportamiento más agresivo (114). Las lesiones de cuerdas y de otras localizaciones suelen ser más queratinizantes y menos agresivas, aunque se debe considerar que el grado histológico no es el factor pronóstico más importante, si se objetiva una correlación con la invasión ganglionar (115).

Tumores Supraglóticos:

Los tumores de laringe supraglótica (LSG) tienen tendencia a la diseminación local, pudiendo invadir cuerdas vocales y región ventricular, además estos tumores suelen penetrar en el espacio paraglótico. La mayoría de estos carcinomas se originan en epiglotis, algunos en cuerdas falsas y región ariepiglotica (116)

Debido a la importante red linfática en esta región, estos tumores suelen afectar frecuentemente los linfáticos cervicales, y los fallos de tratamiento suelen producirse

mas frecuentemente en esta zona que en el tumor primario (117). La incidencia de afectación ganglionar inicial puede ser del 25% al 50%, estando en directa relación con el tamaño tumoral, siendo de hasta un 80% en tumores T4. Otro dato destacado es la elevada frecuencia de afectación bilateral, la cual también se correlaciona con el tamaño tumoral, pudiendo ser de hasta un 40% en tumores mayores de 2 cm (118).

Tumores Glóticos :

Este es el tipo mas frecuente de carcinoma de laringe. Por lo general suelen ser tumores bien diferenciados, infiltrantes o exofíticos. Debido a las barreras anatómicas de esta región, la afectación cervical y local son menos importantes que los localizados en LSG, teniendo un tiempo de evolución mas prolongado (119).

Tumores Subglóticos

Estos tumores son poco frecuentes, con tendencia a ser poco diferenciados y alta incidencia de afectación de anillos traqueales. La afectación de ganglios cervicales se suele observar entre el 20% al 30% y pueden tener una incidencia de metástasis a distancia mas alta que las otras localizaciones (120).

Tratamiento:

Tumores Supraglóticos

Como se comentó previamente estos tumores presentan una elevada incidencia de afectación ganglionar cervical (114), inclusive bilateral, y con relación al tamaño del

tumor, por lo cual se recomienda la disección cervical o tratamiento con radioterapia en esta región, inclusive en tumores pequeños (recomendación para N0).

En estadios tempranos los resultados obtenidos con laringectomía parcial son equivalentes a los observado con radioterapia (121). Para lesiones mas avanzadas se puede recomendar: radioterapia sola, laringectomía supraglótica con o sin radioterapia posterior, y quimio-radioterapia (122,123).

Tumores glóticos

Para tumores T1—T2 se pueden conseguir buenos resultados con radioterapia o cirugías funcionales, sin embargo la conservación de la voz es mas probable con radioterapia. En pacientes que fracasan a este último tratamiento, laringectomías parciales de rescate pueden ser realizadas con una alta curabilidad en estos enfermos (124).

Para enfermos con tumores T3-T4, en los cuales se requiere la realización de una laringectomía total, hoy es aceptada la posibilidad de preservación de órgano mediante programas de quimio-radioterapia o quimioterapia de inducción con posterior radioterapia en pacientes que previamente han respondido a la inducción, ofreciendo estas alternativas igual supervivencia que la cirugía (104).

Tumores subglóticos:

La supervivencia de estos enfermos en general es mala a pesar de realizarse tratamientos combinados de cirugía del tumor y cuello con posterior radioterapia, debido a que por lo general suelen presentar extensión mas allá de los límites quirúrgicos (120).

Quimioterapia Para la Preservación de Órgano

El manejo quirúrgico de los tumores de laringe e hipofaringe a menudo requiere la realización de laringectomía total. Los ensayos iniciales no controlados de preservación de órgano como los ensayos randomizados han demostrado la factibilidad de estas estrategias que incluyen la quimioterapia de inducción con posterior radioterapia y la quimio-radioterapia, como alternativas válidas a la cirugía sin tener que recurrir a la mutilación y sin afectar la supervivencia (104).

La quimio-radioterapia ha sido utilizada desde hace varios años en todas las localizaciones de los TCC, demostrando en enfermedad irresecable ser superior a la radioterapia convencional (125).

Con respecto a la quimioterapia de inducción, básicamente en base a cisplatino/5FU se ha observado que altos porcentajes de respuestas pueden ser conseguidos (85%), con remisiones completas en el 30%-50% de los casos (126). Las respuestas a la quimioterapia de inducción además puede predecir generalmente la radiosensibilidad del tumor, permitiendo seleccionar los enfermos que se pueden beneficiar de este programa de tratamiento (127).

Dentro de los grandes ensayos randomizados sobre quimioterapia de inducción para preservación de órgano destaca el Department of Veterans Affairs Laryngeal Study Group (128), el cual fue realizados en pacientes con carcinoma de laringe estadios III—IV. En este ensayo los pacientes fueron randomizados a laringectomía total con posterior radioterapia frente a quimioterapia de inducción con Cisplatino/5FU, seguido posteriormente de radioterapia, con cirugía de rescate en caso de recaídas operables.

Este estudio demostró tal como se ha comentado que la preservación de órganos en pacientes con respuesta a la quimioterapia era posible, pero además posteriormente se pudieron analizar factores pronósticos importantes (129): para pacientes tratados con cirugía el único factor pronóstico en el análisis multivariable que demostró una reducción de la supervivencia fue la extensión nodal extracapsular. En pacientes tratados con quimioterapia un bajo estadio T fue el mejor factor predictivo de respuesta a la quimioterapia. El estadio T, la sobreexpresión de p53 y una elevada proliferación nuclear fueron parámetros independientes de éxitos para la preservación de órgano.

El segundo gran ensayo randomizado para la preservación de laringe fue realizado por la EORTC en pacientes con carcinomas avanzados de hipofaringe (130). En este ensayo 194 pacientes con carcinomas de hipofaringe T2—T4, N0—N2 fueron asignados a recibir laringectomía total y faringectomía parcial con posterior radioterapia, frente a quimioterapia con Cisplatino/5FU y posterior radioterapia en respondedores. La supervivencia fue semejante en ambos brazos y la laringe fue preservada en el 48% de los enfermos a 3 años.

Un metanálisis posterior realizado por Lefebvre (131) en pacientes tratados con quimioterapia de inducción para preservación de órgano no demostró diferencia en supervivencia después de un seguimiento de 5.8 años, y que la laringe podría ser preservada en el 58% de los pacientes que tenían supervivencia a 5 años.

Tratamiento de la enfermedad irreseccable

Varios estudios han sido realizados en pacientes con enfermedad irreseccable comparando quimioterapia de inducción con posterior radioterapia frente a radioterapia sola (132). Salvo en un ensayo con resultado positivo, el resto de los estudios no han

demostrado beneficio de esta estrategia, teniendo como principal crítica los esquemas subóptimos de quimioterapia empleados. Sin embargo varios ensayos prospectivos que han comparado QTRT frente a radioterapia, han demostrado un beneficio del control local y la supervivencia de la combinación (133, 134, 135), por lo cual puede ser recomendada como parte del tratamiento estándar. Obviamente tal como se comentó antes, hay que considerar que los programas de quimio-radioterapia presentan una importante toxicidad, requieren una experiencia del centro donde se tratan los enfermos y además esta reservado para pacientes con buen estado general.

➤ **Carcinoma de Hipofaringe**

Casi todos los tumores de hipofaringe suelen ser carcinomas escamosos, y el concepto antes mencionado de cancerización por campos, ocurre en esta localización hasta en el 20% de los casos, pudiendo presentarse varios tumores sincrónicos (136).

En general son tumores agresivos caracterizados por una alta incidencia de afectación cervical y de los TCC de los que mas puede dar enfermedad a distancia. Seno piriforme es la principal localización de esta enfermedad, pudiendo tener afectación ganglionar cervical hasta en el 70% de los casos (137). Cabe destacar además que debido al crecimiento rápido y silente, la mayoría de estos tumores se diagnostican en estadios avanzados, presentando la mayoría de los enfermos otalgia y dificultad para deglutir la saliva.

En lo que se refiere al abordaje terapéutico la mayoría de estos enfermos en el momento del diagnóstico presentan ya un deterioro del estado general y pueden tener enfermedad a distancia, lo que dificulta la inclusión en ensayos clínicos, además es muy poco

frecuente el diagnóstico en estadios I/II, donde se recomienda como manejo estándar cirugía del tumor primario y cuello con posterior radioterapia (electiva) . A pesar de tratarse de estadios precoces la supervivencia a 5 años no supera en 40% (138).

Para pacientes en estadios avanzados, la supervivencia con cirugía y radioterapia no supera el 25% a 5 años (139). Como parte del manejo quirúrgico se recomiendan en estos estadios realizar una laringectomía total con faringectomía y vaciamiento cervical, complementado con radioterapia.

Para pacientes con enfermedad irresecable, quimio-radioterapia es una opción estándar, haciendo las mismas consideraciones mencionadas en lo que se refiere al estado general, y considerando solo tratamiento con radioterapia para pacientes con mal ECOG.

En enfermedad resecable pero que requiera una mutilación de órgano, lo comentado con respecto al ensayo de la EORTC (130) con quimioterapia de inducción y posterior radioterapia en pacientes con respuestas, forma parte del tratamiento estándar en estos enfermos.

Debido a la alta afectación cervical en esta localización, la cual llega al 70% y que mucho pacientes se presentan con N0 y metástasis ocultas (30%) se realiza la misma consideración que en otras localizaciones, recomendándose el manejo quirúrgico del cuello en forma independiente del estadio (137).

Nuevos Conceptos en Tumores de Cabeza y Cuello

Hasta aquí hemos realizado una revisión global de los tumores de cabeza y cuello, sin pretender que sea la misma un tratado sobre estos tumores, debido básicamente a la extensión y complejidad de estas múltiples patologías.

Hay que considerar la necesidad de haber realizado primero un enfoque global, para ahora pasar a detallar nuevos conceptos relacionados con esta tesis, fundamentalmente en lo que respecta a estrategias de marcadores pronósticos y nuevas alternativas de tratamiento.

A continuación pasaremos a detallar los siguientes conceptos

- ✓ *Quimioterapia de Inducción: justificación*
- ✓ *Paclitaxel en tumores de cabeza y cuello*
- ✓ *Factores Pronósticos: para respuesta a los tratamientos y supervivencia*
- ✓ *P53*
- ✓ *Epidermal Growth Factor Receptor*

Se realizará una revisión práctica de estos apartados, donde el objetivo, al igual que la tesis presentada, sea aportar información con probable repercusión clínica, y nuevas vías de posibles tratamientos para estos enfermos.

➤ **Quimioterapia de Inducción**

En los últimos 25 años, ha habido un creciente interés en el manejo médico de los pacientes con TCC, en parte ocasionado por la importante sensibilidad a la quimioterapia que presentan estos tumores. A pesar de la baja frecuencia de cada localización tumoral, la comunidad oncológica ha agrupado a estos tumores para incluirlos en diferentes ensayos clínicos, desde fases I a fases III, reportándose en general como tumores de cabeza y cuello, con las consideraciones que hicimos inicialmente en lo que refiere a tumores de cavidad oral/orofaringe/hipofaringe/laringe, excluyéndose el resto de localizaciones, en general, de los ensayos realizados.

Uno de los argumentos que justificó el desarrollo de la quimioterapia de inducción fue que los pacientes con recaídas loco-regionales y por lo general con un mal ECOG, presentaban respuestas clínicas objetivas a la quimioterapia y en muchos casos beneficio clínico, surgiendo la hipótesis que si la quimioterapia se administrara cuando la vasculatura estuviera intacta y el paciente en mejor estado general, se podría obtener un mayor beneficio (140).

Varios ensayos fases II han sido realizados con la combinación de cisplatino/5FU con las siguientes conclusiones:

- Un 60%-90% de respuestas globales se ha observado en la mayoría de los estudios con un porcentaje de remisiones completas del 20%-50% (141).
- A pesar de poder lograr remisiones completas patológicas, las recaídas son invariables en caso de no recibir los enfermos cirugía o radioterapia (142).

- La probabilidad de que la quimioterapia induzca respuesta se incrementa con el número de ciclos, dando al menos 3, sin estar demostrado que mas de esto mejore las respuestas (1441, 143).
- La quimioterapia de inducción no afecta en forma negativa la tolerancia posterior a cirugía o radioterapia, no demostrándose un incremento en la morbilidad (144).
- Respuesta a quimioterapia de inducción puede predecir una posterior respuesta a radioterapia (145).
- Los pacientes que logran respuestas a la quimioterapia de inducción, por lo general presentan una mejor supervivencia que aquellos que no responden (146).
- Pacientes con tumores aneuploide o tumores poco diferenciados, por lo general presentan una mejor respuesta (147).

Estas experiencias y conclusiones de los ensayos fases II animó a la comunidad oncológica a realizar ensayos fases III en un intento de valorar una mejoría en la supervivencia con grupos controles. En la mayoría de los ensayos fases III, posterior a la quimioterapia de inducción los pacientes fueron tratados con cirugía, radioterapia o ambas, por lo cual se puede deducir que estos ensayos incluían en su mayoría, enfermedad resecable.

La mayoría de estos estudios han sido negativos para demostrar un beneficio en la supervivencia (tabla 1), destacando solo 2 con datos positivos, uno de los cuales incluía mas de 200 enfermos con enfermedad irreseccable (150).

Tabla 1 : Ensayos Fases III con quimioterapia de inducción

autor	(ref.)	año	Nº pts	QT	supervivencia
DiBlasio	148	94	69	FP	NS
Hasegawa	149	94	50	FP	NS
Paccagnela	150	94	237	FP	ventaja quimiotp
Dalley	151	95	280	FP	NS
Domenge	152	96	166	FP	NS

Como vemos en estos ensayos randomizados, las muestras de pacientes incluidos fue pequeña salvo el ensayo de Paccagnela (150) y Daley (151) . En el primero de estos todos los pacientes incluidos presentaban enfermedad irsecable y se demostró un beneficio en control local y supervivencia para los pacientes que recibían quimioterapia.

Pero porqué fueron negativos la mayoría de los ensayos fases III?. En general las principales críticas están basadas en las pequeñas muestras de enfermos, en las quimioterapias seleccionadas en los ensayos iniciales las cuales en su mayoría no se basaban en FP, en la mezcal de pacientes resecables e irsecables, en la mala selección de enfermos por su estado general, en las múltiples localizaciones incluidas, y principalmente en la poca rigurosidad en valorar las respuestas (140), ya que todos los ensayos realizados, al igual que el de Veteranos y EORTC no se estandarizó ni se definió previamente, cual sería el criterio de respuesta global y completa, refiriéndonos a si se daría como respuesta a la sola observación clínica de diferentes expertos

implicados en valorar a los enfermos, o si por el contrario, y como sería mas riguroso, se valoraría a los enfermos clínicamente y radiológicamente, antes y después de la quimioterapia, biopsiando a los enfermos en caso de dudas entre clínica y radiología, y empleando el mismo criterio para todos. Además en ninguno de los ensayos se realizó una valoración por separado de las remisiones del Tumor y de las Adenopatías, que de por sí presentan porcentajes de remisiones diferentes, y que además, tal como veremos posteriormente requieren tratamientos por separados, primando siempre en el cuello la cirugía.

Merece destacar el ensayo de EORTC (130) en lo que se refiere a métodos, donde destaca una falta de rigurosidad en la valoración de la respuesta, poniendo de manifiesto tal como se desprende de la lectura detallada del artículo, que en un ensayo multicéntrico y realizado en diferentes países, cada investigador reporto las remisiones de acuerdo a su criterio y que estas remisiones, debido a que en la mayoría, o casi todos los centros, no se requirió previamente la realización de pruebas por imágenes, no fue sujeta a revisión externa, por lo cual podemos deducir que al igual que en casi todos los ensayos fases II y fases III publicados hasta la fecha, nos podemos encontrar, como en ninguna otra patología oncológica, una probable sobreestimación de las remisiones alcanzadas con la quimioterapia y que probablemente el porcentaje de remisiones completas logradas con cisplatino/5FU sea menor del reportado, lo cual tiene una implicación directa con los resultado de supervivencia, ya que como quedó demostrado y comentamos previamente, realmente los enfermos que logran remisiones completas, y de estos lo que logran remisiones completas patológicas (2/3), serían los que pueden obtener un beneficio real de la quimioterapia de inducción en lo que se refiere a la supervivencia (141, 146). Con esto se quiere destacar que realmente el haber sido poco riguroso en la evaluación de la quimioterapia de inducción, y además, las alegaciones

previamente mencionadas en lo que respecta a selección de enfermos, puede haber llevado a que durante mas de 20 años y con varios ensayos randomizados, podamos decir que la quimioterapia de inducción con Platino/5FU, salvo para la preservación de órganos o para enfermos con tumores irresecables, NO debería ser administrada fuera de ensayo clínico.

Un dato destacable es que a pesar de estos resultado negativos, algunos ensayos (149, 150) han demostrado una reducción significativa en las recaídas a distancia con el empleo de quimioterapia de inducción, lo cual no se traslada a una mejoría en la supervivencia debido a que la mayoría de los enfermos continúan recayendo localmente, siendo esto lo que marca el pronóstico de la enfermedad.

Una publicación destacable es la reportada por Harari (153), en donde se realizó una encuesta a mas de 300 oncólogos implicado en Estados Unidos en el manejo de los pacientes con TCC. En este registró quedó demostrado que el 65% de los oncólogos empleaban quimioterapia de inducción con platino/5FU como primera opción de tratamiento en los pacientes con enfermedad avanzada, con posterior radioterapia, en un intento de mejorar la supervivencia y conseguir un mejor control local , valorando siempre la posibilidad de poder realizar preservación de órganos. Con esto queda de manifiesto que a pesar de los resultado negativos de esta forma de quimioterapia, todavía se sigue esperando mas de la misma, lo cual no será posible hasta cambiar :
Diseño de Ensayos, Selección de Pacientes, Nuevos Esquemas con Nuevos Fármacos.

Conclusiones de la quimioterapia de inducción:

- ❖ Estudios iniciales han demostrado una tasa de respuestas globales del 70%-80% con remisiones completas en el 20%-50% de los enfermos.
- ❖ Las respuestas han sido valoradas de diferentes formas, sin estar convalidadas en los ensayos fase II/III
- ❖ Existe arbitrariedad a la hora de valorar las respuestas.
- ❖ Hasta 2/3 de los enfermos con remisiones completas logran remisiones patológicas.
- ❖ La quimioterapia de inducción estándar se basa en la combinación de platino/5FU.
- ❖ Los ensayos fases III adolecen en su mayoría de rigurosidad a la hora de incluir población de pacientes uniformes y valorar las respuestas.
- ❖ En enfermedad irresecable hay beneficio de supervivencia con quimioterapia de inducción.
- ❖ La quimioterapia de inducción reduce la enfermedad a distancia.
- ❖ La preservación de Laringe/Hipofaringe admite la quimioterapia de inducción como tratamiento estándar.
- ❖ Es necesario investigar nuevos fármacos y nuevas combinaciones.
- ❖ Si en ensayos fases II con nuevas drogas se consiguen altas tasas de respuestas, es necesario en estudios fases III comparar estos esquemas frente a platino/5FU.
- ❖ Si en un estudio fase III una nueva combinación es superior a platino/5FU, se deberá posteriormente comparar en enfermedad Irresecable frente a quimio-radioterapia y en enfermedad Resecable frente a cirugía/radioterapia.

Nuevos Fármacos en Tumores de Cabeza y Cuello: Paclitaxel

Introducción:

Los taxanos representan una nueva de agentes con actividad clínica en TCC. Taxol es un producto natural derivado del *Taxus Brevifolia*, introducido en la clínica en los años 80. La tubulina representa el target de acción de estos fármacos promoviendo la polimerización de la misma y formando microtúbulos estables (154).

Recientes ensayos clínicos han demostrado que taxol es capaz de inhibir la síntesis de DNA provocando un stop en el ciclo celular en fase G2-M y de esta manera puede producir apoptosis. También hoy se conocen otros caminos para regular el ciclo celular e inducir apoptosis, por ejemplo Bcl-2 inhibe la apoptosis, mientras que un homólogo de este oncogén denominado Bax, promueve la muerte celular compitiendo con Bcl-2. Está demostrado que los homodímeros Bax-Bax actúan sobre la apoptosis, y los heterodímeros Bcl-2-Bax inhiben la muerte celular. Tanto Bcl-2 como Bax son target para el oncogén supresor p53, el cual ante un daño en el DNA induce detención del ciclo celular y apoptosis (155). Taxol es capaz de inducir expresión de Bax y reducción de Bcl-2 en líneas celular de tumores de cabeza y cuello (156).

Tanto in vitro como in vivo se han observado interacciones entre p53 y taxol, por ejemplo no se objetivo correlación entre la expresión de p53 y respuesta a taxol en tumores de cabeza y cuello (157), siendo este dato, como veremos posteriormente, de mucha importancia con motivo de nuestras investigaciones actuales.

También se ha demostrado que taxol posee efecto sinérgico o aditivo con la radioterapia (158), pareciendo ser el mismo dosis dependiente, y teniendo en cuenta este dato para su utilización como radiosensibilizante.

Con respecto a los mecanismos de resistencia a paclitaxel se ha demostrado que los genes MDR que codifican P-glicoprotein (pgp) están implicados en la resistencia a este fármaco (159). Al ser este un producto natural, de alto peso molecular e hidrosoluble, es un sustrato para Pgp, objetivándose previamente que los aumentos de este gen están relacionados con los mecanismos de resistencia a taxol, viéndose una reducción de las concentraciones intracelulares de este fármaco en varias líneas celulares resistentes y con sobreexpresión de Pgp (160).

Otros mecanismos implicados en la resistencia a taxol incluyen la sobreexpresión de tubulinas, acetilación de alfa tubulina, mutación de alfa-tubulina, y alteraciones de subunidades de beta-tubulina (161). Sin embargo los mecanismos de resistencia por alteraciones de la tubulina todavía es controvertido.

Como ya esta demostrado , este fármaco es activo en una amplia variedad de tumores que incluyen carcinomas de ovario, mama, pulmón, vejiga, siendo su principal toxicidad limitante neutropenia y neuropatía (162). Las pautas de administración que se han desarrollado en estas patologías incluyen infusiones de 24hs, de 3 hs, de 96 hs e inclusive pautas semanales, variando la dosis de acuerdo a la pauta de administración empleada, siendo las mas recomendadas las infusiones de 3hs a dosis de 175 mg/m² cada 3 semanas.

Taxol en Tumores de Cabeza y Cuello:

Al ser estos carcinomas poco frecuentes, el desarrollo de paclitaxel en los mismos ha sido relativamente tardío, sin embargo, como veremos, quizá este sea uno de los tumores mas sensible a este fármaco, el cual en estos momentos ya a llegado a fase III.

Ensayos Fases I y II:

Varios ensayos con taxol como agente único fueron desarrollados en TCC, empleando pautas de 3hs-24 hs, cada 3 semanas, con un rango de dosis entre 175 mg/m²-250 mg/m², con o sin el empleo de factores estimulantes de colonias y produciendo un porcentaje de respuestas del 20%-40% (tabla 2).

Tabla 2: taxol agente único en tumores de cabeza y cuello

Autor	QT previa	Dosis/esquema	Nº ptes	Resp(%)
Smith (163)	no	250-G-CSF/24 hs	17	35
Gebbia (164)	si	175/3hs	20	20
Forastieri (165)	no	250 G-CSF/24 hs	30	40

En estos ensayos ya se demostró la actividad de taxol en monoterapia en enfermos con tumores de cabeza y cuello recidivado. Destaca el estudio reportado por Forastieri (165) enfermos con recidivas loco-regionales y objetivándose 4 remisiones completas que

incluían enfermos con recidivas irradiadas y una mediana de sobrevida de 9.2 meses. Debido a la elevada dosis empleada en este ensayo, se objetivo granulopenia en el 90% de los enfermos, destacando además que se administró taxol en infusión de 24 hs, que como sabemos produce una mayor toxicidad hematológica.

Debido a la actividad de paclitaxel como agente único en tumores de cabeza y cuello, posteriormente surgen las combinaciones con Platinos (tabla 3), que como sabemos son los agentes mas activos en esta enfermedad.

Tabla 3: ensayos fases I/II de taxol/platino en tumores de cabeza y cuello

Autor	Taxol mg/m2	Platinos mg/m2	Nº ptes	Resp%
Fraci (166)	45-65	25-30	55	33
Schilling (167)	225-250	80	24	67
Hitt (168)	175-300	75	28	78
Adamo (169)	175	75	23	39
Thodman (170)	200	75	25	48

Como vemos en esta tabla las dosis de taxol en combinación con platino fueron diversas, y por lo general el cisplatino fue administrado a 75 mg/m2 cada 3 semanas. Salvo nuestro ensayo, la mayoría de los comentados incluían pacientes con enfermedad recidivada, y con tratamientos previos, lo cual podría explicar que el porcentaje de respuestas estuviera entre el 33%-77%, dependiendo lógicamente de la selección de enfermos.

Con respecto al estudio publicado por nosotros (168), este fue el primero en el cual la combinación de taxol/platino se empleó como esquema de inducción en 1º línea, incluyendo enfermos con enfermedad local avanzada irresecable.

El objetivo de ese ensayo fase I/II fue definir la dosis de taxol en combinación con una dosis fija de platino, realizando en escalamiento de dosis de taxol intrapacientes, en cada ciclo, soportando las dosis de taxol con G-CSF , cuando las mismas eran superiores a 200 mg/m², y dando un máximo de 3 ciclos por enfermos. Además como el ensayo era fase II, intentamos definir actividad y correlacionarla con la dosis. El tratamiento posterior no fue previamente estandarizado, pero se recomendó radioterapia radical en enfermos con remisión completa, y cirugía/radioterapia en enfermos con respuestas no completas, quedando la radioterapia paliativa para aquellos enfermos progresados.

Se incluyeron 28 pacientes irresecables de diferentes localizaciones con un ECOG de 1 y una mediana de edad de 51 años. Se diseñaron 5 niveles de dosis de taxol entre 175 mg/m² hasta 300 mg/m², con dosis de platino de 75 mg/m² y G-CSF hasta recuperación hematológica. El taxol se administró el 1º día y el platino el 2º día. Se obtuvieron un 48% de remisiones completas y 30% de respuestas parciales, no objetivándose diferencias de respuestas entre los diferentes niveles de taxol, por lo cual al llegar hasta 300 mg/m² con seis enfermos, y al no haber llegado a una dosis limitante, se consideró no continuar escalando mas dosis de taxol, ya que previamente había sido definida la probable máxima dosis que se podría conseguir. La intensidad de dosis de ambos fármacos fue del 100%, solo un enfermos presentó neutropenia G3, y la neurotoxicidad G1/2 fue objetivada en 27 enfermos.

Este fue el 1º ensayo en definir la actividad de taxol en combinación con platino como esquema de inducción, y en demostrar que dosis de 175 mg/m² cada 3 semanas eran

equivalentes a 300 mg/m², objetivándose una importante tasa de respuesta, sin una toxicidad limitante. Al ser un esquema que se empleó como inducción en pacientes sin quimioterapia previa, la tasa de respuestas fue mas elevadas que las previamente reportadas, y todos los enfermos fueron evaluados por el mismo investigador, realizándose TAC antes del 1º ciclo y una vez completada la quimioterapia, siendo las respuestas convalidadas por un observador externo en base a las imágenes.

Otros ensayos han combinado taxol con Carboplatino con un porcentaje de respuestas entre el 13%-42%, todos ellos con enfermos pretratados y en recaída, con dosis de carboplatino (AUC) entre 5 y 7. En la mayoría de estos ensayos se observó una menor toxicidad neurológica que con cisplatino y algo mas de toxicidad hematológica (171, 172). La principal crítica a esta combinación es la de sustituir cisplatino por carboplatino, siendo el primero el fármaco mas activo y estándar en TCC, pero carboplatino probablemente mejor tolerado. En mi opinión cuando un fármaco nuevo va a ser investigado en combinación en tumores de cabeza y cuello, Cisplatino a dosis entre 75-100 mg/m², debe ser el platino a emplear debido a que es considerado el estándar.

Forastiere publicó un ensayo interesante de taxol /platino, comparando altas o bajas dosis de paclitaxel con dosis fijas de platino, en pacientes con enfermedad recurrente o metastásica (173). En este trabajo se incluyeron 210 pacientes que fueron randomizados a recibir taxol 200 mg/m² en infusión de 24 hs + G-CSF vs. Taxol 135 mg/m² en 24 hs sin factores, con dosis de platino de 75 mg/m², ambos cada 3 semanas. Se objetivaron un 35% de respuestas en ambos brazos, con una misma supervivencia (7.3 meses) y con una neutropenia G3/4 en el 70% de los enfermos tratados con dosis altas de taxol y en el 78% de los enfermos tratados con dosis bajas, con mas episodios de neutropenia

febril en este brazo. Las conclusiones de este ensayo fueron que no había diferencia de actividad entre ambos brazos y que ambos eran excesivamente tóxicos. La principal crítica es que se utilizó taxol en infusión de 24 hs, el cual presenta como ya se comentó una mayor toxicidad hematológica que las infusiones mas cortas (162), sin mejorar las tasas de respuestas, además la mayoría de los enfermos incluidos en este ensayo que hemos comentado, habían sido tratados previamente y presentaban recaída local de su enfermedad, por lo cual el estado general de los mismos posiblemente no fuera el idóneo.

En un intento de definir claramente la actividad de taxol en combinación en tumores de cabeza y cuello como esquema de inducción, para poder mejorar los datos observados con platino/5FU, hemos realizado un ensayo fase II con Taxol/Platino/5FU (PPF) en pacientes al 1º diagnóstico como esquema neoadyuvante, estableciendo en el diseño de este ensayo la evaluación clínica, radiológica y el tratamiento posterior a la inducción (174). En este esquema las dosis empleas fueron 175-100-500 mg/m² PPF cada 21 días x 3 ciclos, realizando TAC basal y al final de la quimioterapia, exploración clínica en cada ciclo y al finalizar la misma se realizó junto a al TAC endoscopia y biopsia cuando era posible. Los pacientes con RC pasaron a cirugía de cuello cuando eran N+, independientemente de la respuesta y posteriormente quimio-radioterapia con taxol 25 mg/m² semanal. Los pacientes que lograron menos respuesta se realizó, cuando era posible, cirugía funcional del tumor primario, cirugía de cuello, y posteriormente el mismo esquema de quimio-radioterapia. Los pacientes sin respuesta o progresión pasaron a tratamiento con cirugía/radioterapia , cuando este era viable o tratamiento paliativo con segunda línea de quimioterapia o radioterapia.

Se incluyeron 70 enfermos, la mayoría con enfermedad irresecable o que eran candidatos a cirugía radical. La principal toxicidad del esquema fue neutropenia G3/4 en el 14% y neuropatía G3/4 en el 14%. Se objetivaron un 88% de remisiones globales con un 59% de remisiones completas. Un dato a destacar es que las RC en el tumor primario fueron del 74%, comprobadas en más del 80% por biopsias. Con una mediana de seguimiento de 51 meses, a 5 años la supervivencia libre de progresión fue del 56% y la supervivencia global del 44%, cayendo esta última con respecto a la supervivencia libre de progresión debido a la elevada incidencia de segundos tumores.

Considerando los excelentes resultados de este ensayo, a la factibilidad del mismo, y además a la rigurosidad en la evaluación de las respuestas, hemos realizado un ensayo multicéntrico fase III, randomizando a enfermos con TCC local-avanzados a recibir tratamiento de inducción con el esquema PPF x 3 ciclos, frente a la combinación estándar de Cisplatino/5FU. Posterior a la finalización de la quimioterapia y siguiendo los mismos criterios que en el ensayo fase II (174), los pacientes son asignados a recibir quimio-radioterapia, esta vez con Platino 100 mg/m² cada 21 días (esquema estándar de RTOG), en caso de remisiones mayores, con cirugía de cuello en pacientes N+, y en caso de respuestas incompletas pasan a cirugía/radioterapia o el tratamiento indicado por cada investigador, fuera de ensayo clínico.

En este estudio, ya cerrado, se han incluido 390 enfermos, intentando demostrar si la combinación de PPF es superior a platino/5FU en términos de respuesta, supervivencia y probable preservación de órganos. Cuenta con el brazo estándar de quimio-radioterapia para ambos grupos, por lo cual la única variable es el esquema de quimioterapia y el centro donde se realiza el ensayo. Además todos los enfermos siguen los mismos criterios de evaluación de respuesta, estando los TAC sujetos a revisión externa. Este trabajo podrá definir, o no, si PPF es superior a un esquema de inducción

estándar desde hace más de 20 años, sin quitar la quimio-radioterapia y la cirugía como parte del manejo de estos enfermos, por lo cual, debido a la rigurosidad en el diseño, en caso de que PPF fuera superior, podrá cambiar el enfoque en el manejo, y quizá la supervivencia, de una patología donde los avances han sido escasos en las últimas décadas.

CONCLUSIONES DE PACLITAXEL EN TUMORES DE CABEZA Y CUELLO:

- ❖ Taxol actúa aparentemente en forma independiente a la expresión de p53 en TCC.
- ❖ La sobreexpresión de p53 puede ser un factor pronóstico adverso en TCC, donde la misma se objetiva en más del 60% de los tumores.
- ❖ Taxol ha demostrado hasta un 40% de actividad en tumores recaídos como agente único.
- ❖ En combinación con platino y como inducción se pueden conseguir más de un 50% de respuestas.
- ❖ Con esquema PPF como inducción se han observado un 74% de remisiones completas en el tumor primario y un 56% de supervivencia libre de enfermedad a más de 50 meses.
- ❖ Como principal toxicidad destaca la neutropenia, la cual es manejable.
- ❖ Están en marcha ensayos fases III que comparan taxol en combinación frente a platino/5FU.
- ❖ Quedan por definir parámetros clínicos y moleculares de respuestas en pacientes tratados con taxol, que probablemente sean diferentes a los objetivados con otras quimioterapias en enfermos con TCC.
- ❖ Queda por definir cuál es el papel de Taxol en tumores de cabeza y cuello.

➤ **FACTORES PRONÓSTICOS EN TUMORES DE CABEZA Y CUELLO**

Introducción:

En esta enfermedad , al igual que en el resto de las patologías oncológicas existen factores pronósticos clínicos y moleculares que permiten predecir una respuesta a un tratamiento determinado, y que en algunas ocasiones , pueden ser factores predictivos de supervivencia, ofreciendo en base a los estudios clínicos una nueva vía que podría facilitar la mejor selección de tratamientos, cuando estos son posibles.

Diferentes estudios han demostrado que varios factores clínicos pueden ser útiles en pacientes con tumores de cabeza y cuello, permitiendo una mejor decisión del tratamiento a seleccionar. Entre estos factores destacan: estado general (ECOG), sexo, edad, nivel de hemoglobina, estado nutricional (175), siendo el ECOG uno de los mas importantes, inclusive para supervivencia (176).

En lo que se refiere a factores que determinan el control loco-regional, podemos citar la extensión nodal (176), estadio T (177), localización del tumor primario (178), estando afectada la respuesta a los tratamientos y la supervivencia cuanto mayor es el T y la N, y cuanto mayor es en general el volumen tumoral a tratar (176). Con respecto a la localización, esta demostrado que los tumores de nasofaringe y laringe, tienen una mejor evolución, a igual estadio que el resto de las localizaciones, inclusive una clara mejor respuesta a la quimioterapia (179, 180).

A pesar de los múltiples factores clínicos que se puedan valorar, en grandes ensayos randomizados, los tres factores predictivos mas importantes son el T, N y volumen

tumoral (176, 177), siendo estos factores pronósticos independientes para respuesta y supervivencia.

En lo que se refiere a ensayos realizados con quimioterapia de inducción, los tres factores mencionado previamente, junto con la localización tumoral, siguen siendo los mas importantes, ya que los pacientes incluidos en estos estudios presentan por lo general ECOG 0-1, y datos analíticos normales, motivo por el cual pierden valor en los análisis multivariables estos parámetros. La resecabilidad o no del tumor se relaciona directamente con el estadio T/N, por lo cual los tumores irresecables tienen peor pronóstico, como es lógico, que los resecables (175).

Factores Pronósticos Moleculares:

Con las limitaciones que ofrecen los factores clínicos, y con los nuevos avances en biología molecular, han surgido una serie de nuevos marcadores, que en ocasiones pueden ser útiles como nuevos parámetros de respuesta y supervivencia.

A continuación describiremos los marcadores moleculares mas destacados en tumores de cabeza y cuello.

p53:

Este es uno de los marcadores mas estudiado en tumores de cabeza y cuello.

El gen p53 normal o wild-type esta en el exón 11 y se localiza en el cromosoma 17p13 (181). Este gen encoda una proteína de 53-kD cuyas funciones incluyen la regulación de transcripción de genes, la síntesis y reparación de DNA, coordinación del ciclo celular y la apoptosis (182). Actúa básicamente como un gen supresor, produciendo una up-regulation de p21 en respuesta al daño en el DNA , lo cual produce en condiciones

normales, una detención del ciclo celular en fase G1 (183). Esta detención del ciclo celular permite la reparación del DNA, limitando de esta forma la propagación de aberraciones genéticas que pueden producir un carcinoma. Además este gen supresor también es capaz de inducir apoptosis cuando el daño del DNA es irreparable, presentando una vía de acción alternativa para evitar la transmisión de errores genéticos y la producción de tumores (183, 184).

Debido a este rol de “guardián del genoma”, p53 es un importante mediador de la sensibilidad a la radioterapia y quimioterapia (185, 186), por lo tanto un probable factor predictivo de respuesta y supervivencia.

Las alteraciones de las funciones de p53 pueden ser debido a mutaciones, deleciones, o inserciones, produciendo un producto anormal con pérdida de su capacidad de suprimir (186). Un dato destacado es que la proteína p53 normal tiene una vida media de 20 minutos, por lo cual su detección por técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) reflejan la detección de la proteína anormal o mutada (181). Es muy importante además mencionar que algunas mutaciones de p53 pueden no ser detectadas por IHQ, o que por el contrario que el wild-type p53 estar asociado a una sobreexpresión, por lo cual algunos resultados cuando se utiliza este marcador como factor pronóstico, puede ser dispares. (187).

El método óptimo para detectar p53 todavía no ha sido estandarizado, por IHQ, que es el método mas empleado, podemos encontrarnos que la definición como positivo, los diferentes anticuerpos empleados, la interpretación de cada sitio y las diferentes técnicas de fijación de los tejidos, así como la recuperación del antígeno, pueden influenciar en la sensibilidad de este método (188, 189).

La secuenciación de este gen es probablemente el método mas importante para su evaluación, aunque un 33% de mutaciones de p53 pueden no detectarse por esta técnica (190).

Significado Pronóstico de p53:

Varios estudios han intentado establecer el significado pronóstico de p53. En una serie de ensayos de pacientes con TCC tratados en forma exclusiva con radioterapia, se observó una sobreexpresión de este gen entre el 37% al 76% de la población estudiada, y en los análisis multivariable se demostró su utilidad como marcador pronóstico solo en algunos de estos estudios (191, 192, 193), lo que viene a reflejar la diversidad que existe tanto en su determinación como en su verdadero valor.

En un ensayo que incluían mas de 100 enfermos con tumores de orofaringe y cavidad oral (192), p53 fue determinada por IHQ y se objetivo que su expresión estaba relacionada directamente con las posibilidades de fallo local, inclusive siendo como factor pronóstico mas importante que el estadio T.

Otro estudio donde se evaluó su expresión en una serie de 80 enfermos con TCC de diferentes localizaciones y diferentes estadios, no se pudo demostrar ningún valor pronóstico, argumentando la diversidad de la población estudiada (194).

En un reporte de Overgaard (191) sobre una serie de enfermos que participaron en varios estudios de radioterapia en TCC, se demostró en el análisis multivariable, que tanto el control loco-regional como la supervivencia libre de enfermedad estaban relacionadas con la sobreexpresión de p53 y el estadio, siendo ambos factores pronósticos independientes.

Con respecto a pacientes tratados con cirugía nos encontramos nuevamente con diferentes resultados. Por ejemplo en un estudio sobre carcinomas de laringe se

encontró que los enfermos que sobreexpresaban más de un 75% de p53, tenían una peor supervivencia libre de enfermedad (195). Esta observación fue corroborada en otros dos ensayos (196, 197) en pacientes con tumores avanzados de diferentes localizaciones, donde la expresión de este gen se correlacionó con un peor control local y supervivencia.

Un ensayo a destacar es el realizado por Koch y col (198), donde se correlacionó el genotipo de p53 y los resultados de cirugía y radioterapia en 100 enfermos con tumores avanzados. En esta publicación se ha reportado una relación adversa entre la mutación de p53 en exones 5-9 y el control loco-regional y supervivencia libre de enfermedad. Se pudo comprobar que los enfermos con mutaciones tenían más del doble de posibilidades de presentar recurrencias locales que aquellos sin estas mutaciones.

Podemos concluir sobre estos estudios comentados, que existe una correlación adversa entre la expresión de p53 y el control local y supervivencia libre de enfermedad en pacientes con TCC avanzados, sin embargo en pequeñas series hay que destacar que no se ha podido demostrar esta correlación. Para poder sacar conclusiones definitivas sería necesario determinar p53 por técnicas de IHQ y genotipo, y además determinar p21, para poder definir el papel que juega este gen supresor en tumores de cabeza y cuello.

Posteriormente describiremos su valor en pacientes que han sido tratados con quimioterapia.

Epidermal Growth Factor Receptor: *EGFR*

Esta es una glicoproteína de transmembrana de 170 Kd, cuyo gen está localizado en el brazo corto del cromosoma 7p12 (199). Es un miembro de los receptores de proteína de Tirosin-Kinase, la cual es una familia con varios ligandos extracelulares, que son factores de crecimiento, los cuales se incluyen entre los epidermal growth factor (EGF) y los TGF- α .

La unión con el dominio extracelular de EGFR causa la activación por fosforilización de un número de vías que comprometen a ras/raf-1/mitogen-activated protein kinase, la phosphatidylinositol-3-kinase y phospholipase C (200). La activación de esta cascada produce la transcripción de genes responsable de la coordinación en el crecimiento celular.

La sobreexpresión de EGFR en carcinomas de cabeza y cuello ha sido observada entre el 42%-100% de los tumores (201,202). El método idóneo para la determinación de este receptor tampoco ha sido claramente establecido, aunque las técnicas de IHQ y de radioinmunoanálisis han demostrado que su sobreexpresión se correlaciona con una mala evolución clínica (203, 204).

En un ensayo con 90 enfermos se demostró que la expresión de este receptor, era un factor pronóstico independiente para control loco-regional y supervivencia en una serie de enfermos tratados con cirugía y radioterapia (205).

Otro ensayo también demostró que la expresión de este receptor era un factor pronóstico independiente para control local y supervivencia en una serie de 109 enfermos con TCC avanzados, de diferentes localizaciones y estadios tratados

primariamente con quimioterapia, donde esta expresión del receptor fue el parámetro más importante (206).

Maurizi y col (203), también reportaron que la expresión de EGFR fue un factor pronóstico independiente de control local y supervivencia en 74 enfermos con carcinomas de laringe tratados con cirugía. A dos años la supervivencia libre de enfermedad para tumores con EGFR +/- fueron del 58% y 82% respectivamente.

En otra serie de pacientes con carcinomas de laringe tratados primariamente con radioterapia, se objetivo que los con incremento en la expresión de EGFR presentaban un porcentaje mayor de recaídas (202).

De estas publicaciones se deduce que EGFR es un factor pronóstico adverso para control local y recaídas en enfermos tratados con quimioterapia, cirugía , radioterapia, sin embargo no queda definido su papel en cuanto a la respuesta con los diferentes tratamientos y cual sería su verdadera utilidad en tumores de cabeza y cuello.

Posteriormente se realizará una descripción más detallada sobre esta glicoproteína, su relación con la quimioterapia y su probable futuro.

Cyclin D1:

Cyclin D1 es un miembro de la familia de las ciclinas, las cuales son proteínas que interactúan con cyclin-dependent kinases (cdks) , responsable de la regulación y transcripción en el ciclo celular (207). Cyclin D1 se une con cdks4 y este complejo promueve la progresión en el ciclo celular por fosforolización de la proteína de retinoblastoma, la cual es necesaria para la transición de fase G1/S. La anomalías en cyclin D1 pueden producir alteraciones genómicas tales como inversiones, translocaciones y amplificaciones. Esta última se ha correlacionado con sobreexpresión

de la proteína por técnicas de IHQ, sin embargo la sobreexpresión puede ocurrir en ausencia de amplificación a través de mecanismos desconocidos (208).

En tumores de cabeza y cuello la amplificación de cyclin D1 se ha observado entre el 26% al 40% de los casos (209), siendo hasta en el 60% de los enfermos con tumores de hipofaringe (210).

Varios estudios han sugerido que cyclin D1 puede ser un factor pronóstico independiente. En una publicación cyclin D1 fue evaluada por IHQ en 149 enfermos de carcinomas de laringe tratados con cirugía/radioterapia, demostrándose que la expresión se correlacionaba en forma adversa con la supervivencia libre de enfermedad (211), en forma independiente con respecto a T.

Otro estudio que incluía una población heterogénea de enfermos tratados con cirugía, demostró que la sobreexpresión era un factor pronóstico independiente y negativo para supervivencia libre de enfermedad (212), inclusive mas importante que el estadio T/N.

Podemos concluir que la sobreexpresión de cyclin D1 puede correlacionarse con un pronóstico adverso en tumores de cabeza y cuello, pero hasta la fecha no hay suficientes estudios que puedan avalar esta hipótesis , por lo cual se requiere un mayor número de ensayos homogéneos .

Implicaciones Terapéuticas

Aunque el verdadero valor de estos marcadores debe ser clarificado, algunos de ellos ya sirven como target para nuevas terapias experimentales. Por ejemplo considerando la frecuente alteración de p53 y la posible resistencia a la radioterapia y quimioterapia, terapia génica utilizando wild-type p53 ha sido evaluada (213). Inyecciones intratumorales de p53 transportado a través de un adenovirus ya han sido reportadas en

33 enfermos con tumores avanzados de cabeza y cuello. En esta publicación se observó que un paciente había logrado una remisión completa, después de una recaída loco-regional y estaba vivo a más de 30 meses, y dos pacientes habían logrado una remisión parcial.

El potencial radiosensibilizante de wild-type p53 también ha sido evaluado en modelos murinos, donde se ha comprobado una restauración de arresto del ciclo celular en fase G1/S y apoptosis en líneas celulares resistentes (214). Recientes datos también han reportado la erradicación de xenografts de tumores humanos con terapia intravenosa desarrollada a través de liposomas con p53 combinados con cisplatino o radioterapia local, lo cual permitirá un futuro desarrollo clínico (215).

Con respecto a estrategias contra el EGFR se han desarrollado anticuerpos monoclonales contra el EGFR e inhibidores de tyrosin kinase (216). Un anticuerpo quimérico que posteriormente comentaremos, denominado C225 ha sido utilizado en combinación con cisplatino, radioterapia e inclusive como agente único, con resultados prometedores (217, 218). En un ensayo donde C225 se combinó con radioterapia en pacientes con enfermedad avanzada, se observaron remisiones completas en 14 de 16 enfermos evaluables (218).

Conclusiones:

Hasta la fecha, los resultados de los marcadores moleculares requieren su evaluación en poblaciones más homogéneas y validar un método diagnóstico para su utilización estandarizada. Datos preliminares han demostrado la utilidad básicamente de p53 y EGFR como parámetros pronósticos y probables nuevos target para innovadoras terapias. Siempre que se estudien estos nuevos marcadores, y otros futuros, se deberán correlacionar con los factores clínicos validados hasta la fecha.

➤ **Relación de p53 y Epidermal Growth factor Receptor con Quimioterapia:**

Hasta ahora hemos revisado en forma global el valor de estos dos parámetros moleculares, para a continuación dar una información mas detallada de los mismos en lo que se refiere a su valor pronóstico con respecto a la quimioterapia, y como parámetros de supervivencia, fundamentalmente en pacientes con tumores de cabeza y cuello que reciben quimioterapia en base a paclitaxel.

p53: *su relación con Paclitaxel*

Hasta ahora hemos visto que el gen supresor p53 puede ser un parámetro pronóstico en pacientes con tumores de cabeza y cuello, pero por lo expuesto no queda claro realmente su utilidad clínica en cuanto a predecir resistencia o sensibilidad a la quimioterapia, y si de esta forma, al estar sobreexpresado, puede ayudar a la selección de un determinado tratamiento, lo cual quizá en un futuro sea la principal utilidad de los marcadores moleculares, independientemente de que puedan emplearse como futuros target terapéuticos.

Modelos experimentales con líneas celulares expuestas a taxol durante 1 hs, fueron evaluadas 72 hs mas tarde y se pudieron observar datos de interés con respecto a su mecanismo de acción (219): las células en ciclo celular fueron sensibilizadas a taxol durante G0-G1, sin embargo se vio que posteriormente un incremento de la acción

citotóxica, probablemente debido a una mayor apoptosis debido al bloqueo mitótico. Además se vieron lesiones celulares irreversibles en fase G2 después de una corta exposición a taxol, impidiendo la progresión en el ciclo celular. En esta observación se pudo demostrar que no se requirió p53 funcionando para inducir apoptosis, lo cual podría plantear la posibilidad que taxol induce la misma en forma independiente de p53. Otro estudio experimental realizado con líneas celulares expuestas a taxol demostró que estas presentaban un bloque de la mitosis e iniciación de la apoptosis con fragmentación del DNA(220). Posteriormente se examinó la progresión a través del ciclo celular en células con o sin p53 en presencia de paclitaxel, viéndose después de 24 hs un bloqueo en G2/M y apareciendo sub-G1, lo que indicaba apoptosis. Este hallazgo fue independiente del estado de p53 . Estos datos confirman la posible hipótesis que taxol induce apoptosis en G2/M en forma independiente de p53. Ahora también se demostró que cuando p53 está mutado se produce una amplificación de MDR-1, lo que confiere un mecanismo de resistencia a taxol, y lo que explica porque no responden todos los tumores con mutaciones de p53, donde taxol es capaz de hacer un by pass a esta mutación y su mecanismo de control en el ciclo celular para inducir apoptosis.

Otro trabajo interesante fue el realizado por Fan y col. (221) los cuales trabajaron con líneas celulares de linfomas, comparando supervivencia celular y apoptosis en células tratadas con irradiación, agentes alquilantes y taxol o vincristina, con p53 funcional y mutada. En este trabajo se pudo ver que el daño celular y apoptosis fue menos marcado en forma significativa en líneas celulares con p53 mutado cuando fueron tratadas con irradiaciones u otros agentes diferentes a taxol, y que este fue capaz de inducir apoptosis y detener el ciclo celular en forma independiente a p53. Estos autores comentan que sus hallazgos son semejantes a los reportados por NCI, los cuales trataron más de 60 líneas celulares con diferentes agentes quimioterápicos, entre los que

se incluían alquilantes, inhibidores de la topoisomerasa y taxol, demostrando también que el estado de p53 no era un factor de resistencia a taxol a diferencia de otros agentes (222).

Otro reporte destacado es el realizado por Safran y col (223), en el cual a enfermos con carcinoma no microcítico de pulmón tratados con radioterapia y taxol, se determinó la mutación de p53 en exón 5, confirmada por secuenciación. La mutación de p53 fue observada en el 40% de los enfermos, y no se observó diferencia de respuestas entre los pacientes con mutaciones o no de p53, concluyendo que este gen no predice respuesta a pacientes que reciben taxol, inclusive sugiriendo que la mutación de p53 en cáncer de pulmón podría permitir seleccionar a enfermos para que recibieran este fármaco como parte del tratamiento.

CONCLUSIONES:

- ❖ Datos en líneas celulares han demostrado que mutaciones de p53 no confieren resistencia ni inhiben la apoptosis cuando son tratadas taxol.
- ❖ Posiblemente taxol realiza un by pass al sitio de control del ciclo celular donde actúa p53.
- ❖ Taxol induce apoptosis a nivel de G2/M, actuando p53 en G1/S.
- ❖ En baterías de líneas celulares con mutaciones de p53, donde se probaron diferentes fármacos, se pudo observar que esta mutación confiere resistencia a la mayoría de las drogas ensayadas, pero no a paclitaxel.
- ❖ Datos comprobados en enfermos tratados con taxol, no han demostrado que la mutación en p53 confiera resistencia a este fármaco.
- ❖ Taxol puede ser un agente de elección cuando p53 esta mutada.

Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR Y TAXOL

Como se comentó previamente EGFR es un receptor crítico en la regulación de la proliferación celular, expresado en una gran variedad de tumores, siendo los más importantes los carcinoma escamosos de cabeza y cuello (224). Su expresión ha sido asociada con la progresión tumoral, inhibición de la apoptosis, angiogénesis e incremento de las posibilidades de metástasis, básicamente en tumores quimio y radioresistentes.

Hasta la fecha, los factores pronósticos más importantes en esta enfermedad para predecir recurrencia y supervivencia son la extensión de la enfermedad y el estadio nodal (176, 177), sin embargo EGFR tiene cada vez más implicación tanto del punto de vista diagnóstico (pronóstico) como terapéutica (224).

En un estudio publicado por Grandis y col. (225) se determinó la expresión de EGFR y su ligando (TGF- α) en 91 enfermos con tumores de cabeza y cuello tratados con cirugía. La determinación de estos marcadores se realizó por técnicas de IHQ, y se pudo comprobar que en el análisis multivariable, el sitio del tumor primario, los niveles de EGFR fueron factores significativos predictivos de supervivencia libre de enfermedad, y que el estadio nodal y los niveles de EGFR fueron predictivos de causas específicas de supervivencia, siendo esta una de las primeras publicaciones en demostrar la importancia de este marcador. Un dato destacado es que todos los pacientes expresaban EGFR, sin embargo solo en los pacientes con elevados niveles de este y de su ligando, presentaban una peor evolución. Hay que destacar también que en el modelo de Cox, el estadio del paciente fue tan importante como los niveles de estos marcadores, por lo cual, independientemente del valor pronóstico, habría que darle además un valor

terapéutico, ya que hoy en día es posible actuar sobre EGFR a través de anticuerpos específicos que posteriormente comentaremos.

Otros estudios de hace más de 4 años también han demostrado el valor pronóstico de pacientes con niveles elevados de EGFR, como parámetro negativo en supervivencia (226,227), pero siempre en enfermos tratados con cirugía, siendo tan importante en estas publicaciones, su valor predictivo igual que el estadio clínico, sin estar hasta la fecha demostrada su utilidad como parámetro que pueda predecir resistencia a quimioterapia.

Queda claro que EGFR es un marcador molecular expresado en la mayoría de los tumores de cabeza y cuello, y que su sobreexpresión a niveles elevados es un parámetro negativo para recurrencia y supervivencia, hasta ahora tan importante como la extensión clínica, quedando por definir si es un factor de sensibilidad o resistencia a la quimioterapia.

Con respecto a la relación entre EGFR y quimioterapia daremos algunos datos interesantes, aunque todos ellos preclínicos. Por ejemplo en un trabajo publicado por Chen y col. (228) intentaron ver la relación entre Cisplatino y líneas celulares de TCC, utilizando métodos de PCR para cuantificar el factor epidérmico. Estas líneas celulares fueron HPV positivas y negativas, y compararon la inhibición del crecimiento en ambos casos y la IC₅₀ de platino entre estas células. Pudieron observar que los niveles de EGFR fueron reducidos después de la exposición a cisplatino, sugiriendo que las células tumorales con expresión de EGFR podrían ser más sensibles a la exposición de este fármaco.

Otra observación interesante es la reportada por Kroning y col (229), quienes demostraron inicialmente un incremento de la sensibilidad a cisplatino en líneas celulares de carcinoma de ovario que presentaban una expresión de EGF, y también

reportaron que este incremento de la sensibilidad se daba con otras líneas celulares que incluían carcinomas de pulmón, mama y cabeza y cuello, demostrando que el incremento de la sensibilidad no solo era a cisplatino, si no también a carboplatino, fluoruracilo y taxol.

Kottke y col (230) intentaron demostrar la relación entre apoptosis, taxol, fluorpirimidinas, EGF en líneas celulares de carcinoma de mama tratadas con estos agentes. Se realizó un examen mediante microscopía, citometría de flujo, inmunoblotting, análisis enzimático, posterior al tratamiento con EGF, taxol y FU. Pudieron demostrar que la apoptosis inducida por los tres agentes activaba la vía de las Caspasas, objetivando que la activación de la muerte celular era mas acentuada en la células expuestas a taxol, y que había una relación directa entre éste fármaco y la capacidad de inducir apoptosis cuando estaban las células expuestas a EGF.

Como vemos de estos datos experimentales, aparentemente las células que expresan EGFR podrían mostrar una mayor sensibilidad a determinados agentes quimioterápicos, como podrían ser platinos y taxol.

Conclusiones:

- ❖ El Factor de Crecimiento Epidérmico se expresa entre el 70%-100% de los TCC.
- ❖ Hay datos que indican que EGFR es un factor pronóstico tan importante como la extensión clínica de la enfermedad. A mayor expresión peor supervivencia libre de enfermedad y mas probabilidad de recurrencia.
- ❖ Posiblemente los tumores con alta expresión de EGFR sean mas sensibles a platinos y taxol.
- ❖ Probablemente la determinación de EGFR permita seleccionar el tipo mas apropiado de tratamiento.

HIPÓTESIS

- ✓ La evolución clínica de los tumores de cabeza y cuello no ha variado en los últimos 20 años a pesar de las terapias combinadas.
- ✓ Los factores pronósticos clínicos siguen siendo los mas importantes, sin embargo las implicaciones en la terapéutica no se han modificado sustancialmente a pesar de este conocimiento.
- ✓ La quimioterapia con esquemas convencionales han llegado a su límite, con pocos cambios en la historia natural de la enfermedad.
- ✓ Nuevos esquemas podrían ofrecer mas porcentajes de respuestas, y esto incidir el la supervivencia.
- ✓ La determinación de p53 y EGFR en pacientes tratados con quimioterapia en base a taxol, podría definir nuevos factores pronósticos de respuesta a este esquema de quimioterapia.
- ✓ Si los pacientes tratados con quimioterapia con taxol en combinación, presentan remisiones en forma independiente a la expresión de p53 y EGFR , estos esquemas podrían representar una alternativa a la quimioterapia convencional.
- ✓ La sobreexpresión de EGFR podría ser uno de los factores pronósticos mas importante para supervivencia libre de enfermedad , lo cual podría tener implicaciones terapéuticas mediante el tratamiento de quimioterapia con taxol y anti-factor epidérmico.

OBJETIVOS:

- DETERMINAR LA EXPRESIÓN DE p53 Y EGFR EN PACIENTES TRATADOS CON UN ESQUEMA NUEVO DE QUIMIOTERAPIA EN BASE A TAXOL.

- CORRELACIONAR RESPUESTA, SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD Y SUPERVIVENCIA GLOBAL EN PACIENTES CON TUMORES AVANZADOS DE CABEZA Y CUELLO, TRATADOS CON UN NUEVO ESQUEMA DE QUIMIOTERAPIA, A LOS CUALES SE LES HA DETERMINADO LA EXPRESIÓN DE p53 Y EGFR, RELACIONANDO ESTOS CON LOS FACTORES CLÁSICOS CONOCIDOS.

- INTENTAR DEFINIR NUEVOS PARÁMETROS DE RESPUESTA Y SUPERVIVENCIA.

- INTENTAR PROPONER NUEVOS ENFOQUES DE TRATAMIENTO EN PACIENTES CON TUMORES AVANZADOS DE CABEZA Y CUELLO.

Pacientes y Métodos:

Se incluyeron pacientes con tumores avanzados de cabeza y cuello con biopsia inicial de carcinoma escamoso, excluyendo tumores de cavum y senos maxilares o etmoidales.

Todos los enfermos tenían enfermedad medible bidimensionalmente , y estadios III/IV, excluyendo aquellos con enfermedad metastásica de inicio. Además debían tener ECOG <2 y expectativa de vida mayor a 3 meses. La analítica basal incluía neutrófilos > 2000/L, plaquetas > 100.000/L, hemoglobina > 10g/L, adecuada función hepática y renal, y ausencia de neuropatía periférica < grado 2 al inicio. Todos los enfermos con arritmias activas, infarto de miocardio reciente (< 6 meses), hipersensibilidad a chremophor u otras enfermedades concomitantes severas, fueron excluidos, al igual que aquellos con diagnóstico previo de otras neoplasias, excluidas los carcinomas basaloides de piel o carcinomas in situ. Todos los enfermos firmaron consentimiento escrito previo a la inclusión y se contaba con muestras del tumor en parafina para su posterior análisis.

Evaluación basal antes de la quimioterapia:

Todos los enfermos incluidos en este estudio fueron evaluados previo al tratamiento por un equipo multidisciplinario que incluía a especialista en Otorrinolaringología, Oncólogo médico, Radioterapeuta, y Neurorradiólogo, donde el estadio clínico y radiológico era uniforme y de consenso para todos los enfermos. En caso de dudas o discrepancias entre la estadificación clínica y radiológica, el T-N era finalmente radiológico, ya que este método es el reproducible y con el que posteriormente se realizó la revisión externa, sin estar sujeto a la apreciación subjetiva del observador, la cual podría ser diferente de acuerdo a quien la realizara.

Veinte días previo al estudio todos los enfermos aportaban un TAC helicoidal de la región de cabeza y cuello, Rx de tórax, analítica completa, la cual se repetía el día de inicio de la quimioterapia, examen físico, valoración de ECOG y estado nutricional, en el momento de la inclusión y del inicio de la quimioterapia, ECG y serología para descartar hepatitis activa o HIV.

El estadio clínico fue realizado de acuerdo a los criterios de AJCC y la enfermedad Irresecable fue definida de acuerdo a los siguientes parámetros : Tumor de hipofaringe con extensión mas allá de la línea media de pared posterior, o que esta fijo a columna cervical, Tumor de laringe con invasión de músculo o piel o con mas de 3 cm de extensión subglótica, Tumor de cavidad oral que por su extensión impediría una cirugía de reconstrucción, Tumor de lengua con invasión de mandíbula o que requiera una glosectomía total ,Tumor de amígdala con invasión de región pterigoidea, o con extensión mas allá de la línea media de pared faríngea o que invada tejidos blandos de cuello, Adenopatías cervicales con fijación a carótida, mastoide, base de cráneo , o columna cervical.

El esquema de quimioterapia de investigación consistió en (PPF) : Paclitaxel 175 mg/m² en infusión de 3hs día 1, Platino 100 mg/m² en 1 hs día 2, 5FU 500 mg/m² en infusión continua de 120 hs días 2-6. Estos ciclos se administraron cada 3 semanas por un máximo de 3 ciclos, en hospital de día, dejando los ingresos en plante de los enfermos para complicaciones del tratamiento o toxicidad.

Para iniciar un nuevo ciclo de quimioterapia se requirió el día 22 de tratamiento: neutrófilos > 1500/L, plaquetas >100.000/L, aclaración de creatinina > 50 ml/min, y recuperación de todas las toxicidades no hematológicas, salvo alopecia y toxicidad

neuro-muscular < grado 2. Si se producía un retraso mas allá de 35 días, los pacientes eran removidos del estudio. Las dosis de los tres fármacos eran reducida un 25% en caso de neutropenia febril, neutropenia g4 de mas de 5 días o trombopenia g4. La dosis de 5FU se redujo un 25% en caso de mucositis o diarrea g4 y la dosis de paclitaxel fue reducida en un 25% en caso de neuropatía >g2. El tratamiento con PPF fue suspendido en caso de progresión, no respuesta después de 2 ciclos, toxicidad inaceptable o rechazo del paciente.

Los pacientes fueron monitorizados semanalmente para evaluación de toxicidad mediante examen físico, hematimetría y valoración de efectos tóxicos mediante escala del National Cancer Institute (NCI). Al finalizar la quimioterapia de inducción cada enfermos fue valorado nuevamente por el comité de tumores de cabeza y cuello, mediante exploración física, endoscópica y radiológica con un nuevo TAC helicoidal, el cual fue comparado con el basal, y mediante estas pruebas se asigno la respuesta tanto del Tumor primario como el estadio Nodal. Las respuestas fueron categorizadas de acuerdo a los criterios WHO, y en todos los casos donde fue posible, se realizó confirmación patológica de la respuesta, mediante biopsia. Se dieron las remisiones del T y N por separado y en forma global, siendo esta siempre la peor respuesta (por ej: RC del T y RP del N, global : RP).

Tratamiento Loco-Regional:

El tratamiento loco-regional posterior a la quimioterapia de inducción también fue decidido en comité multidisciplinario , estando previamente estandarizado en el protocolo.

La cirugía , en lo posible funcional, tanto del cuello como del tumor primario, fue aplicada a aquellos enfermos que no lograron una remisión completa o casi completa, siempre y cuando fuera la enfermedad resecable después del tratamiento inicial. La disección de adenopatías cervicales se realizó antes de la radioterapia, en enfermos que de inicio eran N 2/3, independientemente de la respuesta conseguida con la quimioterapia. Para enfermos con remisión completa del T y no remisión completa del N , se realizó cirugía de cuello a las 4 semanas de el último ciclo de quimioterapia, pasando posteriormente a quimio-radioterapia, no mas allá de 7 semanas del último ciclo de inducción.

Para enfermos con remisión completa del T, o remisión parcial mayor del 80%, el tratamiento radical consistió en quimio-radioterapia de región primaria y cadenas. A estos pacientes, siempre que fue posible, y antes de iniciar la radioterapia, se realizó biopsia de la región primaria, comenzando QTRT entre las 4-6 semanas de iniciado en último ciclo de inducción, siempre y cuando no se realizara cirugía de cuello tal como se comentó previamente.

El tratamiento con radioterapia se realizó con Cobalto, a dosis diarias de 1.8-2.0 Gy por fracción, tratando el tumor primario y región ganglionar con 65-70 Gy en enfermedad no resecada y hasta 60 Gy en enfermedad resecada. La quimioterapia sensibilizante consistió en taxol 25 mg/m² semanales en infusión de 1 hora, comenzando el día 1° de la radioterapia. Antes de cada dosis de quimioterapia, los enfermos eran visitados en consulta de oncología, realizándose una hematimetría completa, evaluación de estado general y nutricional y evaluación de toxicidad con criterios del NCI. La quimioterapia semanal fue retrasada o suspendida en caso de deterioro del estado general, mucositis g3/4, toxicidad cutánea o neurológica g3. Los enfermos con mucositis g3/4, o pérdida de peso mayor a un 10% del peso basal, eran

ingresados para soporte nutricional intravenoso. La radioterapia solo fue suspendida en caso de mucositis o epitelitis g4, reanudándose una vez superada esta toxicidad. La quimioterapia semanal se reanudó cuando las toxicidades cutáneas, mucosas o neurológicas eran < g3.

Análisis Moleculares

Un mismo patólogo realizó revisión de todos los bloques de parafina de las biopsias basales de los enfermos incluidos en el estudio. Los casos donde habían muestras tumorales suficientes fueron seleccionadas para posterior análisis molecular con técnicas de IHQ. En los casos donde no había material suficiente, o tenía mucha necrosis, fueron descartados para el posterior estudio. Las técnicas de IHQ y su posterior lectura e interpretación fue realizada por el mismo patólogo (Dr. Ballestín), lo cual daba una mayor fidelidad a la interpretación de los mismos.

Determinación de p53: se revisaron todas las biopsias al diagnóstico de los enfermos incluidos en el estudio. Como se comentó se seleccionaron solo aquellas con material suficiente y sin un componente importante de necrosis. Se procedió posteriormente a realizar cortes de 4-5mm sobre el bloque de parafina fijados previamente en formol. Posteriormente se realizó una desparafinización y técnicas de IHQ empleando anticuerpos monoclonales anti-p53 (clon DO-7, Dako), el cual reconoce tanto la forma nativa como la mutante de p53, a una dilución de 1:100. La tinción se realizó según la técnica de avidina-biotina peroxidasa (Tech Mate 500, Dako Corp, Dinamarca).

La tinción se consideró positiva si se observaba una clara coloración marrón de los núcleos de las células tumorales. Se seleccionó un mínimo de 200 células de la zona

mas teñida en cada cristal. L expresión de p53 se midió en porcentajes de células teñidas. El recuento de células teñidas fue realizado por 2 patólogos de forma independiente, desconociendo ambos los parámetros clínicos de los pacientes..

Para definir el valor predictivo y pronóstico de p53, se consideraron diversos puntos de corte en el porcentaje de las células teñidas. Finalmente , se consideró p53+ o expresión positiva de la proteína en aquellos casos en que se tiñeron al menos el 50% de las células tumorales.

La obtención del punto de corte se llevó a cabo realizando asociaciones con los parámetros a estudiar, considerando sucesivamente puntos de corte crecientes: 10%, 20%, 30%, hasta llegar al 50%, punto a partir del cual se observó un descenso importante de la asociación con las principales variables del estudio.

Determinación de EGFR: en este caso se realizó la misma técnica descrita para p53 en lo que se refiere al tratamiento del bloque de parafina, fijación, desparafinización, con posterior tinción con anticuerpo monoclonal anti-EGFR de Dako (H11).

En este caso se siguió para su clasificación un procedimiento estandarizado, sin tener en cuenta los puntos de cortes realizado con p53, ya que en el caso de EGFR, la metodología esta mas estandarizada.

Se consideró como positivo +: 10%-30% de células teñidas

++: 30%-60% de células teñidas

+++: > 60% de células teñidas.

Cabe destacar que la metodología de cuantificación de EGFR se acepta en fentomoles o cruces en base al porcentaje esta última , de tinción, relacionado con la positividad de las células tumorales, adoptando nosotros esta última.

Evaluación del grado histológico: este parámetro fue evaluado por el mismo patólogo siguiendo los criterios de WHO: grado 1 o bien diferenciado, grado 2 o moderadamente diferenciado y grado 3 o pobremente diferenciado.

El grado dependía de la formación de perlas córneas, del grado de keratinización y del parecido con el epitelio normal.

Seguimiento.

Una vez completado todo el programa de tratamiento, los pacientes fueron seguidos cada 3 meses el primer año, y posteriormente cada 6 meses. En cada visita se realizó examen físico, exploración ORL, analítica, evaluación de toxicidad tardía de todos los procedimientos empleados, rx de tórax una vez al año, TAC de cabeza y cuello dos veces al año los dos primeros años y posteriormente una vez al año. Los pacientes eran evaluados por el comité de tumores.

Métodos Estadísticos:

Nivel de significación: el nivel considerado estadísticamente significativo fue $P \leq 0.05$.

Análisis de Supervivencia: Las curvas de supervivencia para el estudio de posibles factores pronósticos fueron realizadas mediante el método de Kaplan-Meier, expresando los resultados bajo la forma de mediana e intervalos de confianza al 95%.

Se definieron los siguientes eventos:

Supervivencia libre de enfermedad: tiempo que media entre el último día de tratamiento (tras RC) y la fecha de recaída o último seguimiento.

Supervivencia global: tiempo que media entre la fecha de diagnóstico y muerte o último seguimiento.

Comparación de curvas de supervivencia: hemos utilizado la prueba de log-rank que es un método diseñado para detectar diferencias entre curvas cuya mortalidad en un grupo fuera consistentemente mayor que la correspondiente al segundo grupo, siendo la relación entre las mortalidades constantes en el tiempo. La información que suministra es el resultado de la comparación entre dos o más curvas, considerando cada una de ellas en toda su extensión. Es el método más sensible de los desarrollados, ya que detecta cualquier diferencia entre la distribución de supervivencia por pequeña que esta sea (231).

Prueba de Mantle Cox: desarrollada para detectar diferencias tardías entre varias curvas de supervivencia (232).

Correlación entre variables: la significación de las relaciones entre variables cualitativas se calcula por la prueba de chi-cuadrado, o bien la prueba exacta de Fisher para tabla de 2x2 (233).

Determinación de factores pronósticos: existen una variedad de técnicas estadísticas que analizan la influencia de una serie de variables sobre la probabilidad de supervivencia. Estas variables a menudo llamadas factores pronósticos representan diferencias entre los pacientes en estudio (edad, estadio, etc). En ocasiones son un juego de más de una variable las indicadoras de la heterogeneidad de la muestra. Los factores pronósticos también pueden describir cambios en el estado pronóstico de un

paciente como una función de tiempo. La técnica mas utilizada es el modelo de riesgo proporcional de Cox (234). Uno de los objetivos de este modelo consiste en cuantificar la relación entre supervivencia y las variables explicativas, para relacionar el efecto de cada covariable con la función de supervivencia..

Para estimar los coeficientes de regresión y el orden de importancia en las variables se ha empleado un procedimiento de paso a paso”, de forma que las variables independientes van entrando en la ecuación de regresión de una en una hasta que esta es satisfactoria . El orden de inserción se determinó mediante el método de máxima verosimilitud (log-likelihood) en los factores pronósticos, que cuantifica la importancia de cada variable todavía no introducida en el modelo o ecuación de regresión.

Por este procedimiento , la primera variable seleccionada es la mas importante en predecir supervivencia, la segunda es la segunda mas importante, y así sucesivamente . De esta forma el proceso suministra una selección y ordenamiento sucesivos de las variables independientes según su importancia relativa.

Programa para el análisis: los datos fueron almacenados en base de datos ACCESS (Microsoft) , y procesados mediante los paquetes estadísticos SPSS y SAS para Windows.

Bibliografía: esta fue obtenida a partir de la base de datos de Medline, y su ordenación se ha efectuado siguiendo las directrices de la cuarta. edición de la Norma de Vancouver (235).

➤ **RESULTADOS**

Pasaremos a describir primero los resultados obtenidos con la quimioterapia de inducción en base a nuestro esquema PPF. Esta descripción no será muy extensa ya que es motivo de una publicación, y además no es estrictamente el objetivo de esta tesis.

Población de Pacientes:

Entre marzo de 1996 y noviembre 1998, se incluyeron en el ensayo PPF 70 pacientes con tumores avanzados de cabeza y cuello. Todos los enfermos fueron evaluables para toxicidad y supervivencia. Para el posterior análisis de factores moleculares fueron seleccionados 46 enfermos.

Las características de todos los enfermos incluidos en el ensayo fase II se detalla en la tabla 4ª y 4b

Tabla 4a. Características de los enfermos PPF

Características		N	% de total
edad (años):	Median	61	
	Range	37-75	
sexo	Varones	69	99
	Mujeres	1	1
PS (ECOG scale)	0	21	30
	1	35	50
	2	14	20
Sitio primario tumor	Cavidad oral	5	7
	Orofaringe	23	33
	Hipofaringe	17	24
	Laringe	22	31
	1° desconocido	3	4
Resecabilidad	Resecable	28	40
	Irresecable	42	60

PS: performance status; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.

Tabla 4b. TNM staging by American Joint Committee on Cancer criteria.

Stage	Tx	T1	T2	T3	T4	Total
N0	0	0	0	5	9	14
N1	0	0	1	3	12	16
N2	0	0	0	14	13	27
N3	3	1	2	1	6	13
Total	3	1	3	23	40	70

Desarrollo de Tratamiento y Toxicidad

Se administraron un total de 201 ciclos de PPF, con una mediana de 2.87 ciclos por enfermos. Un 90% de los enfermos recibieron los tres ciclos planificados, un 7% recibieron 2 ciclos y un 3% solo un ciclo. Las razones por las cuales se discontinuó la quimioterapia fueron toxicidad en 5 pacientes, y no respuesta o progresión en 2 enfermos. Globalmente la intensidad de dosis relativa administrada fue del 95.5% de la planificada (paclitaxel: 96%, cisplatino: 96%, 5FU: 94.5%).

La toxicidad pudo ser evaluada en los 70 pacientes y sus resultados se demuestran en la tabla 5. Destaca que la mielosupresión severa fue poco frecuente, y que la toxicidad no hematológica mas frecuentes fueron mucositis, diarrea, alopecia, neuropatía periférica y mialgias. Se registraron 3 muertes tóxicas (4%) relacionadas con el tratamiento. Las complicaciones mas frecuentes que requirieron ingresos hospitalarios fueron: neutropenia febril (1 pts), trombosis asociada a catéter (4 pts), arritmias (2pts), mucositis (1 pts) e infección respiratoria (1 pts).

Tabla 5. Toxicidad

Toxicidad	Pacientes con NCI-CTC toxicidad; N (% de total)			
	Grade 1-2	Grade 3-4	Grade 1-2	Grade 3-4
Anemia	6 (43)	0 (0)	17 (30)	1 (2)
Neutropenia	5 (36)	7 (50)	21 (38)	16 (29)
Trombopenia	2 (14)	0 (0)	7 (13)	2 (4)
Alopecia	14 (100)	0 (0)	56 (100)	0 (0)
Anorexia	4 (29)	0 (0)	12 (21)	2 (4)
Astenia	1 (7)	1 (7)	21 (38)	3 (5)
Cardiac	1 (7)	0 (0)	2 (4)	1 (2)
Diarrea	7 (50)	0 (0)	21 (38)	4 (7)
higado	0 (0)	0 (0)	2 (4)	1 (2)
Mucositis	6 (43)	0 (0)	23 (41)	3 (5)
Mialgias	12 (86)	0 (0)	21 (38)	3 (5)
Nausea/Vomitos	7 (50)	0 (0)	29 (52)	0 (0)
Neuropatia	10 (71)	1 (7)	32 (57)	3 (5)
Renal	0 (0)	0 (0)	2 (4)	0 (0)

NCI-CTC: National Cancer Institute Common Toxicity Criteria

Respuesta a la Quimioterapia

De los setenta enfermos incluidos, 69 de ellos fueron evaluables para respuesta (tabla 6). Un paciente murió después del 1° ciclo de quimioterapia debido a neutropenia febril y mucositis, por lo cual no pudo ser evaluado para respuesta.

En global, 41 pacientes (59%) lograron una remisión completa (RC), 20 (29%) obtuvieron una remisión parcial (RP), lo cual da un porcentaje de respuesta global a PPF del 88% (IC 62-97%). Biopsias del tumor primario fueron realizadas en 23 de 41 enfermos con RC, de los cuales 21 (91%) mostraron una RC patológica y 2 tenían residuos microscópicos de tumor. También se objetivaron 3 remisiones completas patológicas en 7 enfermos con RP clínica. Los fallos en respuesta a PPF fueron observados en 8 enfermos (12%; 95% IC, 4-19%). De estos, 6 presentaron no cambios (NC), y dos enfermos con carcinomas primario de laringe presentaron progresión (PD), con nódulos subcutáneos a distancia y progresión regional cervical respectivamente. Cuando las respuestas fueron evaluadas de acuerdo al sitio de enfermedad , RC fueron documentadas en 49 de 66 enfermos (74%) en el tumor primario, y RP en 10 (15%). En lo que respecta a la evaluación de Cuello, se objetivaron RC en 34 de 55 pacientes (62%) y RP en 12 (22%).

Como datos a destacar se objetivó que las remisiones completas se obtuvieron en 9/9 enfermos con estadio tumoral III (100%) , y en 32/60 pacientes (53%) en estadios IV (p=0.001). Los pacientes con estadios nodales avanzados (N2-N3; 39 pacientes) lograron una RC menos frecuentemente (46%) que aquellos con estadios nodales mas precoces (N0-N1; 30 pacientes) (77%; p=0.01).

Los enfermos con PS 0 o 1 (56 ptes) presentaron mayor remisión completa que los enfermos con PS 2 (13 ptes) (66% vs 31%; p=0.003). No identificamos otros factores incluyendo el sitio primario, T, N, pérdida de peso o reseabilidad, como predictivos de respuestas en el análisis univariable. En el análisis multivariable, se demostró que PS 0 o 1, fue el único factor asociado con mayor porcentaje de remisión completa (OR de PS 0-1 vs PS 2 fue de 4.2; p=0.02).

Tabla 6. Respuestas a la quimioterapia con PPF

Sitio de enfermedad	RC		RP		RC+RP	
	N	% (95% CI)	N	% (95% CI)	N	% (95% CI)
Tumor primario (N = 66)	49	74 (64-85)	10	15 (2-28)	59	89 (73-99)
Nodal (N = 55)	34	62 (49-75)	12	22 (5-39)	46	84 (59-92)
Global (N = 69)	41	59 (48-72)	20	29 (12-45)	61	88 (62-97)

RC: remisión completa; RP: remisión parcial; 95% IC: 95% intervalo confianza.

Tratamiento Loco-Regional

Un total de 48 enfermos con RC del tumor primario, y 3 pacientes sin primario a la presentación (Tx N3), fueron tratados con quimio-radioterapia (n=39) o radioterapia sola (n=12). A once de estos 51 enfermos, posterior a la quimioterapia de inducción se le realizó disección ganglionar cervical antes de la radioterapia, debido a enfermedad voluminosa en el cuello a la presentación. Cinco de 10 pacientes que lograron RP en el tumor primario, fueron tratados con cirugía con posterior radioterapia, 4 recibieron quimio-radioterapia, y un paciente con RP murió durante el tratamiento de inducción. Los 5 enfermos tratados con cirugía, fueron sometidos a disección ganglionar y 3 de ellos a cirugía en el tumor primario (laringectomía radical en 2, laringectomía parcial con faringectomía en uno).

Entre los enfermos con no cambios (NC) a la quimioterapia, 3 pacientes fueron tratados con cirugía (1 laringectomía total, 1 glosectomía total, 1 faringectomía total), y 2 enfermos con tumores no resecables fueron tratados con radioterapia. Los enfermos con PD (2), uno desarrollo enfermedad a distancia y fue tratado con quimioterapia, y el otro con masiva progresión cervical fue tratado con radioterapia paliativa.

Globalmente 65 pacientes fueron tratados con radioterapia, ya sea siguiendo al tratamiento con cirugía del tumor y disección ganglionar (6 ptes), disección ganglionar sola (13 ptes), o como único tratamiento radical (46 ptes). Cuarenta y tres de estos enfermos recibieron taxol semanal concomitante durante la radioterapia. La duración media de la quimio-radioterapia fue de 8 semanas (rango 5-13 semanas), y la mediana de ciclos de paclitaxel administrados fueron de 5 (rango 1-8). Las causas mas frecuentes para las interrupciones de paclitaxel fueron mucositis y toxicidad cutánea severa. Un 43% de los enfermos requirió nutrición parenteral debido a mucositis severa y dos

enfermos requirieron transfusiones de hematíes. Un total de 22 enfermos recibieron radioterapia sin taxol debido a: neuropatía residual > g2 posterior al PPF (6 ptes), mal PS o comorbilidad (6 ptes), rechazo del enfermo (5 ptes), o no respuesta a PPF (5 ptes). La mediana de duración de la radioterapia sin quimioterapia fue de 7 semanas (rango 5-10 semanas). En general estos enfermos presentaron menos toxicidad mucosa y en piel que los enfermos tratados con quimio-radioterapia, y solo un 18% requirió soporte nutricional.

Al finalizar todo el programa de tratamiento, 60 de 70 pacientes (86%) estuvieron vivos sin enfermedad. De los restantes 10 enfermos, 9 presentaban tumor residual ,en cuello (8 ptes), en el tumor primario (7 ptes), y uno desarrollo enfermedad a distancia, con un enfermo no evaluado.

La preservación de órgano se logró en 23 de 28 enfermos (82%) con enfermedad resecable al inicio, que eran candidatos a cirugía radical.

Resultados de Seguimiento

A febrero del 2002 , con una mediana de seguimiento de 52 meses (rango: 40-64 meses), 41 de 70 pacientes (59%) no han progresado, y 29 pacientes (41%) desarrollaron progresión, de los cuales 20 pacientes han presentado recurrencia de la enfermedad después de haber estado libre de la misma. El tiempo a la progresión de tratamiento (TTP) estimado a 5 años fue del 56% (fig 1). Los sitios de progresión de la enfermedad fueron: tumor primario en 11 casos, adenopatías cervicales en 4 casos, enfermedad loco-regional en 7 casos, enfermedad a distancia en 3, y enfermedad ganglionar y a distancia en 4 casos. A la fecha 28 de 29 enfermos con recaída han muerto.

Dos enfermos estando libre de tumor después del tratamiento local ,desarrollaron neumonía a los 9 y 11 meses después de finalizada la inducción, y murieron a consecuencia de la misma. Otro enfermos sufrió un infarto de miocardio. Finalmente 6 pacientes que estaban en remisión de su tumor de cabeza y cuello, desarrollaron 7 tipos diferentes de segundo tumores entre 13 a 39 meses posteriores al diagnóstico inicial (3 carcinomas no microcítico de pulmón, 1 carcinoma microcítico de pulmón, 1 cáncer de esófago, 1 cáncer de vejiga y un melanoma) .

En el último seguimiento, 30 pacientes están vivos sin enfermedad y uno con enfermedad. Treinta enfermos han muerto con TCC (28 con progresión, 2 por sepsis, y uno durante la inducción con PPF), y 9 han muerto sin tumor de cabeza y cuello (5 por segundos tumores, 2 por neumonía, 1 por infarto de miocardio, y 1 por embolismo pulmonar durante la inducción). La supervivencia específica de enfermedad y la global a 5 años fueron del 58% y 44% respectivamente (fig 2).

En lo que respecta a la calidad de vida de los 31 enfermos que sobrevivieron fue en general buena. Todos están con PS 0-1 y con alimentación por vía fisiológica, 5 presentan xerostomía severa y 21 moderada, 11 presentan una neuropatía periférica residual grado 1 y tres grado 2.

En el análisis univariable los indicadores de mayor TTP fueron asociados a PS 0-1 ($p=0.001$), tumores originados en laringe/hipofaringe ($p=0.01$), estadios III ($p=0.02$), y RC posterior a PPF ($p=0.0001$). En el análisis multivariable, solo el sitio primario de enfermedad fue una variable independiente como factor predictivo a favor de mayor TTP (odds ratio:11.19; $p=0.001$). Cuando la respuesta fue introducida en el modelo, RC emergió como un parámetro independiente a favor (OR: 1.30; $p=0.01$).

Los factores pronósticos para supervivencia en el análisis univariable fueron la localización del tumor primario ($p=0.02$), estadio N ($p=0.01$), estadio global ($p=0.03$),

PS ($p=0.0001$), resecabilidad del tumor ($p=0.01$), y respuesta a la quimioterapia ($p=0.03$). En el análisis multivariable para supervivencia, indica que los enfermos con tumores resecable (OR:3.40; $p=0.003$), y aquellos con N0-N1 al diagnóstico (OR:2.15; $p=0.053$), presentaron una mayor probabilidad de supervivencia. Cuando la respuesta a la quimioterapia fue introducida en el modelo RC, también fue un factor pronóstico independiente para supervivencia global (OR:1.16; $p=0.001$) .

Leyendas de las Figuras

Fig. 1 Kaplan-Meier plot of progression-free survival (TTP).

Fig. 2 Kaplan-Meier plot of overall survival (OS).

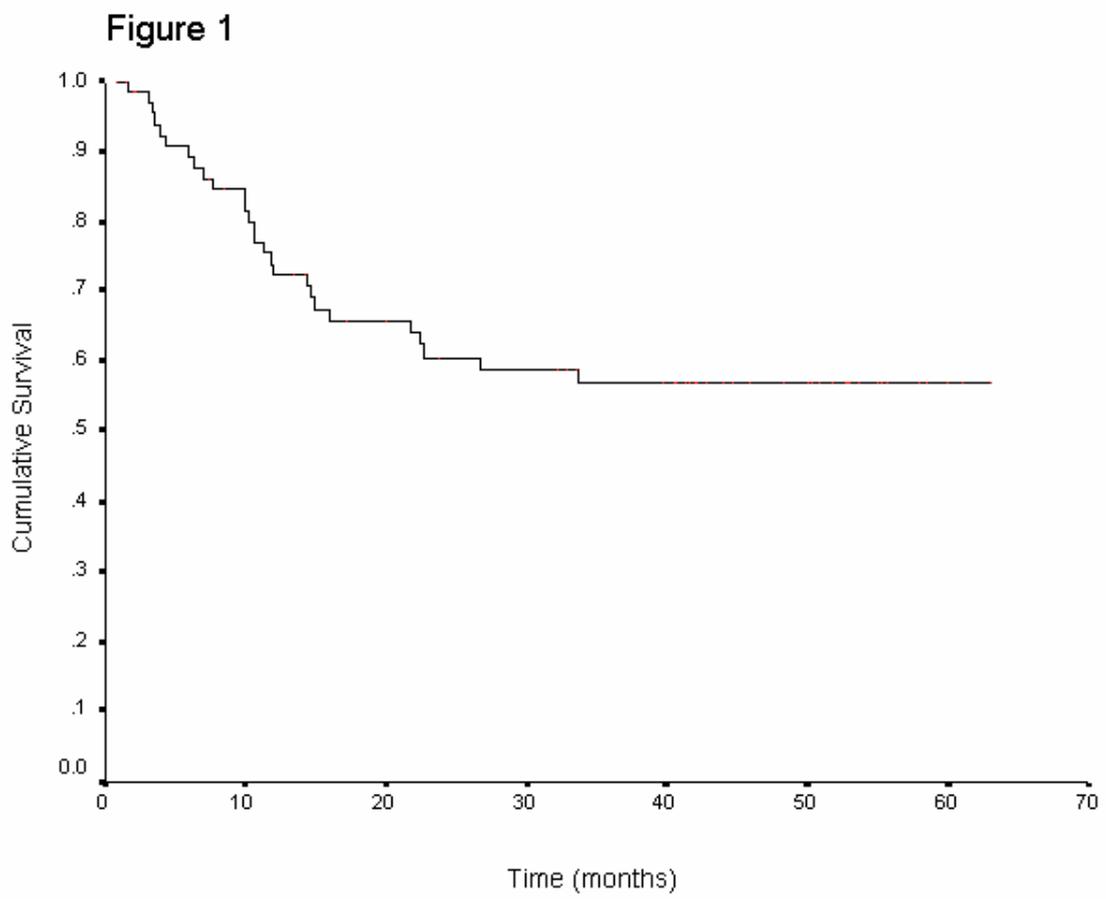
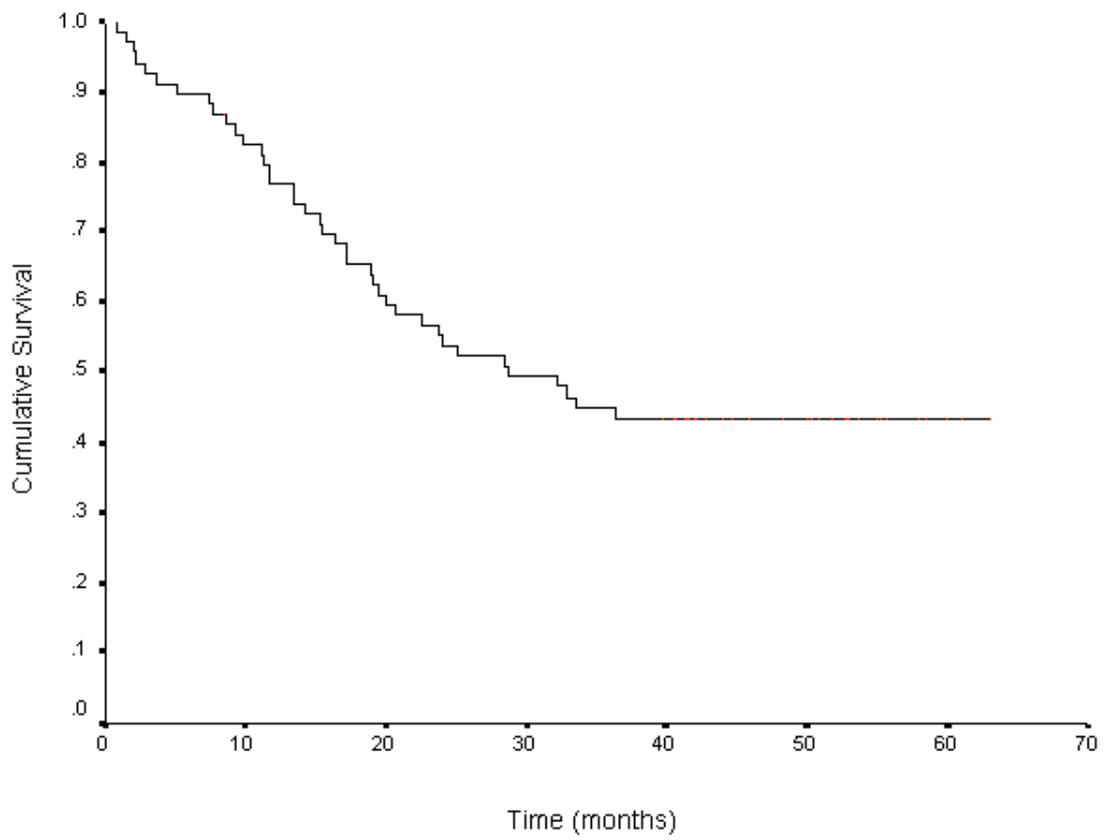


Figure 2



➤ Resultados Moleculares

Como se comentó anteriormente, las determinaciones de p53/EGFR se realizaron en los tumores sobre los que se disponía material suficiente para su análisis.

Se incluyeron para este estudio 46 enfermos, con una mediana de edad de 56.5 años (rango 43-73 años), todos varones, la mayoría con PS 0-1, donde en 41 de ellos el sitio primario de la biopsia analizada fue del tumor (41 ptes), y solo en 5 enfermos de las adenopatías. Como vemos en la **tabla 7**, la mayoría de los enfermos presentaban tumores bien o moderadamente diferenciado, siendo imposible determinar el grado en solo 3 enfermos.

La mayoría de los pacientes presentaban tumores T3-T4 (38 ptes) y eran N2-N3 (29 ptes). En general hipofaringe y orofaringe fueron los sitios predominantes de enfermedad (13 y 14 pacientes respectivamente) y la mayoría de los enfermos presentaban enfermedad irreseccable (31 pacientes).

Un dato destacado es que todos los enfermos de nuestra serie sobreexpresaron el factor epidérmico de crecimiento (EGFR), siendo de tres cruces ó altamente positivo en la mayoría de ellos (19 ptes).

Con respecto a p53, se objetivo una sobreexpresión, haciendo como dijimos el punto de corte en el 50%, en el 56% de los pacientes.

En lo que se refiere al análisis entre las características que se comentan y su relación con la expresión de los factores moleculares analizados, no encontramos ninguna diferencia significativa , sin relación con el estadio, localización o grado histológico entre p53/EGFR y el resto de los parámetros.

Tabla 7: Características

	N (%)
EDAD (Median, rango)	56.5 (43-73)
PS	
100-90	40 (87)
80	6 (13)
GRADO HISTOLÓGICO	
Bien diferenciado	15 (32.6)
Moderad. diferenciado	20 (43.5)
Pobrementemente diferenciado	8 (17.4)
Desconocido	3 (6.5)
P53	
> 50%	26 (56.5)
< 50%	20 (43.5)
EGFR	
+	18 (39.1)
++	9 (19.6)
+++	19 (41.3)
T (tumor)	
T1-T2	6 (13.1)
T3-T4	38 (82.6)
Tx	2 (4.3)
N (cuello)	
N0-N1	17 (37)
N2-N3	29(63)
LOCALIZACIÓN	
Cavidad oral	8 (17.4)
Orofaringe	14 (30.4)
Hipofaringe	13 (28.3)
Laringe	9 (19.6)
1º desconocido	2 (4.3)
RESECABLES	15 (32.6)
IRRESECABLES	31 (67.4)

En esta serie se objetivo un 64% de remisiones completas en el Tumor primario, y un 66% de RC en adenopatías. Como se puede ver las remisiones completas fueron semejantes en porcentajes a la serie global, lo que da una idea de la homogeneidad de esta muestra. Las RP en el T y en el N fueron del 23% y 12% respectivamente, siendo el resto estabilizaciones y progresiones.

De esta serie de pacientes incluidos en el ensayo PPF, recidivaron o progresaron el 46% de los enfermos, siendo la recidiva o progresión, loco-regional en el 80% de los casos.

Un dato destacado fue la elevada incidencia de segundos tumores primarios en esta muestra (9 pacientes), siendo pulmón y esófago los sitios mas frecuentes (4 en cada caso).

A continuación detallamos en tabla 8 las características de distribución de los pacientes y su relación con la expresión de EGFR, donde como se comentó previamente, no encontramos ningún parámetro significativo de relación entre la expresión del factor epidérmico y las características de esta población.

Tabla 8: EGFR y Pacientes

	EGFR +	EGFR ++	EGFR +++
EDAD (mediana)	58	55	55
PS 100	7	1	5
PS 80-90	11	8	14
P53 <50%	7	6	7
P53 > 50%	11	3	12
T 1	-	-	1
2	3	1	1
3	3	2	9
4	11	5	8
Tx	1	1	
N 0	2	1	2
1	5	2	5
2	7	3	8
3	4	3	4
CAVIDAD ORAL	3	-	5
OROFARINGE	4	3	7
HIPOFARINGE	6	3	4
LARINGE	4	2	3
1° DESCONOCIDO	1	1	
RESECABLE	6	4	5

Destacamos nuevamente que a pesar de no ser muy amplio el número de pacientes analizados, en lo que respecta a la distribución de las características clínica , y su relación con parámetros moleculares, no mostraron diferencias estadísticamente significativas , lo que refleja una distribución homogénea en la muestra analizada de dichos parámetros. No obstante, sí fueron significativos determinados parámetros que mostraremos a continuación, principalmente variables relacionados con respuesta, progresión y supervivencia. Estos resultados son fundamentales a la hora de dar fiabilidad a los hallazgos obtenidos, ya que si hubiera inicialmente una distribución no homogénea de las variables en la muestra, la interpretación de los resultados podría dar luz a posibles errores .

PARÁMETROS PREDICTIVOS DE RESPUESTA

Para el estudio de factores predictivos de respuesta, como se indicó en material y métodos, se confeccionaron tablas de contingencia incluyendo todos y cada uno de los parámetros clínicos y biológicos y la variable respuesta, ya sea esta respuesta completa o parcial .(tabla 9).

Tabla 9. Tablas de contingencia de respuesta.

parametro	respuestas	respuestas	P=, Test de fisher
T1 + T2	RC + RP	EE + PE	
T3 + T4	RC + RP	EE + PE	P=1
T1 + T2	RC	RP + EE + PE	
T3 + T4	RC	RP + EE + PE	P= 1
Laringe/hipofaringe	RC + RP	EE + PE	
Vs			P= 0.02
Cav. Oral/orof.	RC + RP	EE + PE	
Laringe/hipofaringe	RC	RP +EE + PE	
Vs			P= 0.34
Cav. Oral/orof.	RC	RP + EE + PE	
N0 + N1	RC + RP	EE + PE	
N2 + N3	RC + RP	EE + PE	P= 0.66
N0 + N1	RC	RP +EE + PE	
N2 + N3	RC	RP + EE + PE	P=0.10
N0 + N1 + N2	RC + RP	EE + PE	
N3	RC + RP	EE + PE	P=0.58
N0 + N1 + N2	RC	RP +EE + PE	
N3	RC	RP + EE + PE	P=1
P53 <50%	RC + RP	EE + PE	
P53 > 50%	RC + RP	EE + PE	P= 1
P53 <50%	RC	RP +EE + PE	
P53 > 50%	RC	RP + EE + PE	P= 0.03
EGFR +vs ++ vs +++	Todas	No respuestas	
	respuestas		P= 0.93
EGFR + vs ++/+++	RC	Otras resp	P=1

Como podemos ver en la tabla 9, la expresión de p53 se correlaciona de forma significativa ($p=0.03$) con la posibilidad de lograr una remisión completa, es decir cuando esta oncoproteína se expresa en $<50\%$ es más probable la RC, pero no cuando hemos valorado RC + RP, cortando la expresión del p53 como dijimos inicialmente en el 50%. Otro parámetro significativo de respuesta fue cuando comparamos los tumores localizados en laringe/hipofaringe con cavidad oral/orofaringe, donde los primeros son más probable que alcancen algún tipo de respuesta ($p=0.02$), pero curiosamente no se correlaciona con la posibilidad de solo lograr remisiones completas, probablemente debido al número de enfermos en cada localización.

Como vemos, el resto de los parámetros no dieron una significación estadística en cuanto a respuesta, con especial mención a la expresión de EGFR, donde se compararon en forma separada (+ vs ++ vs +++) y juntando aquellos con más expresión (+ vs ++/+++), dando igual el nivel de expresión en cuanto a la posibilidad de conseguir algún tipo de respuesta. También destaca en esta serie, que los pacientes tratados con PPF, podían conseguir remisiones completas o parciales independientemente del estadio T / N, dato muy a tener en cuenta en relación a la eficacia de este esquema.

Para poder analizar la interacción de más de una variable con la probabilidad de respuesta, se procedió al diseño de un modelo multivariante bajo la modalidad de regresión logística, el estudio pormenorizado de los diferentes modelos nos hizo desistir de su utilización pues las ecuaciones obtenidas presentaban un elevado grado de incoherente, probablemente relacionados con el escaso número de pacientes bajo estudio.

Parámetros Predictivos de Supervivencia Libre de Enfermedad y

Tiempo a la Recaída

Para el análisis de tiempo a la recaída y supervivencia libre de enfermedad , realizamos un estudio univariante y multivariante ,empleando los factores clínicos y moleculares, y la asociación de estos. La manera mas gráfica de documentarlos será a través de tablas y curvas que pasamos a describir a continuación.

Tabla 10. Análisis Univariante (tiempo a la recidiva)

Variable	HR	I.C. 95%	p
PS	0.95	0.88-1	0.08
Grade	0.84	0.5-1.4	0.5
P53	0.54	0.21-1.33	0.53
EGFR	2.6	1.47-4.64	0.001
P53+EGFR	0.17	0.07-0.42	0.0001
T	0.96	0.56-1.67	0.9
N	1.12	0.71-1.78	0.6
Tumor Side	0.53	0.37-0.77	0.001

Como vemos en este modelo univariante, la expresión de EGFR, la asociación entre p53+ y EGFR y la localización tumoral, fueron los factores significativos de tiempo a la recaída, destacando sobre todo la asociación entre p53+/EGFR (P=0.0001)

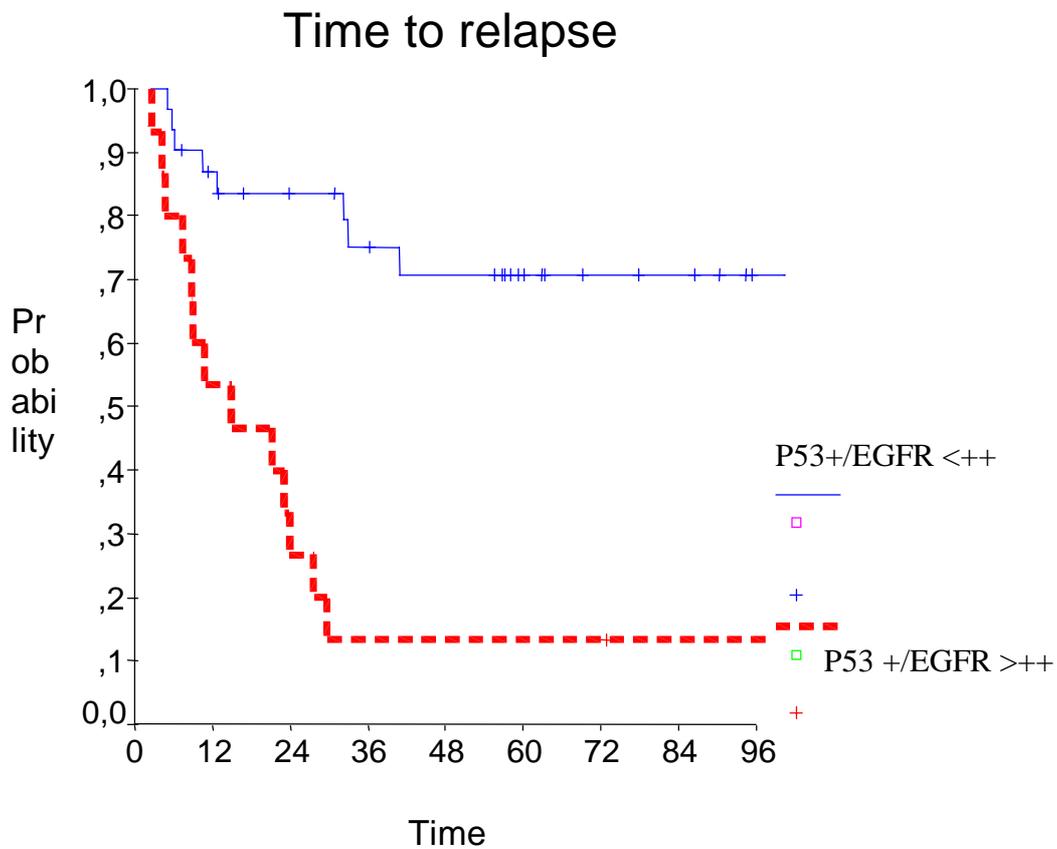
En el análisis multivariante se utilizaron también los factores clínicos y moleculares, combinado estos últimos, en un intento de definir aquellos con mayor significación.

Tabla 11. Análisis multivariante tiempo a la recaída.

Variable	β	HR	C.I. 95%	p
T	0.05	1.05	0.63-1.76	0.84
N	0.48	1.62	0.95-2.79	0.07
Tumor Site	-0.473	0.48	0.31-0.74	0.001

Aquí destaca nuevamente como parámetro clínico solo la localización de la enfermedad , siendo la cavidad oral, la localización con peor tiempo a la recaída (p=0.001).

En la figura 3, se demuestra una curva de tiempo a la recaída donde destaca que la asociación de p53+/EGFR++,+++ , presenta una peor evolución que otras combinaciones, con un valor altamente significativo.



	Median	C.I. 95%	P(*)
P53(+) & EGFR ++,+++	14.9	0-30.5	0.00001
Other combination	ND		

(*) log rank

Como vemos en la curva de tiempo a la recaída, la combinación de p53+ /EGFR>++ presenta una clara peor evolución que a menor expresión del factor epidérmico con

p53+, lo cual demuestra la importancia del EGFR como factor pronóstico para el tiempo a la recaída.

Supervivencia Libre de Enfermedad

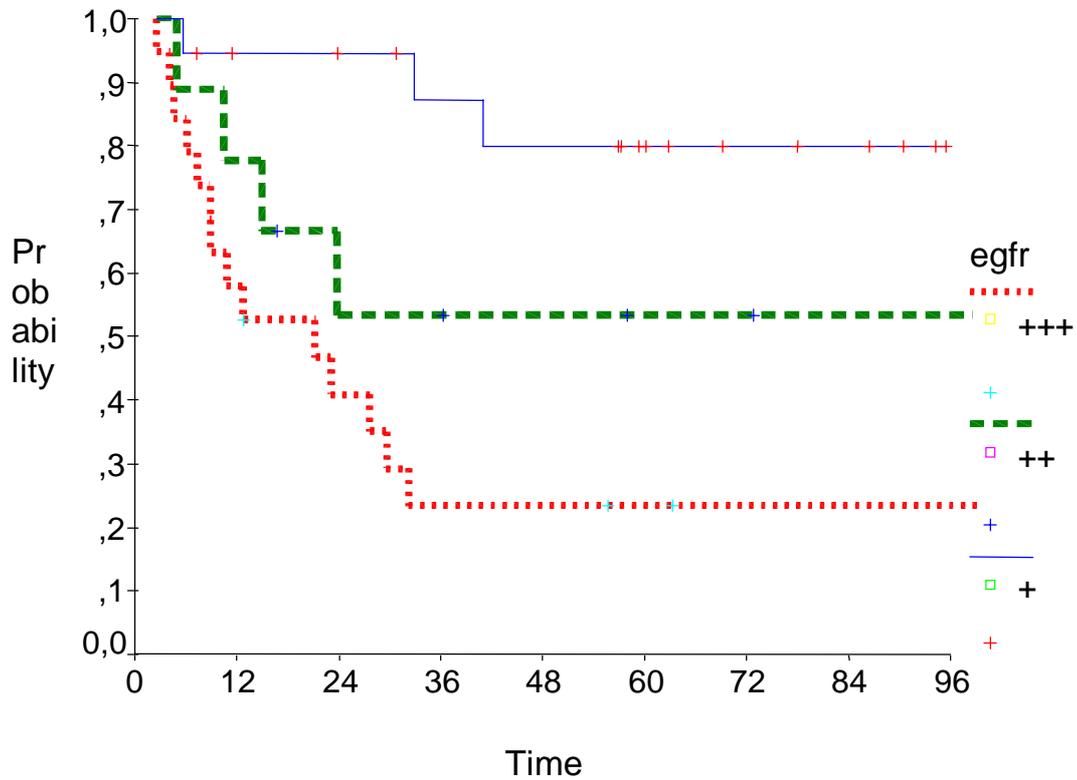
Para el análisis de factores pronósticos de supervivencia libre de enfermedad se llevó a cabo un estudio entre todos los factores clínicos y biológicos.

La expresión de p53 < ó > del 50% no fue significativa (p=0.18), como tampoco lo fue el estadio T (p=0.6), estadio N (p=0.3), e inclusive la combinación entre N0-N1 vs. N2-N3 (p=0.2).

Sí fueron factores pronósticos significativos la expresión de EGFR y localización tumoral primaria.

El grupo de pacientes con expresión de EGFR + (18) no alcanzaron la mediana de supervivencia libre de enfermedad en el momento del análisis, los que presentaban EGFR ++ (9), tampoco alcanzaron la mediana, mientras que aquellos que expresaban +++ (19), presentaron una supervivencia libre de enfermedad de 21.2 meses (IC 95% 4.8-37.7) (p=0.001) (**fig 4**), lo que al igual que en el tiempo a la recaída, demuestra la importancia de la expresión del factor epidérmico, en este caso para la supervivencia libre de enfermedad.

Disease free survival



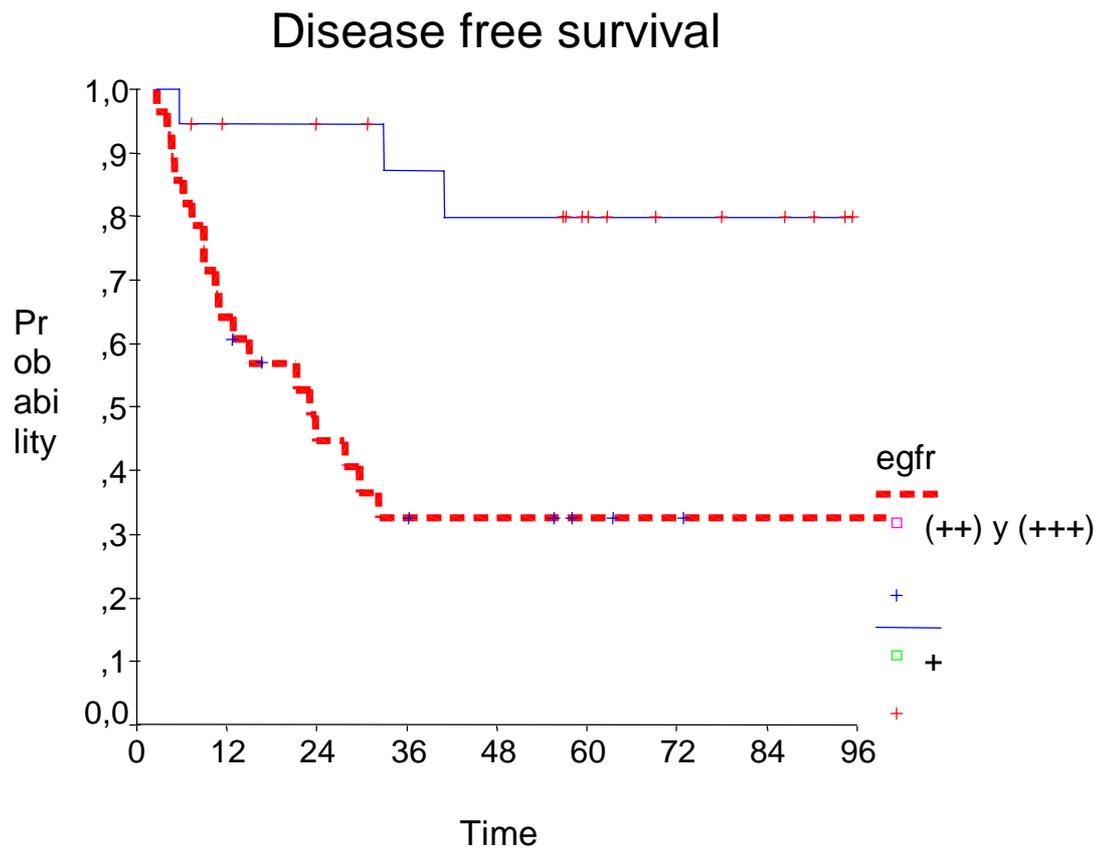
EGFR	N	Median	C.I. 95%	p
+	18	ND		0.001(*)
++	9	ND		
+++	19	21.2	4.8 – 37.7	

(*) Tarone-Ware (fig 4)

Debido a la importancia en la expresión del EGFR para supervivencia libre de enfermedad, posteriormente se realizó una agrupación entre aquellos que expresaban + (18) y los que expresaban ++ y +++ (28), objetivándose en el primer caso que no se llegó a la mediana de supervivencia libre de enfermedad, mientras que los enfermos con mayor expresión (++/+++) tenían una mediana de 21.1 meses (IC 95% 9.2-36.9) ($p = 0.001$) (fig 5).

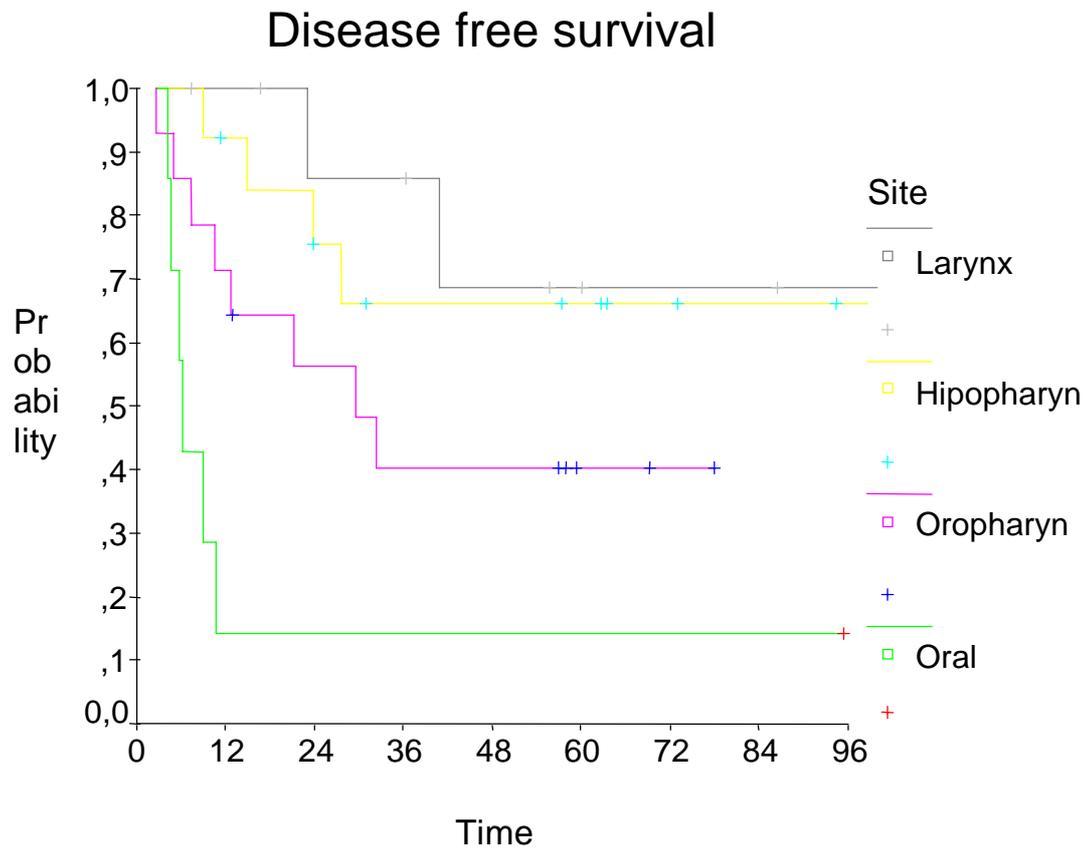
EGFR	N	Median	C.I. 95%	p
+	18	ND	-	0.001(*)
(++) y (+++)	28	21.1	9.2 – 36.9	

(*) Tarone-Ware (fig 5)



Posteriormente se analizó la localización del sitio de enfermedad, objetivándose que los enfermos con tumores localizados en cavidad oral (7) presentaban claramente una peor evolución comparados con las otras localizaciones, con una mediana de supervivencia libre de enfermedad de 6.1 meses (IC 95% 5-7.2) ($p = 0.0003$) (fig 6), debiendo

considerarse que la muestra no era muy amplia, pero destacando este factor clínico pronósticos sobre los otros comentados.



	N	Median	C.I. 95%	p
Oral cavity	7	6.1	5-7.2	0.0003
Oropharynx	14	29.6	11.2-48.1	
Hipopharynx	13	ND		
Larynx	9	ND		

(fig 6)

Supervivencia Global

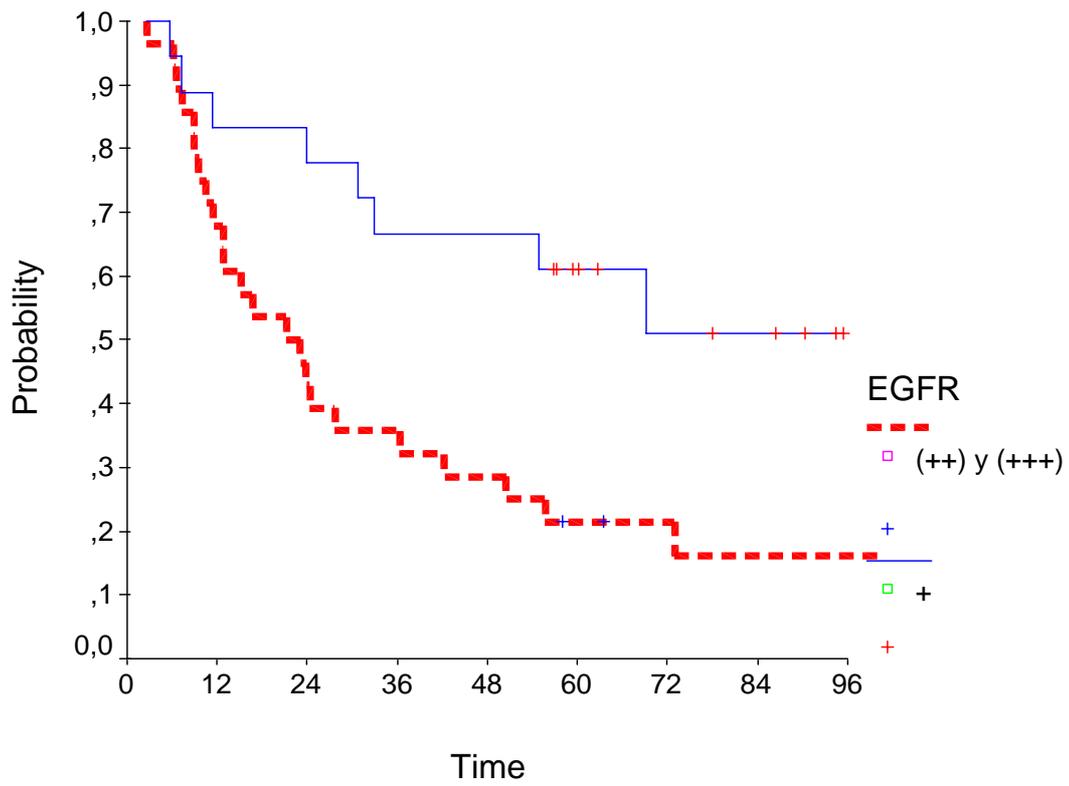
En este apartado también realizamos un análisis de todos los factores clínicos y moleculares como predictores de supervivencia.

Cuando valoramos la expresión de p53 $< \text{ó} > 50\%$, vimos que no era un factor pronóstico para supervivencia ($p= 0.19$), como tampoco lo fue el estadio N, individualmente ($p= 0.23$), o agrupando N0 -N1 vs N2-N3 ($p= 0.14$). Tampoco salió significativo el estadio T ($p=0.9$), el Performance Statuts o grado histológico.

Entre los factores significativos de supervivencia observamos que la expresión de EGFR comparando entre + vs ++ vs +++, tuvo valor predictivo de supervivencia global ($p=0.03$), al igual que lo fue para supervivencia libre de enfermedad.

Posteriormente agrupamos la expresión del factor epidérmico para comparar aquellos que expresaban + (18) frente a aquellos con ++/+++ (28), encontrando una importante diferencia entre ellos ($p=0.009$) (fig 7)

Overall Survival

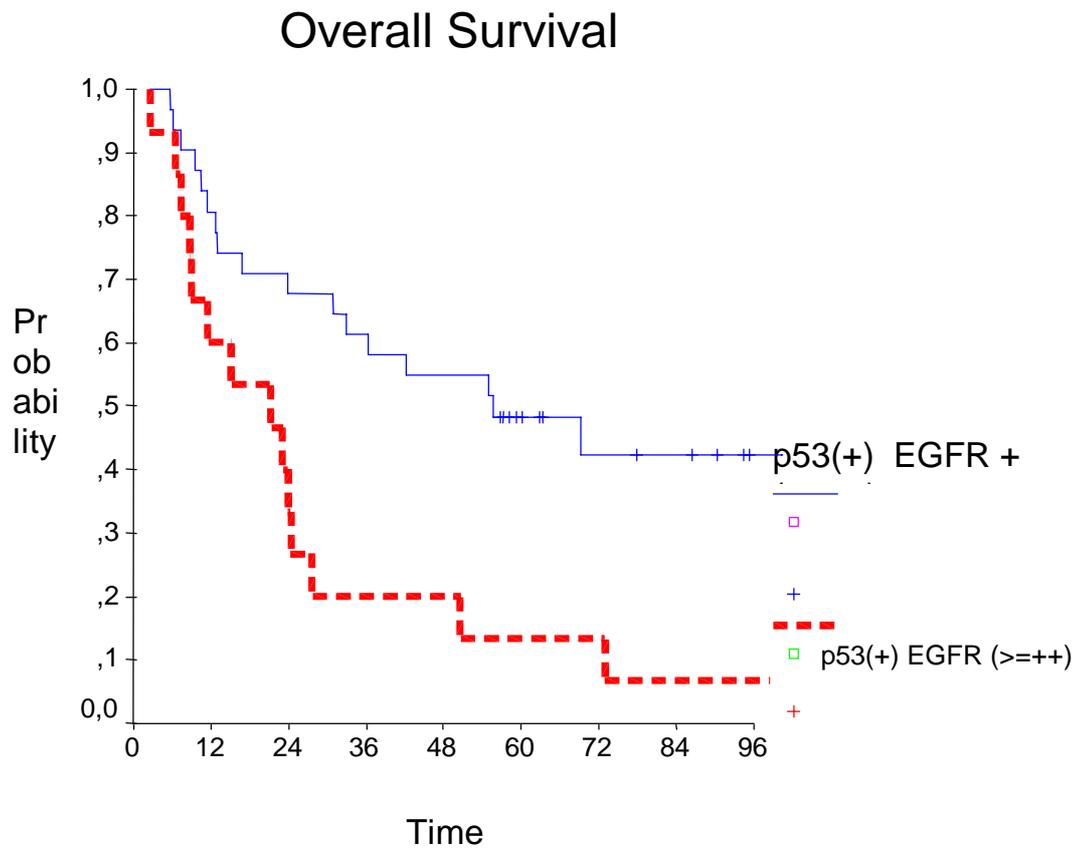


(fig 7)

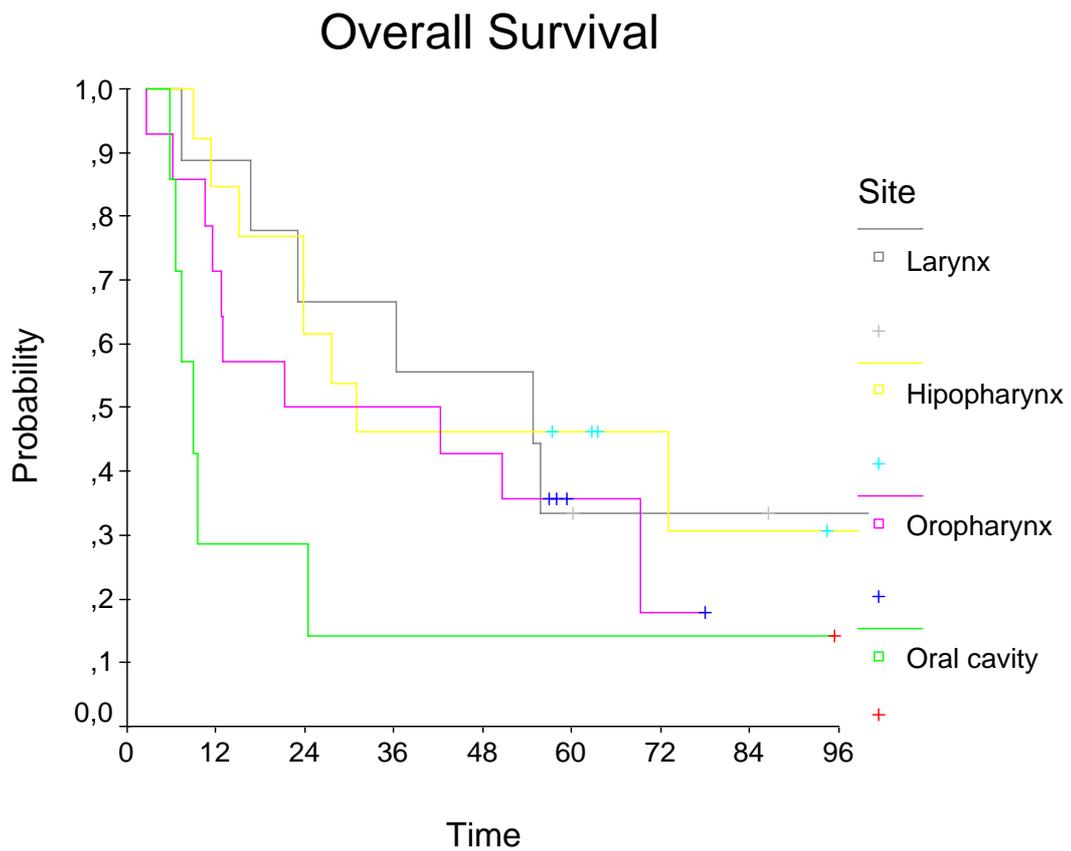
EGFR	N	Median	C.I. 95%	p
+	18	ND		0.009
(++) y (+++)	28	21.2	10 – 32.5	

(*) Tarone-Ware

Al igual que en la supervivencia libre de enfermedad, aquí agrupamos a los enfermos con expresión > 50% de p53 con EGFR ++/+++, vs aquellos con igual expresión de p53 y EGFR+, encontrando que los primeros presentaron una mediana de supervivencia de 21.2 meses (IC95% 6.7-35.8), mientras que en los segundos la mediana de supervivencia era de 55.7 meses (IC95% 18.9-92.5) (p=0.003) (fig 8) .



Por último, observamos que la localización tumoral fue el único parámetro clínico con significación pronóstica para supervivencia global cuando fue comparado los tumores localizados en cavidad oral frente al resto de las localizaciones (fig 9).



	N	Median	C.I. 95%	p
Oral cavity	7	8.8	4.9-12.7	0.03
Oropharynx	14	21.2	0-75.2	
Hipopharynx	13	30.8	0-74	
Larynx	9	54.8	0.5-109.1	

Por último se realizó un análisis multivariante para supervivencia (Cox model), donde se demostró que la expresión de EGFR ($p=0.006$, IC 95% 1,180-2,675) y la localización tumoral ($p=0.01$, IC 95% 0,471-0,915) fueron las variables independientes para supervivencia.

La mediana de seguimiento de esta serie ha sido de 31.9 meses (2.6-100.3), con una probabilidad actuarial de supervivencia a los 12, 24, 48 y 60 meses de 73.9%, 56.5%, 43.5% y 36.9% respectivamente.

➤ **DISCUSIÓN**

Como hemos desarrollado en los resultado expuestos previamente, una parte clínica y otra biológica, discutiremos inicialmente cada una por separado, para posteriormente intentar unir ambos temas, base de este trabajo.

Paclitaxel/Platino/Fluoruracil (PPF)

En este trabajo, hemos demostrado el desarrollo de un nuevo esquema de quimioterapia de inducción, con amplia actividad en tumores localmente avanzados de cabeza y cuello sin tratamiento previo. Tal como se vio previamente, este esquema presenta un índice de respuestas del 88%, y casi un 60% de remisiones completas en 69 pacientes evaluables. Además con un seguimiento de casi 5 años, el tiempo de fallo al tratamiento fue del 57%, y a 5 años la supervivencia global fue del 44%, en una población de mal pronóstico. Además , la toxicidad de nuestro esquema es manejable , y básicamente consistió en neutropenia, alopecia y neurotoxicidad.

Otro dato destacado es que la combinación de quimioterapia de inducción, con posterior quimio-radioterapia con este esquema, ofreció una alternativa sensibilizante y menos tóxica que los clásicos esquemas de quimio-radioterapia desarrollados, con menos efectos tóxicos acumulados a largo plazo (236,237). Destacamos que previamente Vokes ya demostró la factibilidad de realizar quimioterapia de inducción, y en los pacientes con buena respuestas tratarlos posteriormente con quimio-radioterapia, dejando la cirugía para aquellos no respondedores, y por lo tanto malos candidatos para quimio-radioterapia, o permitir cirugías de rescate en las recaídas (238, 239).. Este autor publicó los resultados obtenidos en pacientes con enfermedad local avanzada en estadios III/IV tratados con 3 ciclos de inducción con PFL-IFN, seguidos por cirugía funcional y posterior quimio-radioterapia con fluoruracil e hidroxiurea(239). Ellos

reportaron un índice de RC con la quimioterapia de inducción del 51%, y una supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global a 3 años del 69% y 60% respectivamente. Con el esquema desarrollados por ellos presentaron una importante toxicidad, con mucositis en el 54% de los enfermos, mielosupresión en el 60% y un 7% de muertes tóxicas.

En nuestro esquema (PPF) destaca un elevado porcentaje de remisiones completas (59%), a pesar de tener un 60% de tumores T4 y un porcentaje semejante de tumores N2-N3.

Las respuestas en este trabajo fueron evaluadas separadamente entre T y N, con valoración clínica y radiológica en todos los casos. Al final de la quimioterapia de inducción las RC en el tumor primario fueron del 74%, y en las adenopatías del 62%, siempre siendo evaluados los enfermos por un equipo multidisciplinario compuesto por oncólogo, radioterapeuta, otorrino y neurorradiólogo. Destaca también que se realizó confirmación patológica de remisión completa en el 91% de 23 enfermos con RC clínica, los cuales fueron sometidos a biopsias múltiples..

El análisis de toxicidad de nuestro ensayo demuestra que paclitaxel puede ser añadido a PF sin un incremento limitante de la toxicidad. Un 90% de los enfermos recibieron los 3 ciclos planificados inicialmente en el diseño del estudio, con una intensidad de dosis relativa media administrada del 95%. La toxicidad hematológica no fue severa, documentándose neutropenia grado 4 en solo el 14% de los pacientes y en el 9% de los ciclos, y fue usualmente de corta duración. Solo 3 pacientes presentaron neutropenia febril, considerando que no se permitió el empleo preventivo de antibióticos y factores de crecimiento. Otro dato destacado fue la baja incidencia de anemia y trombopenia Grado 3-4.

Con respecto a la toxicidad no hematológica destacamos la alopecia, común en todo esquema que emplea taxol, astenia moderada, mucositis, mialgias y neuropatía periférica.

Las dosis de fluoruracil fueron reducidas de 750 mg/m²/día a 500 mg/m²/día durante el ensayo, debido a 2 muertes tóxicas por neutropenia febril y mucositis en los primeros 14 enfermos incluidos. Posterior a este ajuste de dosis, la incidencia de neutropenia y neutropenia febril fueron reducidas del 50% y 14% al 29% y 2% respectivamente.

Otro dato relevante es que 5 pacientes desarrollaron trombosis venosa asociada al catéter central, y un paciente murió debido a un tromboembolismo pulmonar.

Otros grupos han desarrollado esquemas triples de paclitaxel, cisplatino y fluoruracil (240, 241), utilizando una secuencia similar de la administración de fármacos. Se ha recomendado también que con el empleo de paclitaxel a dosis de 135-175 mg/m², cisplatino 75-100 mg/m² y fluoruracil 3750-4000 mg/m², se puede evitar la utilización de G-CSF. Las toxicidades informadas en estos esquemas han sido semejantes a la comentada por nosotros en nuestro estudio, aunque la incidencia de mucositis severa y neuropatía periférica fue mayor debido probablemente a su relación con el empleo de mayores dosis de 5FU y al mayor número de ciclos administrados.

Otros investigadores han empleado docetaxel en combinación con PF como esquema de inducción (242, 243) . La más conocida combinación con este taxano es la presentada por Colevas y col (244, 245). Con este esquema , los pacientes debieron ser hospitalizados para la administración del mismo, el cual consistió en Docetaxel 60 mg/m², seguido de Cisplatino 125 mg/m² en infusión, 5FU 2800 mg/m² y Leucovorin 500 mg/m², estos tres últimos fármacos administrados durante 5 días, y Docetaxel día 1° (TPFL5). En este esquema la administración preventiva de G-CSF y antibióticos fueron incluidas, en un intento de reducir la toxicidad del esquema, e inclusive se

desarrollo el TPFL4, reduciendo los tres últimos fármacos a 4 días de administración, también para reducir la toxicidad. En ambos esquemas se logró una respuesta que osciló entre el 93% y el 100%, con un 60% de remisiones completas globales y entre un 72% y un 86% de remisiones completas en el tumor primario, en una muestra de pacientes semejante a la nuestra. Un dato diferencial es que los enfermos tratados con TPFL recibieron posteriormente como tratamiento radical radioterapia hiperfraccionada, lo cual pudo influir en los resultados ulteriores de supervivencia. Con un seguimiento relativamente breve, la supervivencia libre de progresión y global de los enfermos tratados con TPFL fueron del 78% y 53% respectivamente. La mayor toxicidad publicada con este esquema fue neutropenia febril en el 48% de los pacientes con el TPFL5 y en el 17% con el TPFL4, y daño renal y diarrea hasta en el 10% de los ciclos. Mucositis G3-4 fue observada en el 48% de los ciclos con ambos esquemas como otra toxicidad destacada.

Otros autores han reportado el empleo de Docetaxel 75 mg/m², Cisplatino 75 mg/m² día1 y 5FU 1000 mg/m²/días 1-4, con el uso de antibióticos preventivos (246). Con este esquema se reportaron un 30% y 19% de mucositis G3-4 y neutropenia febril respectivamente. Un índice de respuestas globales del 85% con remisiones completas en la mitad de los casos fueron reportadas. Todos estos nuevos esquemas que añaden Taxanos a la clásica combinación de PF han demostrado incrementar en forma importante el porcentaje de remisiones globales y completas, con un perfil de toxicidad predecible y manejable, permitiendo quizá en futuros ensayos randomizados demostrar un beneficio frente al ya clásico esquema de Platino/Fluoruracil, no solo en remisiones, si no quizá en supervivencia.

Ahora , la cuestión es que aporta nuestro esquema PPF a la evolución de los tumores de cabeza y cuello avanzados. Para poder sacar datos mas concretos, es necesario primero hacer un breve repaso a lo que aporta la quimioterapia en estos tumores.

Quimioterapia en los Tumores Localmente Avanzados de Cabeza y Cuello

Durante los últimos 20 años, la quimioterapia ha sido incorporada al manejo multidisciplinario de los TCC avanzados, ya sea como quimioterapia de inducción, adyuvante o concomitante con la radioterapia, en diferentes estrategias de tratamiento. En un metaanálisis de estudios randomizados que incluían quimioterapia (MACH-CN) en el tratamiento de los tumores localmente avanzados (247), ensayos realizados entre 1965-1993, los cuales comparaban varias estrategias de tratamiento (cirugía sola, radioterapia sola, o cirugía seguido de radioterapia) con o sin quimioterapia.. En estos ensayos la quimioterapia fue administrada como inducción, concomitante o adyuvante. Los datos al día, en forma individual en cada ensayo, con un seguimiento mínimo de 5 años fueron recolectados, y la supervivencia global a 5 años fue calculada en con el grupo de pacientes por intención de tratamiento. Un dato fundamental en esta muestra de pacientes, como las tasas de respuestas y la supervivencia libre de enfermedad, no fue analizada, carencia importante ya que este grupo de enfermos pueden tener una supervivencia global afectada no solo por su enfermedad analizada, si no como se comentó previamente, otros factores pueden influir negativamente en la misma, tales como son los segundos tumores y enfermedades concomitantes.

Los datos de 10850 pacientes de 65 estudios fueron analizados, encontrando un beneficio en supervivencia del 4% para la quimioterapia de inducción, de un 8% para la quimio-radioterapia, y no beneficio de la adyuvancia (**tabla 12**).

Tabla 12. MACH-CN

Ensayos	Nº ensayos	Nº ptes	Diferencias(%)	p valor
Todos los ensayos	65	10850	+4	<0.0001
Adyuvante	8	1854	+1	0.74
Inducción	31	5269	+2	0.10
PF	15	2487	+5	0.01
Otras QT	16	2782	0	0.91
QTRT	26	3727	+8	<0.0001

Como vemos en esta tabla del metaanálisis, el beneficio de la quimioterapia de inducción con PF fue del 5%, siendo la mayoría de los enfermos analizados con inducción, tratados con otros esquemas mas antiguos, sin aportar ningún beneficio, por lo cual podemos deducir que a partir de el esquema PF se comienza a ver un relativo aporte de la quimioterapia primaria en este grupo de enfermos. Ahora, ¿ que pasaría si PPF añade un 10% de beneficio sobre el esquema PF en supervivencia?, ¿podríamos esperar que la supervivencia de los enfermos con tumores avanzados pueda incrementar con la quimioterapia de inducción frente a cirugía y radioterapia hasta en un 15%?, esta respuesta solo la obtendremos mediante el diseño y desarrollo de nuevos ensayos clínicos randomizados y la finalización de aquellos que en la actualidad están activos, donde se pueda comprobar que PPF es superior a PF, lo cual cambiaría la historia natural de esta enfermedad que sigue igual desde hace mas de 20 años.

Quimio-radioterapia: en el MACH-CN se demostró un beneficio en la supervivencia con QTRT del 8% en un total de mas de 3000 pacientes, donde la mayoría fueron

tratados con bajas dosis de agentes únicos con potencial sensibilizante. Sin embargo podría ser mas racional utilizar dosis mas altas de quimioterapia o combinaciones, en un intento de reducir la enfermedad a distancia, a costa de una mayor toxicidad.

En varios recientes ensayos randomizados (248, 248, 259), los efectos de la radioterapia sola fueron comparados con QTRT en base a cisplatino/5fu. En todos estos ensayos se observó un beneficio en el control local y supervivencia de estos pacientes, confirmando los resultados del metaanálisis. Sin embargo con esta estrategia de combinación se ha demostrado que es mas tóxica, con una pérdida de la intensidad de dosis de radioterapia, por lo cual una probable estrategia racional sería emplear quimioterapia de inducción, y en los enfermos con buena respuesta tratarlos con QTRT con agentes únicos a dosis plenas, permitiendo de esta manera seleccionar los candidatos mas idóneos a quimio-radioterapia, reducir la enfermedad a distancia, y desarrollar la QTRT a dosis plenas tanto de la quimioterapia como de la radioterapia, sin un incremento excesivo de la toxicidad. Un trabajo con este enfoque , aparte del nuestro, ha sido realizado previamente en enfermos con estadios menos avanzados, los cuales fueron tratados con quimioterapia de inducción con carboplatino/taxol durante 6 semanas y posteriormente recibieron quimio-radioterapia, con buena tolerancia y sin comprometer la variable intensidad de dosis (251). En nuestro ensayo, la mediana de duración de la quimio-radioterapia fue de 8 semanas, recibiendo una dosis media de radioterapia de 66 Gy, y sin muertes tóxicas. Probablemente el futuro inmediato sea valorar nuevos fármacos de inducción en combinación con PF y posteriormente tratar a los enfermos con excelentes respuestas con quimio-radioterapia, estando todavía por definir el esquema óptimo de este tratamiento, pero recordando que básicamente debe permitir desarrollar la radioterapia a dosis plenas y en un periodo de tiempo estándar.

Recordamos que el estudio MACH-NC (247) demostró que la supervivencia a 2 años fue del 56% y 30% para pacientes con tumores resecables e irresecables respectivamente, y que a partir de los 2 años se añadían como causas de mortalidad en esta población la presencia de otros tumores y morbilidades propias de este tipo de enfermos, tales como patología pulmonar, alcoholismo, etc, lo cual deteriora claramente la supervivencia global y plantea que sería mas racional analizar la supervivencia libre de enfermedad. En nuestra serie, donde la mayoría de los tumores eran irresecables, con un seguimiento de casi 5 años, hemos tenido una supervivencia libre de enfermedad del 59% y una supervivencia global del 44%, lo que demuestra que en principio estos resultados son mas que alentadores y justifican el realizar ensayos fases III , tal como estamos ahora analizando. Sin lugar a duda que el añadir a un esquema activo como es platino/fluoruracilo, otro fármaco con actividad demostrada en TCC como es paclitaxel, en combinaciones racionales, puede aportar un nuevo cambio en la historia natural de esta enfermedad, la cual como se menciono previamente ha permanecido sin grandes variaciones en 20 años, y donde los cambios han sido aportados básicamente por la quimio-radioterapia, la cual ha demostrado ser mejor que radioterapia sola, pero todavía no sabemos si la combinación con inducción, frente a los tratamientos estándar, puede ser superior y permitir un cambio sustancial en esta enfermedad.

Podemos concluir que nuestro esquema PPF ha demostrado ser factible en cuanto a seguridad como quimioterapia de inducción, que presenta una tasa de eficacia, en estudio fase II, superior, aunque todavía no comparada, que PF, y que el diseño de posterior quimio-radioterapia como tratamiento de consolidación en pacientes que responden puede ser el enfoque terapéutico del futuro, ya que nuestros datos de supervivencia en una población con tumores muy avanzados, es casi el doble que los

datos históricos, lo cual como se comentó, debe ser contrastado en ensayos randomizados.

QUEDA POR DEFINIR en estudios aleatorizados:

- Si PPF es superior en tasas de respuestas y supervivencia libre de enfermedad a PF
- Si quimio-radioterapia posterior a quimioterapia de inducción en pacientes con buena respuesta puede ser el tratamiento de consolidación.
- Cual sería el mejor esquema de quimio-radioterapia, para cumplir un programa racional de desarrollo del mismo, sin perjuicio en cuanto a toxicidad e intensidad de dosis.
- Considerar siempre la cirugía funcional, y aquellas para enfermos con N2/N3 de inicio, parte del tratamiento multidisciplinario.
- Definir una pauta óptima de evaluación de respuesta a la quimioterapia de inducción, basada en pruebas de imágenes y biopsias, las cuales pueden garantizar la rigurosidad de la categoría de respuesta y permitir seleccionar posteriormente el mejor tratamiento radical.
- En base a grandes ensayos randomizados podremos conocer en un futuro próximo nuevos factores pronósticos que nos permitan individualizar mejor a los pacientes para seleccionar un abordaje terapéutico mas óptimo, sin incluir como hasta ahora, todos los tumores de cabeza y cuello bajo un mismo epígrafe. Esto seguramente lo darán los datos de biología molecular, que junto a los datos clínicos, permitan definir subpoblaciones de pacientes que puedan requerir un tratamiento diferente.

Discusión sobre los Factores Pronósticos analizados: Clínicos y Moleculares

La determinación de nuevos factores moleculares como p53 y EGFR fue posible estudiarlos en nuestra serie en 46 enfermos de 70 incluidos (66%), lo cual refleja, tal como se mencionó en los resultados, una muestra homogénea y significativa en cuanto a los datos obtenidos.

La mayoría de los enfermos aquí analizados presentaban tumores T3-T4 (38) y N2-N3 (29), siendo la enfermedad irreseccable en 31 de ellos. Estos datos los destacamos ya que vienen a reflejar una población de enfermos con pronóstico desfavorable, semejante a los 70 pacientes previamente comentados, y evitando el sesgo que se puede producir cuando se hace una selección no aleatoria.

La determinación de p53 y EGFR fue realizada por técnicas convalidadas de inmuno-histoquímica, empleando anticuerpos monoclonales de Dako, observando el material siempre los mismos investigadores (2), lo que representa una fiabilidad de los resultados obtenidos, siendo hoy en día las técnicas de IHQ las más empleadas a la hora de estudiar estos factores moleculares.

Con respecto al punto de corte del 50% para considerar positivo o negativo a la expresión de p53 la misma se realizó en base a los datos publicados y realizando asociaciones con respuesta y supervivencia. Consideramos que el dar un valor por debajo del 50% de núcleos teñidos, podría diagnosticar o mejor sobrediagnosticar a tumores con expresión de p53, donde esta oncoproteína realmente no represente un papel determinante a la hora de analizar su relación con respuesta y supervivencia. Como dijimos hemos encontrado puntos de corte para p53 entre el 10% y el 50% en diferentes publicaciones con resultados contradictorios. Por ejemplo Kraxner y cols.

en una serie de solo 15 enfermos con TCC, hallaron que la expresión de p53 era + en el 40% de los enfermos, considerando a esta positividad cuando alguna célula tumoral presentaba tinción(252). Este trabajo quizá esta sobrevalorando la expresión de p53, además solo se estudiaron 15 pacientes.

Otros autores como Lavieille y cols (253) estudiaron a 99 enfermos de una población heterogénea de tumores de cabeza y cuello, encontrando expresión de p53 en el 56% de la muestra, haciendo el punto de corte en el 20% de células teñidas, sin aportar datos definitivos sobre el valor de la misma.

Bradford y cols (254) estudiaron también una población diversa de TCC, con una muestra de 178 tumores, considerando como positivo cuando alguna célula tumoral se teñía , dando expresado por lo cual en el 61% de los enfermos.

En otro estudio realizado por el grupo de Melhem, en el cual se emplearon 2 anticuerpos monoclonales diferentes y plantearon un punto de corte en el 50% de células teñidas, objetivando una positividad en el 50% de la muestra (255).

Caminero y cols. hallaron un 43% de casos positivos en 106 tumores de orofaringe de diversos estadios, considerando positiva su muestra cuando el 10% de las células aparecían teñidas (256).

Como vemos, en todos estos estudios donde se determinó la expresión de p53 en tumores de cabeza y cuello, los puntos de corte para definir como positivo a p53 fueron diversos, al igual que los estadios y localizaciones de la enfermedad, lo cual puede impedir sacar conclusiones sobre el verdadero valor que tiene la expresión de p53 en esta enfermedad.

En nuestro ensayo la población analizada era de diferente localización de enfermedad, pero todos representaban tumores avanzados y tratados en forma

homogénea, sin intentar sobrevalorar la expresión de la proteína, y haciendo correlaciones con respuesta y supervivencia, en un intento de definir su utilidad pronóstica, y como veremos, posiblemente terapéutica.

En lo referente a la distribución de los enfermos con expresión de p53 (56%), no encontramos ningún dato significativo en cuanto a localización, edad, PS, grado histológico, estadios T, N, o resecabilidad, e inclusive no hubo correlación con la expresión de EGFR, por lo cual podemos asumir que la expresión de esta oncoproteína, en un rango alto (>50%), no se correlaciona con parámetros clínicos ni biológicos, por lo cual podemos en principio asumir que la distribución de la muestra analizada fue homogénea, y que probablemente la sobreexpresión de p53 no tenga relación con los factores conocidos hasta la fecha, e inclusive como comentaremos, nosotros cuestionamos, por ahora, su utilidad clínica.

Si hallamos que los enfermos con expresión de p53 presentaban menos remisiones completas que aquellos con expresión <50% ($p=0.03$), pero cuando comparamos las respuestas (RC/RP) vs no respuestas (EE/PE), la expresión de p53 no fue un factor predictivo de la misma ($p=1$). En un trabajo publicado previamente por nosotros (257), realizamos determinación de p53 en 62 enfermos tratados con quimioterapia de inducción con PF. La determinación fue realizada utilizando la misma técnica y los mismos anticuerpos monoclonales (Dako), salvo que el punto de corte para definir p53 + fue del 35% de núcleos teñidos. Encontramos positividad en el 73% de los enfermos, tampoco pudimos establecer una correlación con los parámetros clínicos antes comentados, inclusive tampoco hallamos correlación con la cantidad de alcohol o tabaco consumidos. Como dato destacado encontramos una mejor tasa de respuestas globales en pacientes con p53 negativo, aunque esta no fue estadísticamente significativa (88% vs 60%, $p=0.07$). Además esta serie que

también fue homogénea y tratados todos con PF fuera de ensayo clínico, presentó una tasa de remisiones completas de solo el 20%, tampoco encontramos correlación entre las RC de ambos grupos ($p53\pm$), quizá atribuidos al bajo número de enfermos.

En otro ensayo publicado por Dunphy y cols. (258), realizaron determinación de p53 en 36 enfermos tratados con quimioterapia con taxol/carboplatino como esquema de inducción. Utilizaron también técnica de IHQ con anticuerpo Bio-Genex, haciendo un punto de corte por encima del 25% de núcleos teñidos, siendo positivos en el 67% de los enfermos. Tampoco encontraron correlación con las respuestas clínicas, ni con parámetros de supervivencia, sin poder establecer un papel para este oncogén en pacientes tratados con quimioterapia.

Field y cols (259) publicaron una breve serie de enfermos con tumores avanzados tratados con cisplatino. Tampoco pudieron ver una relación con la respuesta a la quimioterapia entre aquellos que expresaban o no p53, sin quedar claro tampoco aquí el papel de esta oncoproteína.

Un resultado muy interesante es el publicado por investigadores del Instituto Gustave Roussy (260), donde analizaron muestras de 78 enfermos con tumores avanzados. En este trabajo se empleó material de adenopatías y tumor primario, y se emplearon técnicas de IHQ y de PCR. Dentro de las observaciones destacan que existió una correlación entre la expresión de p53 entre el T(68%) y el N (70%), además existió una relación entre mutación y sobreexpresión, lo cual valida las técnicas de IHQ, y no se pudo establecer ninguna correlación entre parámetros clínicos, respuesta y supervivencia con la mutación de esta oncoproteína.

Todos estos datos nos vienen a confirmar que por ahora la sobreexpresión de p53 no representa un parámetro de resistencia a la quimioterapia en cuanto a respuesta, destacando que en nuestra serie, la expresión se relacionó con menor probabilidad

de lograr una remisión completa, pero las tasas de respuestas globales fueron semejantes.

En nuestra serie también destaca que p53 no fue un parámetro de supervivencia global, pero sí de tiempo a la recaída cuando se asoció a una alta expresión de EGFR (>+), siendo este valor solo significativo en la asociación con el otro factor molecular, pero no de forma individual. También este dato fue significativo ($p=0.003$) para supervivencia global, siempre que p53 se asoció a EGFR++/+++ pero no como dato individual pronóstico, lo cual puede implicar que esta asociación define un grupo de peor evolución, el cual puede ser independiente de la respuesta lograda con PPF.

Podemos resumir diciendo que en nuestra serie de 46 enfermos, la expresión de p53 por encima del 50% se objetivó en el 56% de los pacientes, siendo en general la expresión entre el 40%-80%, y que su positividad se relacionó en forma adversa en cuanto a lograr una remisión completa y en el tiempo a la recaída y supervivencia global, cuando se asoció a una elevada expresión de EGFR, pero no como parámetro individual. Estos datos concuerdan con lo comentado en cuanto a la utilidad y valor de p53 como diana pronóstica y terapéutica, es decir, todavía no hay nada definido y su determinación solo se justifica dentro de ensayos clínicos.

En cuanto a los parámetros clínicos de respuesta a PPF, es muy destacable que solo los tumores localizados en cavidad oral y orofaringe lograron menos remisiones globales que los tumores de otras localizaciones ($p=0.02$), pero las posibilidades de lograr una remisión completa fue igual para todas las localizaciones de enfermedad. También las posibilidades de respuestas, y en especial de remisiones completas a PPF, fue independiente del T, N, grado histológico, PS y de la expresión de EGFR.

Estos datos hablan probablemente de la actividad de este esquema de quimioterapia en cuanto a respuesta, en especial en cuanto se refiere a tumores muy avanzados (T4, N2/N3) que como se comentó previamente tienen una peor respuesta y supervivencia a quimioterapia con esquema PF y otros esquemas sin paclitaxel (167, 261). En lo referente a supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, el único parámetro clínico significativo en el análisis univariante y multivariante, fueron los tumores localizados en cavidad oral, que a pesar de tener una tasa de RC semejante a otras localizaciones, la supervivencia fue claramente peor ($p=0.03$). Estos datos contrastan con lo ya reportado previamente por otros autores, por ejemplo Cognetti y cols. (262) publicó los datos de factores pronósticos clínicos de 152 pacientes tratados con quimioterapia con PF como esquema de inducción. En dicho estudio se observaron un 18% de remisiones completas clínicas y un 45% de remisiones parciales en pacientes con tumores localmente avanzados de diferentes localizaciones. Ellos encontraron un mayor porcentaje de RC en pacientes con PS 0-1, pacientes con estadios III, siendo el estadio T y la localización del tumor primario, parámetros predictivos de RC. En lo que respecta a la localización, también demostraron que los tumores localizados en cavidad oral presentaban una peor supervivencia y menos remisiones completas que las otras localizaciones, siendo factores predictivos independientes.

Como se comentó en la introducción (106,107,108,109) los tumores de cavidad oral se presentan en la mayoría de los pacientes como enfermedad avanzada, e inclusive en estadios precoces existe una elevada incidencia de enfermedad subclínica ganglionar. Los enfermos con estadios III/IV presentan una tasa de recidiva, a pesar de terapias agresivas y radicales, del 60%-70%, siendo por lo general estas recidivas de difícil rescate curativo. Porque esta evolución tan agresiva?, puede haber varias

explicaciones, desde que son los tumores con mas incidencia de carcinogénesis por campos (24), donde después de la curación del tumor inicial es difícil saber si ha recidivado el mismo tumor o es otro primario que se ha desarrollado en la vecindad del tumor inicial. Sudbo y cols. (263) publicó la incidencia de aberraciones genómicas en varias lesiones premalignas de cavidad oral. Estos autores analizaron 57 biopsias de enfermos con eritroplasias orales, analizando el DNA. . Encontraron aberraciones del DNA en la mayoría de los enfermos y vieron que un 92% de estos enfermos con lesiones premalignas desarrollaban posteriormente carcinomas invasivos (mediana de observación de 53 meses). Los pacientes con un DNA normal no desarrollaron carcinomas, siendo en el análisis multivariante el contenido de DNA el factor pronóstico mas importante. Lógicamente esta aberración puede obedecer a los cambios clonales que presentan las lesiones premalignas y que justifican la teoría de la carcinogénesis por campos. Además destacan en los tumores de cavidad oral los cambios displásicos que son los precursores como vimos de lesiones malignas, por lo cual no podemos saber si la importante tasa de recidiva se debe al mismo tumor u otra lesión que surge en la vecindad.

Otro dato a tener en consideración es la expresión de nuevos factores moleculares presentes en estos tumores. Smith y cols (264) estudiaron la presencia de Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF), un promotor de la angiogénesis y diseminación tumoral, en carcinomas de cavidad oral y orofaringe. Estos autores realizaron determinación por IHQ de esta factor en 56 pacientes con tumores avanzados tratados con cirugía y radioterapia. Observaron que un 41% de los tumores expresaban VEGF, y que este marcador se asoció con un mayor riesgo de recidiva y enfermedad a distancia, siendo en el análisis multivariante el factor predictor de recidiva y supervivencia mas importante, inclusive que todos los parámetros

clínicos. Como sabemos VEGF sobreexpresado se asocia con una mayor angiogénesis y probabilidad de diseminación local y a distancia, por lo cual ya conocemos otros datos que pueden explicar la mayor incidencia de recidiva de esta enfermedad. No contamos hasta la fecha la determinación de este factor vascular en diferentes localizaciones de tumores de cabeza y cuello para poder sacar mas conclusiones acerca de si su expresión en tumores orales es mayor que en otras localizaciones.

Con respecto a la expresión de EGFR en nuestra serie, los tumores de cavidad oral lo expresaron igual que el resto de las localizaciones, y tal como vimos, no hubo relación con la respuesta clínica.

Podemos concluir este apartado diciendo que los tumores de cavidad oral representan un subgrupo con peor supervivencia global y peor supervivencia libre de enfermedad en nuestra serie, siendo un factor pronóstico significativo para supervivencia pero no para respuesta a PPF. Posiblemente las especulaciones antes comentadas como la carcinogénesis por campo, aberraciones del DNA en lesiones premalignas, expresión de VEGF, puedan explicar esta peor evolución, pero son datos que todavía deben ser confirmados en mas estudios clínicos.

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

Como destacamos en los resultados, la expresión de EGFR no se relacionó con la posibilidad de conseguir una respuesta (RC/RP) con PPF, pero fue un factor predictivo significativo de tiempo a la recaída, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, máxime cuando la expresión de ++/+++ fue asociada, es decir los que mas expresaban este factor.

Como vimos, en este trabajo todos los enfermos expresaron EGFR, siendo ++/+++ en la mayoría de ellos (28 ptes). La técnica de determinación de este factor epidérmico fue con IHQ con anticuerpo monoclonal de Dako, la cual esta convalidada por diferentes ensayos. Para expresar el número de cruces se utilizó también una cuantificación aceptada universalmente y fue valorada por dos investigadores diferentes, lo cual hace que estos datos sean fiables y no sujetos al azar. Vimos además que la distribución de los enfermos fue homogénea y balanceada entre diferentes características clínicas que incluían edad, PS, grado histológico, T, N, localización del tumor y expresión de p53.

Cuando se analizó la respuesta, se realizó una tabla de contingencia y la expresión de EGFR fue separa en +/++/++ y también se comparó + vs ++/+++ , agrupando las respuestas en RC vs otras respuestas y RC/RP vs no respuestas, sin encontrar entre las diferentes asociaciones ninguna diferencia significativa en cuanto a su relación con algún tipo de respuesta. Esto probablemente refleja que en nuestro enfermos la expresión del factor epidérmico no representa un parámetro relacionado con respuesta, o resistencia a la quimioterapia, pero si como veremos es un condicionante de supervivencia y tiempo a la recaída. Con respecto a estos parámetros (supervivencia global y tiempo a la recaída) vimos en el estudio univariante que la expresión de EGFR, que sobre todo la asociación entre ++/+++ y

su relación con la sobreexpresión de p53, eran claros factores predictivos de tiempo a la recaída, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, siendo la sobreexpresión del factor epidérmico ++/+++ junto con la localización del tumor primario, también factores predictivos de supervivencia en el análisis multivariante, por lo cual podemos pensar que cualquier terapia que pueda inhibir la expresión del factor epidérmico, podría hipotéticamente modificar la supervivencia..

En un interesante reporte realizado por Grandis y cols (265) determinaron la expresión de EGFR y su ligando, por técnicas de IHQ en 91 pacientes con tumores avanzados de cabeza y cuello de diferentes localizaciones tratados con cirugía. En esta serie todos los enfermos sobreexpresaron EGFR, siendo la expresión ++/+++ en la mayoría de ellos. Estudiaron mediante un análisis de regresión y longrank, la probabilidad que la sobreexpresión del factor epidérmico tuviera relación con la supervivencia y encontraron que tanto esta como la supervivencia libre de enfermedad estaba reducida en aquellos enfermos con altos niveles de EGFR y su ligando. En el análisis multivariante los niveles de EGFR y la localización de la enfermedad fueron estadísticamente significativos como predictores de supervivencia libre de enfermedad y causa específica de sobrevida, concluyendo que la determinación de EGFR puede identificar un subgrupo de enfermos con peor pronóstico con alto riesgo de recurrencia.

En otro reporte (266), se estudió la expresión de EGFR, Her2, Her3 y Her4 en 111 tumores de cavidad oral por técnicas de IHQ. Estos investigadores también observaron que la expresión de los factores epidérmicos, salvo Her4 se correlacionaron con la presencia de enfermedad nodal y las posibilidades de enfermedad a distancia, y que la sobreexpresión de ellos se asociaba a una reducción de la supervivencia, siendo todos los tumores incluidos de la región oral.

Ahora bien, porque es posible que una oncoproteína tenga tanta implicación en la supervivencia de estas patologías?. Como sabemos, EGFR es un inhibidor de Tirosin-Kinasa, expresados en una amplia variedad de tumores, sobre todo en carcinomas de cabeza y cuello. Sabemos que EGFR no solo esta implicado en la proliferación celular, si no también en una amplia variedad de procesos como son la angiogénesis, motilidad celular, adhesión celular y la capacidad de invasión y metástasis (267). Actualmente hay evidencia que la sobreexpresión de EGFR y su ligando (TGF) se correlacionan con la densidad microvascular, debido a que aparentemente estimulan la producción de VEGF, el cual esta directamente implicado en la producción de nuevos vasos sanguíneos alrededor del tumor, y por lo tanto es un importante estimulador de la angiogénesis (268). Se ha comprobado en xenografts que el anticuerpo monoclonal contra EGFR (C225) puede inhibir la producción de VEGF, lo cual en parte puede explicar la actividad de este nuevo fármaco(267).

Por otro lado también hay evidencias que implican a los factores epidérmicos en el control del ciclo celular(269). EGF ha demostrado inducir la producción de cyclin-D1, la cual es una proteína requerida para la progresión del ciclo celular desde la fase G1, pero la sobreexpresión del receptor no responde a su ligando en fase M del ciclo celular. Un inhibidor del EGFR como es el CP-358 ha demostrado su capacidad de bloquear el ciclo en fase G1 cuando se une a EGFR (270). En forma similar C225 induce arresto del ciclo celular en fase G1 por inhibición de ciclinas/quinasas a través de p27 (271). En base a una especulación propia, un esquema de quimioterapia en base a paclitaxel podría tener 2 sitios diferentes y potencialmente aditivos sobre el ciclo celular, si este fármaco se combinara con C225 que actuaría sobre la fase G1 del ciclo celular, actuando como sabemos taxol

sobre la fase G2/M, por lo cual hipotéticamente se potenciaría su acción antitumoral. En un reporte realizado por Karashima y cols (272), ellos sobre la base de que en carcinomas de próstata andrógenos-independientes EGFR regula la angiogénesis, el crecimiento tumoral, y la capacidad de progresión, evaluaron en ratones atómicos si el bloqueo de EGFR mediante C225 podría inhibir la capacidad de angiogénesis y el crecimiento tumoral. Células de carcinomas de próstata andrógenos-independientes fueron implantadas en ratones y estos fueron tratados posteriormente con C225 intraperitoneal 2 veces por semana y posteriormente recibieron paclitaxel una vez por semana. Observaron que los tumores tratados con C225 solo ($p < 0.05$) o con C225 mas paclitaxel ($p < 0.005$) presentaban una marcada reducción del crecimiento tumoral y de la capacidad de dar metástasis. Además se objetivo una reducción de IL-8 mRNA la cual se correlaciona con la densidad microvascular y angiogénesis. Ellos concluyeron que en carcinomas de próstata andrógenos-independientes, el tratamiento con C225 y paclitaxel inhibe la proliferación celular y la angiogénesis, incrementando la apoptosis, probablemente por incremento de p27, siendo esto mas importante cuando C225 se asoció a paclitaxel.

Se puede concluir que el bloqueo de EGFR mediante C225 implica una regulación en el ciclo celular y una capacidad de este anticuerpo de incrementar la sensibilidad a la quimioterapia y radioterapia. El bloqueo del ciclo celular mediado por C225 ocurre en la fase G1 y el daño producido por quimioterapia, por ejemplo paclitaxel, es típicamente durante la fase G2/M del ciclo. Mendelsohn (273) especula que las células tumorales mueren mas fácilmente si en su ciclo celular tienen dos checkpoint que pueden ser activados mediante el bloqueo de EGFR conjuntamente con quimioterapia. Sobre esta especulación podemos concluir que el tratamiento con C225 y paclitaxel, aunque por ahora no esta demostrado, podría tener un efecto

citotóxico, antiangiogénico, inhibir la progresión en el ciclo celular e inducir apoptosis.

Hay una extensa revisión realizada por Salomón y cols (274) sobre EGFR en diferentes tumores y su valor pronóstico. En un estudio en pacientes con carcinomas de vejiga (n=48) se demostró en el análisis multivariante que el status de EGFR se correlacionó con el riesgo de recurrencia (275). TGF fue expresado en el 60% de los tumores de esta serie y se correlacionó con el riesgo de muerte. En otra serie con carcinomas gástricos los pacientes que presentaban una expresión elevada de EGFR presentaron también un mayor riesgo de recurrencia y muerte (276).

En pacientes con carcinomas de mama también se ha demostrado la importancia de los factores epidérmicos. En una extensa revisión de 5232 pacientes con carcinomas de mama se demostró una asociación entre EGFR sobreexpresado y aneuploidia, peor grado histológico y pobre diferenciación (277).. En pacientes con ganglios axilares positivos se demostró que la sobreexpresión de EGFR influenciaba en la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.

En pacientes con carcinomas escamosos de pulmón también se demostró una asociación entre la expresión de EGFR y estadios avanzados de la enfermedad, presentando una peor supervivencia los pacientes con mayores niveles del factor epidérmico (278).

En una extensa serie de 108 pacientes con carcinomas de ovario, se demostró una peor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global en pacientes con altos niveles de EGFR, correlacionándose la elevada expresión con mayor resistencia a cisplatino (279).

Como podemos ver, no solo en nuestra serie y en los pacientes con carcinomas de cabeza y cuello, la sobreexpresión de EGFR representa un factor pronóstico adverso, tanto para supervivencia libre de enfermedad como para supervivencia global, si no que también es un parámetro desfavorable en otras neoplasias como carcinomas de vejiga, gástrico, ovario, mama, etc.

Probablemente, tal como se comentó anteriormente, EGFR intervenga no solo como un desencadenante en la activación de la vía de Tirosin-Kinasa, si no también se correlaciona con el ciclo celular, angiogénesis, progresión y apoptosis en una amplia variedad de tumores, siendo en la mayoría de ellos no solo un factor pronóstico, si no un nuevo target para el desarrollo de nuevas moléculas antitumorales tal como se comenta a continuación.

Inhibición de Epidermal Growth Factor Receptor:

Una variedad de métodos para inhibir EGFR o estimular su ligando se están desarrollando actualmente, los cuales incluyen inhibidores enzimáticos, oligonucleótidos antisense, anticuerpos monoclonales y proteínas de fusión. El mayor target es conseguir inhibir la actividad de tyrosine-kinase a través de la inhibición del factor epidérmico, objetivo hoy en día posible a mediante diferentes medicamentos. Dentro de ellos destaca el ZD1839, la cual es una molécula sintética de bajo peso perteneciente a la familia de las quinazoline, que ha demostrado in vivo e in vitro inhibir EGFR y la vía de tyrosine-kinase (280). Este compuesto oral es capaz de inhibir la autofosforilización de EGFR en línea celular de diferentes tumores como son los carcinomas de pulmón, cabeza y cuello, mama, etc, mostrando una buena biodisponibilidad oral, amplio espectro antitumoral y buena tolerancia (281).

Otro inhibidor de EGFR oral y derivado de quinazoline es el CP-358, el cual también actúa a través de tyrosine-kinase inhibiendo la autofosforilización del receptor (282). Este compuesto en desarrollo, es capaz de inhibir también el ciclo celular en fase G1 e iniciar apoptosis. Presenta en cultivos celulares una amplia actividad en diferentes tumores epiteliales.

Otro compuesto interesante es el CGP 59326, el cual in vitro es un potente inhibidor y además selectivo de EGFR (283). En modelos preclínicos este compuesto ha demostrado escasa toxicidad y en combinación con agentes citotóxicos ha conseguido erradicar tumores, estando actualmente en desarrollo clínico.

El desarrollo de oligonucleótidos antisense contra EGFR ha sido recientemente logrado a través de liposomas encapsulados, los cuales producen alteración en la morfología celular e inhibición de líneas celulares de carcinomas escamosos orales(284). Varios ensayos clínicos están en desarrollo con este abordaje de inhibición de EGFR, fundamentalmente en carcinomas de colon y cabeza y cuello.

Dentro del desarrollo de terapias específicas contra EGFR en tumores de cabeza y cuello, sin lugar a duda que los anticuerpos monoclonales son los que presentan hasta la fecha una mayor cantidad de ensayos en fases clínicas, sin tener claro todavía cuando deben aplicarse, pero demostrándose que son activos en esta enfermedad. Destaca C225, anticuerpo monoclonal quimérico contra EGFR el cual se une con alta afinidad a este receptor, bloqueando la activación de tyrosine-kinase y que es capaz de inhibir la proliferación celular de una amplia variedad de tumores en cultivos celulares, los cuales expresan este factor epidérmico (285). Además en modelos tumorales se ha constatado un incremento de la respuesta a la quimioterapia y radioterapia favorecidos por este anticuerpo (286).

Un estudio publicado por Robert y cols (285), demostró en pacientes con tumores localmente avanzados sin tratamiento previo que la asociación de C225 y radioterapia radical produjo remisiones en 16 enfermos tratados con esta combinación, logrando una remisión completa en 13 de ellos, en general con buena tolerancia, destacando astenia, reacciones cutáneas y elevación de transaminasas.

En otro ensayo reportado por Bonner y cols (287), empleando un panel de líneas celulares de tumores de cabeza y cuello, utilizaron la combinación de C225 y radioterapia, objetivando una reducción de la proliferación celular, la cual se correlacionó con una disminución de la fosforilización del receptor epidérmico y la activación de TK con un incremento importante de la apoptosis.

Shin y cols (288) realizaron un ensayo combinando C225 y Cisplatino en pacientes con tumores de cabeza y cuello recurrente con elevada expresión de EGFR.

Observaron en 12 pacientes evaluables un 67% de respuestas objetivas, incluyendo remisiones completas, con buena tolerancia, destacando solo como dato más importante las reacciones cutáneas.

Actualmente están en curso diferentes ensayos con C225 en combinación con Cisplatinato, Cisplatinato/FU, Radioterapia, en diferentes estadios de pacientes con tumores de cabeza y cuello, intentando definir su actividad tanto en primera línea como en pacientes refractarios, con datos hasta la fecha que demuestran actividad en esta enfermedad, pero sin estar aún definido Cuando se debe emplear y con que combinación de fármacos puede ser más activo, destacando que no hay ensayos en fases clínicas en combinación con Paclitaxel, el cual como se comentó previamente (272), puede tener un efecto sinérgico, al actuar en diferentes puntos del ciclo celular, favoreciendo una mayor apoptosis, quizá que Cisplatinato.

Probablemente en poco tiempo, C225 pueda formar parte del tratamiento estándar de enfermos con tumores de cabeza y cuello, tanto en combinación con quimioterapia, radioterapia o ambas, modificando la historia natural de esta enfermedad.

Queda todavía por definir el papel de otros inhibidores de EGFR en desarrollo clínico, principalmente aquellos administrados por vía oral, los cuales al inhibir una de las principales vías de activación de TK, puedan como agentes únicos o en combinación, también producir un cambio en la historia de los tumores de cabeza y cuello, en donde queda demostrado que la sobreexpresión de EGFR es un factor pronóstico claro de supervivencia, y unos de los principales target terapéuticos actuales.

CONCLUSIONES:

- Los tumores de cabeza y cuello comportan un heterogéneo grupo de enfermedades, donde el pronóstico, tratamiento y supervivencia se correlaciona con diferentes parámetros como son estadio, localización y nuevos factores moleculares.
- Pocos cambios hasta la fecha han sido aportados en la historia natural de esta enfermedad, tanto por la cirugía, quimioterapia, radioterapia, probablemente por la dificultad de definir grupos pronósticos.
- En este trabajo, hemos intentado definir el papel de un nuevo fármaco, Paclitaxel, el cual en combinación con Cisplatino/FU, ha demostrado un incremento, en comparación con controles históricos, tanto de la tasa de respuesta como de la supervivencia, quedando por clarificar su beneficio en ensayos randomizados, actualmente en curso.
- Hemos analizados diferentes parámetros clínicos y biológicos como factores pronósticos, demostrándose que la localización de la enfermedad, la presencia de una elevada expresión de EGFR, son en nuestra serie los dos factores pronósticos mas importantes tanto para tiempo a la recaída como supervivencia.
- La expresión de p53 en nuestra serie solo se correlacionó con la respuesta a quimioterapia, no siendo, como sucede en otras publicaciones, un factor predictivo de supervivencia.
- Probablemente EGFR sea el nuevo target sobre el cual podamos cambiar el curso y la supervivencia de los tumores de cabeza y cuello, en combinación con

radioterapia ó quimioterapia, que en base a los modelos preclínicos comentados, posiblemente la asociación entre el nuevo anticuerpo monoclonal C225 y paclitaxel, puedan aportar un mayor avance en el tratamiento de los tumores avanzados.

- En esta tesis hemos podido cumplir con los resultados de las hipótesis inicialmente planteadas, en cuanto hemos definidos claramente factores pronósticos de supervivencia, y además queda demostrada que una nueva quimioterapia, administrada dentro de la rigurosidad de un ensayo clínico, puede aportar un cambio en la evolución de esta enfermedad, la cual, como se comentó, en 2 décadas de diferentes estudios clínicos, la estabilidad” en la mejoría, ha sido el sello fundamental.
- Quedan muchos interrogantes: podemos cambiar la evolución de los tumores de cavidad oral?, es EGFR el único target sobre el que podemos actuar?, es paclitaxel el mejor fármaco en combinación?, que podemos esperar de la modificación en base a terapia génica de p53?, que utilidad tiene este oncogén en la práctica clínica?. Solo los ensayos clínicos podrán resolver estos interrogantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cancer of the head and Neck. D Sidransky. Cancer. Principles and Practice of Oncology, 6th Edition. Chapter 30, pag1-2. 2001.
2. Ankthil R, Mathew A, Joseph F. Is oral cancer susceptibility inherited ?. Eur J Oral Oncol 1996;32B:63.
3. Gorsky M, Littner M, Sukman Y. The prevalence of oral cancer in relation to the ethnic origin of the Jewish population. Oral Surg Oral med Oral Pathol 1994;78:408.
4. Cheng L, Sturgis EM, Eicher SA, et al. Glutathione S transferase polymorphisms and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. Int J Cancer, 1999;84:220.
5. Renan MJ. How many mutations are required for tumorigenesis?. Implications from human cancer data. Mol Carcinog 1993;7:139.
6. Van Dyke DL, Worsham MJ, Benninger MS, et al. Recurrent cytogenetic abnormalities in squamous cell carcinomas of the head and neck region. Genes Chromosomes Cancer 1994;9:192.
7. Cowan JM, Beckett MA, Weichselbaum RR. Chromosome changes characterizing in vitro response to radiation in human squamous cell carcinoma lines. Cancer Res 1993;53:5542.
8. Bishop JM. Molecular themes in oncogenes. Cell 1991;64:235.
9. Berenson JR, Yan J, Micke RA. Frequent amplification of the bcl-1 locus in head and neck squamous cell carcinomas. Oncogene 1989;4:1111.

10. Grandis JR, Tweardy DJ. Elevated levels of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Res* 1993;53:3579.
11. He Y, Zeng Q, Drenning SD, et al. Inhibition of human squamous cell carcinoma growth in vivo by epidermal growth factor receptor antisense RNA transcribed from the U6 promoter. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1080.
12. Chan G, Boyle JO, Yang EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 1999;59:991.
13. Garrigueantar L, Munozantonia T, Antonia SJ, et al. Missense mutations of the transforming growth factor beta type II receptor in human head and neck squamous cell. *Cancer Res* 1995;55:3982.
14. Lippman SM, Spitz MR, Huber MH, Hong WK. Strategies for chemoprevention study of premalignancy and second primary tumors in the head and neck. *Curr Opin Oncol* 1995;7:234.
15. Lotan R, Xu XC, Lippman SM, et al. Suppression of retinoic acid receptor-beta in premalignant oral lesions and its up-regulation by isotretinoin. *N Engl J Med* 1995;332:1405.
16. Nawroz H, van der Riet P, Hruban RH, et al. Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1994;54:1152.
17. van der Riet P, Nawroz H, Hruban RH, et al. Frequent loss of chromosome 9p21-22 early in head and cancer progression. *Cancer Res* 1994;54:1156.
18. Kamb A, Gruis NA, Weaver J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 1994;264:436.

19. Liggett WH, Sewell DA, Rocco J, et al. p16 and p16beta are potent growth suppressors of head and neck squamous carcinoma cells in vitro. *Cancer Res* 1996;56:4119.
20. Maestro R, Gasparotto D. Three discrete regions of deletion in head and neck cancer. *Cancer Res* 1993;53:5775.
21. Boyle JO, Koch W, Hruban RH, et al. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res* 1993;53:4477.
22. Califano J, van der riet P, Westra W, et al. A genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 1996;56:2488.
23. Slaughter DL, Southwick HW, Smejkal W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium: clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953;6:963.
24. Sidransky D, Preisinger AC, Frost P, et al. Clonal origin of metachronous tumors of the bladder. *N Engl J Med* 1992;326:737.
25. Cairns P, Polascik TJ, Eby Y, et al. Frequency of homozygous deletion at p16/CDKN2 in primary human tumours. *Nat Genet* 1995;11:210-2.
26. Reed A, Califano J, Cairns P, et al. High frequency of p16/CDKN2/MTS-1/INK4A inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1996;56:3630-3.
27. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.

28. Jares P, Fernandez PL, Campo E, et al. PRAD-1/cyclin D1 gene amplification correlates with messenger RNA overexpression and tumor progression in human laryngeal carcinomas. *Cancer Res* 1994;54:4813-7.
29. Rosin MP, Cheng X, Poh C, et al. Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia. *Clin Cancer Res* 2000;6:357-62.
30. Boyle JO, Koch W, Hruban RH, et al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in head and neck squamous carcinoma. *N Engl J Med* 1995;332:712.
31. Gillison ML, Koch WM, Spafford M, et al. Causal association between human papillomavirus and subset of head and neck cancers. *JNCI* (in press).
32. Sidransky D. Molecular genetics of head and neck cancer. *Current Opinion in Oncology* 1995, 7:229-233.
33. Lippman S, Bassford T, Meyskens F. A quantitatively scored cancer-risk assessment tool: its development and use. *J Cancer Education*, 7:15, 1992.
34. Chaudhy NA, Jafarey NA, Ibrahim K. Plasma vitamin A and carotene levels in relations to the clinical stages of carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *JPMA*, 30:221, 1980.
35. Graham S. Epidemiology of retinoids and cancer. *J Natl Cancer Inst*, 73:1423, 1984.
36. Winn D, Ziegler R, Pickle L. Diet in the etiology of oral and pharyngeal cancer among women from the southern United States. *Cancer Res* 44:1216, 1984.
37. Sidransky D, Tokino T, Frost P, et al. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. *Science* 1992; 256:102.

38. Sidransky D, Von Eschenbach A, Tsai YC, et al. Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science* 1991; 252:706.
39. Mao L, El-Naggar AK, Fan YH, et al. Telomerase activity in head neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues. *Cancer Res* 1996;56:5600.
40. Jacobsson P, Killander D, Moberger G, et al. Histologisk klassifikation och malignitets gradering vid larynx cancer. *Proc Swedish Soc Med Radiol* March 11, 1972.
41. Byrne M, Koppang HS, Lilling R, et al. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broder's grading in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Path Oral Med* 1989;18:432.
42. Pindborg JJ. Oral precancer. In: Branes L, ed. *Surgical pathology of the head and neck*. Vol 1. New York: Marcel Dekker, 1985:279.
43. Mincer HH, Coleman SA, Hopkins KP. Observations on the clinical characteristics of oral lesions showing histologic epithelial dysplasia. *Oral Surg* 1972;33:389.
44. Piccirillo JF. Purposes , problems, and proposals for purposes in cancer staging. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121:145.
45. Goodwin WJ, Byers PM. Nutritional management of the head and neck cancer patient. *Med Clin North Am* 1993;77:597.
46. Byers RM, Wolf PF, Ballantyne AJ. Rationale for elective modified neck dissection. *Head Neck Surg* 1988;10:160.
47. Lydiatt WJ, Spiro RH, Strong EW, et al. Treatment of Stage I and II oral tongue cancer. *Head Neck* 1993;15:308.
48. Merlano M, Benasso M, Corvo R, et al. Alternating radiotherapy and chemotherapy with cisplatin and 5-fluoruracil for advanced inoperable head

- and neck squamous cell carcinoma: the 5-years update of a randomised trial from the National Institute for Cancer research of Genoa. J Natl Cancer Institute (in press).
49. Mitchell MS, Wawro NW, Deconti RC, et al. Effectiveness of high-dose infusion of methotrexate followed by leucovorin in carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 1968;28:108.
 50. Al-Sarraf M. Chemotherapeutic management of head and neck cancer. *Cancer Metast Rev* 1987;6:191.
 51. Schrijvers D, Vermonken JB. Update on the taxoids and other new agents in head and neck cancer therapy. *Curr Opin Oncol* 1998;10:233.
 52. Uen WC, Huang AT, Mennel R, et al. A phase II study of piritrexim in patients with advanced squamous head and neck cancer. *Cancer* 1992;69:1008.
 53. Vokes EE, Dimery IW, Jacobs CD, et al. A phase II study of piritrexim in combination with methotrexate in recurrent and metastatic head and neck cancer. *Cancer* 1991;67:2253.
 54. Browman GP, Cronin L. Standard chemotherapy in squamous cell head and neck cancer: what we have learned from randomised trials. *Semin Oncol* 1994;21:311.
 55. Veronesi A, Zagonel V, Rirelli U, et al. High dose versus low dose cisplatin in advanced head and neck squamous carcinoma. A randomised study. *J Clin Oncol* 1985;3:1105.
 56. Al –Sarraf M. Management strategies in head and neck cancer:the role of carboplatin. In : Bunns PA, Canetta R, Ozols PF. Current perspectives and future directions. Philadelphia: Saunders, 1990.

57. Verweij J, Clavel M, Chevalier B. Paclitaxel and docetaxel: not simply two of a kind. *Ann Oncol* 1994;5:495.
58. Forastiere AA, Shank D, Neuberg D, et al. Final report of a phase II evaluation of paclitaxel in patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 1998;82:2270.
59. Couteau C, Chouaki N, Leyvraz S, et al. A phase II study of docetaxel in patients with metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Br J Cancer* 1999;81:457.
60. Catimel G, Verweij J, Mattijssen V, et al. Docetaxel (Taxotere): an active drug for the treatment of patients with advanced squamous cell carcinomas of the head and neck. *Ann Oncol* 1994;5:533.
61. Catimel G, Vermonken JB, Clavel M, et al. A phase II study of Gemcitabine in patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 1994;5:543.
62. Degardin M, Bastit PH, Rolland F, et al. Phase II study of vinorelbine in patients with metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *Eur J Cancer* 1997;33: s187.
63. Smith R, Lew D, Rodriguez G, et al. Evaluation of topotecan in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. A phase II Southwest Oncology group study. *Invest New Drugs* 1996;14:403.
64. Kish JA, Weaver A, Jacobs J, et al. Cisplatin and 5-fluorouracil infusion in patients with recurrent and disseminated epidermoid cancer of the head and neck. *Cancer* 1984;53:1819.

65. Urba SG, Forastiere AA. Systemic therapy of head and neck cancer: most effective agents, areas of promise. *Oncology* 1989;3:79.
66. Jacobs C, Lyman G, Velez-García E, et al. A phase III randomized study comparing cisplatin and fluoruracil as single agents and in combination for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 1992;10:1245.
67. Forastiere A, Metch B, Schuller D, et al. Randomized comparasion of cisplatin and 5-fluoruracil versus carboplatin+5-FU versus methotrexate in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 1992;10:1245.
68. Clavel M, Vermonken JB, Cognetti F, et al. Randomized comparison of cisplatin, methotrexato, bleomycin and vincristine (CABO) versus cisplatin and 5-fluoruracil (CF) versus cisplatin © in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 1994;5:521.
69. Department of Veterans Affairs Laryngeal Study Group. Induction chemotherapy plus radiation compared with advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1685.
70. Lefebvre JL, Chevalier D, Lumbomsky B, et al. Larynx preservation in hypopharynx and lateral epilarynx cancer: preliminary results of EORTC randomised phase III trial 24891. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:890.
71. Kish JA, Ensley JF, Weaver A, et al. Improvement of complete response rate to induction adjuvant chemotherapy for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Treat Rep.* 1982;66:471.
72. Tavorath R, Pfister DG. Chemotherapy for recurrent disease and combined modality therapies for head and neck cancer. *Curr Opin Oncol* 1995; 7:242.

73. Vokes EE, Schilsky RL, Weichselbaum RR, et al. Induction chemotherapy with cisplatin, fluorouracil, and high-dose leucovorin for locally advanced head and neck cancer: a clinical and pharmacologic analysis. *J Clin Oncol* 1990;8:241.
74. Colevas AD, Busse PM, Norris CM, et al. Induction chemotherapy with docetaxel, cisplatin, fluorouracil, and leucovorin for squamous cell carcinoma of the head and neck: a phase I/II trial. *J Clin Oncol* 1998;16:1331.
75. Dimery IW, Hong WK. Overview of combined modality therapies for head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:95.
76. Aisner J, Hiponia D, Conley B, et al. Combined modalities in the treatment of head and neck cancers. *Semin Oncol* 1995;22:28.
77. Domenge C, Coche-Dequeant B, Wibault P, et al. Randomized trial of neoadjuvant chemotherapy before radiotherapy in oropharyngeal carcinoma. *Proceeding of the Fourth International Conference on head and Neck Cancer*. 1996;99.
78. Hasegawa Y, Matsuura H, Fukushima , et al. Randomized trial of neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and 5-FU in advanced head and neck cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1994;13:286.
79. Paccagnella A, Orlando A, Marchlori C, et al. A phase III trial of initial chemotherapy in stage III or IV head and neck cancer. A study by the gruppo di studio sui tumori della testa e del collo. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:265.
80. Fu KK, Phillips TL. Biologic rationale of combined radiotherapy and chemotherapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1991;5:737.

81. Pignon JP, Bourhis J, Domenge C, et al. Chemotherapy as an adjunct to definitive locoregional treatment for head and neck squamous cell carcinoma: results of three meta-analysis using updated individual data. *Lancet* 2000;355:949.
82. Forastiere AA. Cisplatin and radiotherapy in the management of locally advanced head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993;27:465.
83. Haselow RE, Warshaw MC, Oken MM, et al. Radiation alone versus radiation with weekly low dose cis-platin in unresectable cancer of the head and neck. *Head Neck Cancer* 1990;2:279.
84. Al-Sarraf M, LeBlanc M, GiriPG, et al. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomized Intergroup study 0099. *J Clin Oncol* 1998;16:1310.
85. Lotan R. Retinoids in cancer chemoprevention. *FASEB J* 1996;10:1031.
86. Kolla V, Lindner DJ, Xiao W, et al. Modulation of interferon inducible gene expresión by retinoic acid. A phase II trial from the MD Anderson Cancer Center reported pathologic complete response in 10 of 30 patients at 6 months and partial response in 7 patients. *J Biol Chem* 1996;271:10508.
87. Lippman SM, Batsakis JG, Toth BB, et al. Comparison of low-dose isotretinoin with beta carotene to prevent oral carcinogenesis. *N Engl J Med* 1993;328:15.
88. Costa A, Formelli F, Chiesa F, et al. Prospects of chemoprevention of human cancers with the synthetic retinoid fenretinide. *Cancer Res* 1994;54:2032.

89. Papadimitrakopoulou VA, Clayman GL, Shin DM, et al.
Biochemoprevention for dysplastic lesions of the upper aerodigestive tract.
Arch Otolaryngol Head neck Surg 1999;125:1083.
90. Cooper JS, Pajak TF, Rubin P, et al. Second malignancies in patients who
have head and neck cancer: incidence, effect on survival and implications
for chemoprevention based on the RTOG experience . Int J Radiat Oncol
Biol Phys 1989;17:449.
91. Hong WK, Lippman SM, Itri LM, et al. Prevention of second primary
tumors with isotretinoin in squamous cell carcinoma of the head and neck.
N Engl J Med 1990;323:795.
92. Menck HR, Garfinkel L , Dodd GD. Preliminary report of the National
Cancer Data Base. CA Cancer Clin J 1991;41:7.
93. Wynder EL, Stellman SD. Impact of long-term filter cigarette usage on lung
and larynx cancer risk. A case-control study. J Natl Cancer Inst
1979;62:471.
94. Schantz SP, Hsu TC. Head and neck cancer patients express increased
clastogen-induced chromosome fragility. Head Neck 1989,11:337.
95. German J, ed. Chromosome mutation and neoplasia. New York: Alan R.
Liss, 1993.
96. McLaughlin JK, Gridley G, Block G, et al. Dietary factors in oral and
pharyngeal cancer. J Natl Cancer Inst 1988;80:1237.
97. Donald PJ. Marijuana smoking-possible cause of head and neck carcinoma
in young patients. Otolaryngol Head Neck Surg 1986;94:517.
98. DeVilliers EM, Weidauer H, Otta H, et al. Papillomavirus DNA in human
tongue carcinomas. Int J Cancer 1985;36:575.

99. Menck HR, Garfinkel L , Dodd GD. Preliminary report of the National Cancer Data Base. *CA Cancer Clin J* 1991;41:7.
100. Baker SR. Risk factors in multiple carcinoma of the lip. *Otolaryngol head Neck Surg* 1988;88:248.
101. Berger HM, Goldman R, Gonick HC, Waisman J. Epidermoid carcinoma of the lip after renal transplantation: report of two cases. *Arch Intern Med* 1971;128:609.
102. Sack JG, Ford CN. Metastatic squamous cell carcinomas of the lip. *Arch Otolaryngol* 1978;104:282.
103. Heller KS, Shah JP. Carcinoma of the lip. *Am J Surg* 1979;138:600.
104. Shantz S, Harrison L, Forastiere A. Tumors of the nasal cavity, and paranasal sinuses, nasopharynx, oral cavity, and oropharynx. *Cancer: Principles and practice of oncology*, Chapter 30, 6th Edition.
105. Suen JY. Management of the N0 neck. *Proceedings of the Fourth International Conference on Head and Neck Cancer*. The Society of head and Neck Surgeons and American Society of Head and Neck Surgery. Toronto. Madison, WI: Omnipres, 1996:557.
106. Lindberg R. Distribution of cervical lymph node metastases from squamous cell carcinomas of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer* 1972;29:1446.
107. Yuen AP, Wei WI, Lam LK, Ho WK, Kwong D. Results of surgical salvage of locoregional recurrence of carcinomas of the tongue after radiotherapy failure . *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997;106:779.
108. *Cancers of the oral cavity and pharynx: a statistics review monograph 1973-1987*. U.S. Department of Health and Human Services.

109. Sessions DG. Surgical resection and reconstruction for cancer of the base of tongue. *Otolaryngol Clin North Am* 1983;16:309.
110. Wynder E, Bross I, Day E. Epidemiological approach to the etiology of cancer of the larynx. *JAMA* 1956;160:1384.
111. Segi M. Age-adjusted death rates for cancer for selected sites in 46 countries in 1977. Tokyo: Segi Institute For Cancer Epidemiology , 1982:13.
112. Clinical evaluation of the larynx. In: Thawley S, Panje W, Batsakis J, Lindberg R, eds. *Comprehensive management of head and neck tumors*, vol 1. Philadelphia: WB Saunders, 1987:874.
113. Munck-Wirland E, Krylenstierna R, Lindholm J, Amer G. Image cytometry DNA analysis of dysplastic squamous epithelial lesions of the larynx. *Anticancer Res* 1991;11:597.
114. McGavran M, Bauer W, Ogura J. The incidence of cervical lymph node metastases from epidermoid carcinoma of the larynx and their relationship to certain characteristics of the primary tumor. *Cancer* 1961;14:55.
115. Spiro R, Alfonso A, Farr H, Strong E. Cervical node metastases for epidermoid carcinoma: a critical assessment of current staging. *Am J Surg*; 128:566.
116. Kirchner J, Cornog J, Holmes R. Transglottic cancer: its growth and spread within the larynx. *Arch otolaryngol* 1974;99:247.
117. Crissman J. Laryngeal keratosis and subsequent carcinoma. *Head neck surg* 1979;1:386.
118. Som M. Conservation surgery for carcinoma of the supraglottis. *J Laryngol Otol* 1970;84:655.

119. Sessions D, Ogura J, Fried M. Laryngeal carcinoma involving anterior commissure and subglottis. In: Alberti P, Bryce D, eds. Workshops from the Centennial Conference on Laryngeal Cancer. East Norwalk , CT: Appleton-Century-Crofts, 1976:674.
120. Stell P. The subglottic space. In: Albert P, Bryce D, eds. Workshops from the Centennial Conference on Laryngeal Cancer. East Norwalk , CT: Appleton-Century-Crofts, 1976:674.
121. Spriano G, Antognoni P, Piantanida R, et al. Coservative management of T1-T2N0 supraglottic cancer. *Am J Otolaryngol* 1997;18:299.
122. Bradford CR, Wolf GT, Fisher SG, McClatchey KD. Prognostic importance of surgical margins in advanced laryngeal squamous carcinoma. *Head neck* 1996;18:11.
123. Wolf GT, Forastiere A, Ang K, et al. Workshop report: organ preservation strategies in advanced head and neck cancer—current status and future directios. *Head Neck* 1999;21:689.
124. Biller H, BarnhillF, Ogura J, Perez C. Hemilaryngectomy following radiation failure for carcinoma of the vocal cords. *Laryngoscope* 1970;80:249.
125. Adelstein DJ, Adams GL, Li Y, et al. A phase II comparison of standard radiation therapy (RT) versus RT plus concurrent DDP and 5-fluouracil in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer: an intergroup study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000.
126. Weaver A, Fleming S, Ensley J, et al. Superior clinical response and survival rates with initial bolus of cisplatin and 120 hour infusion of

- 5-fluorouracil before definitive therapy for locally advanced head and neck cancer. *Am J Surg* 1984;148:525.
127. Ensley J, Jacobs J, Weaver A, et al. Correlation between response to cisplatin combination chemotherapy and subsequent radiotherapy in previously untreated patients with advanced squamous cell cancers of the head and neck. *Cancer* 1984;54:811.
128. Wolf GT, Hong WK, Fisher S, et al. Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. The Departments of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study Group. *N Engl J Med* 1991;324:1685.
129. Bradford CF, Wolf GT, Carey TE, et al. Predictive markers for response to chemotherapy, organ preservation, and survival in patients with advanced laryngeal carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;121:534.
130. Lefevbre JL, Chevalier D, Lubonisky B, et al. Larynx preservation in pyriform sinus cancer. Preliminary results of a European Organization for Research and Treatment of Cancer phase III trial. EORTC Head and Neck Cancer Cooperative Group. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:890.
131. Lefevbre J, Wolf G, Luboinnski B. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): (2) larynx preservation using neoadjuvant chemotherapy in laryngeal and hypopharyngeal carcinoma. *Am Soc Clin Oncol* 1998;17:382a.
132. Adelstein DJ. Induction chemotherapy in head and neck cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999;13:689.
133. Adelstein DJ, Adams GL, Li Y, et al. A phase II comparison of standard radiation therapy (RT) versus RT plus concurrent DDP and 5-fluorouracil in

- patients with unresectable squamous cell head and neck cancer: an intergroup study. Proc Am Soc Clin Oncol 2000.
134. Brizel DM, Albers ME, Fisher SR, et al. Hyperfractionated irradiation with or without concurrent chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. N Engl J Med 1998;338:1798.
135. Merlano M, Vitale V, Rosso R, et al. Treatment of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck with alternating chemotherapy and radiotherapy. N Engl J Med 1992;327:1115.
136. Cunningham M, Catlin D. Cancer of the pharyngeal wall. Cancer 1967;20:1859.
137. Lindberg R. Distribution of cervical lymph nodes from squamous cell carcinoma of upper respiratory and digestive tracts. Cancer 1972;29:1446.
138. Shah J, Shasha A, Spiro R, Strong E. Carcinoma of the hypopharynx. Am J Surg 1976;132:439.
139. Donald P, Haves H, Dhalival R. Combined treatment for pyriform sinus cancer using postoperative irradiation. Otolaryngol Head Neck Surg 1980;88:738.
140. Urba S. Head and Neck Cancer. Hematology Oncology Clinics of North America. Vol 13, N° 4, 1999.
141. Al-sarraf M, Kish JA, Ensley JF: The Wayne State University experience with adjuvant chemotherapy of head and neck cancer. Hematol Oncol North Am, 5:687-700,1991.
142. Tannock IF, Browman G: Lack of evidence for a role of chemotherapy in the routine management of locally advanced head and neck cancer. J Clin Oncol 1986;4:1121.

143. Clark JR, Fallon BG, Dreyfuss AI, et al: Chemotherapy strategies in the multidisciplinary treatment of head and neck cancer. *Semin Oncol* 15, 1988; suppl 3:35.
144. Clark JR, Frei E: Chemotherapy for head and neck cancer: Progress and controversy in the management of patients with Mo disease. *Semin Oncol*, 1989;suppl 6:44.
145. Ensley JF, Jacobs JR, Weaver A, et al: Correlation between response to cisplatin combination chemotherapy and subsequent radiotherapy in previously untreated patients with advanced squamous cell cancers of the head and neck. *Cancer* 1984;54:811.
146. Ervin TJ, Clark JR, Weichselbaum RR, et al: An analysis of induction and adjuvant chemotherapy in the multidisciplinary treatment of squamous-cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 1987;5:10.
147. Ensley JF, Maciorowski Z: Clinical applications of DNA content parameters in patients with squamous cell carcinomas of the head and neck. *Semin Oncol* 1994;21:330.
148. DiBlasio B, Barbieri W, Bozzetti A, et al: A prospective randomised trial in respectable head and neck carcinoma: Loco-regional treatment with and without neoadjuvant chemotherapy. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1994;13:279.
149. Hasegawa Y, Matsuura H, Fukushima M, et al: A randomised trial of neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and 5FU in advanced head and neck cancer. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1994;13:286.

150. Paccagnella A, Orlando A, Marchiori C, et al: Phase III trial of initial chemotherapy in stage III or IV head and neck cancer: A study by the Gruppo di Studio sui Tumori della Testa e del Collo. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:265.
151. Dalley D, Beller E, Aroney R, et al: The values chemotherapy prior to definitive local therapy in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1995;14:297.
152. Domenge C, Coche-Dequeant B, Wibault P, et al: Randomized trial of neoadjuvant chemotherapy before radiotherapy in oropharyngeal carcinoma. *Proceedings of the Fourth International Conference on Head and neck Cancer, Toronto, Canada* 1996,p99.
153. Harari PM: Why has induction chemotherapy for advanced head and neck cancer become a United State community standard of practice?. *J Clin Oncol* 1997;15:2050.
154. Schrijvers D, Vermonken J. Update on the taxoids and other new agents in head and neck cancer therapy. *Current Opinion in Oncology* 1998, 10:233.
155. Basu A, Haldar S. The relationship between Bcl-2, Bax and p53: consequences for cell cycle progression and cell death. *Mol Hum Reprod* 1998;4:1099.
156. Kawakami K, Tsukuda M, Mizuno H, et al. Alteration of the Bcl-2/bax status of head and neck cancer cell lines by chemotherapeutic agents. *Anticancer res* 1999;19:3927.

157. Dunphy C, Dunphy F, Boyd J, et al: Expression of p53 protein in advanced head and neck squamous cell carcinoma before and after chemotherapy. *Arch otolaryngol head and neck Surg* 1997;123:1223.
158. Griffon EG, Merlim JL, Marchal C. In vitro evaluation of taxol combined with radiation in human squamous cell carcinoma spheroids. *Cancer Lett* 1996;109:23.
159. Horwitz S. Taxol mechanism of action. *Ann Oncol* 1994;5:53.
160. Roy S, Horwitz A. A phosphoglycoprotein associated with taxol-resistance in J7742 cells. *Cancer res* 1985;45:3856.
161. Horwitz S, Cohen D, Rao S, et al. Taxol mechanisms of action and resistance. *J Natl Cancer Inst* 1993;15:55.
162. Arbuck S, Blaylock B. Taxol : clinical results and current issues in development. In: M. Suffness (ed). *Taxol: Science and Applications* 1995;379.
163. Smith R, Thornton D, Allen J. A phase II trial of paclitaxel in squamous cell carcinoma of the head and neck with correlative studies. *Semin Oncol* 1995;22:41.
164. Gebbia , Testa A, Cannata G, et al. Single agent paclitaxel in advanced squamous cell head and neck carcinoma. *Eur J Cancer* 1996;32:901.
165. Forastiere A, Shank D, Neuberg D, et al. Final report of a phase II evaluation of paclitaxel in patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: an Eastern Cooperative Oncology Group trial (PA390). *Cancer* 1998;82:2270.
166. Fraci G, Comella P, Parziale A, et al. Cisplatin-paclitaxel weekly schedule in advanced solid tumors: a phase I study. *Ann Oncol* 1997;8:291.

167. Schilling T, Heinrich B, Kau R, et al. Paclitaxel administered over 3 h followed cisplatin in patients with advanced head and neck squamous cell carcinoma: a clinical phase I study. *Oncology* 1997;54:89.
168. Hitt R, Hornedo J, Colomer R, et al. Study of escalating doses of paclitaxel plus cisplatin in patients with inoperable head and neck cancer. *Semin Oncol* 1997;24 (suppl 2) :58.
169. Adamo V, Maisano R, Laudani A, et al. Phase II study paclitaxel and cisplatin in advanced and recurrent head and neck cancer. *Eur J Cancer* 1999;35 (suppl 4):178.
170. Thodmann F, Theiss F, Kemmerich M, et al. Clinical phase I evaluation of paclitaxel in combination with cisplatin in metastatic or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 1998;9:335.
171. Dunphy FR, Boyd JH, Kim HJ, et al. A phase I report of paclitaxel dose escalation combined with a fixed dose of carboplatin in the treatment of head and neck carcinoma. *Cancer* 1997;79:2016.
172. Fountzilas G, Skarlos D, Athanassiades A, et al. Paclitaxel by three-hour infusion and carboplatin in advanced carcinoma of nasopharynx and other sites of head and neck. A phase II study conducted by Hellenic Cooperative Oncology Group. *Ann Oncol* 1997;8:45.
173. Forastiere AA, Leong T, Rowinsky E, et al. Phase III comparison of high dose paclitaxel + cisplatin + granulocyte colony stimulating factor versus low dose paclitaxel + cisplatin in advanced head and neck cancer: Eastern Cooperative Oncology Group Study E 1393. *J Clin Oncol* 2001; vol 19 N° 4:1088.

174. Hitt R, Paz-Ares L, Brandariz A, et al. Long term follow up a phase II study of paclitaxel+ cisplatin+5FU in locally advanced head and neck cancer. *Ann Oncol* (in press).
175. Quon H, Liu F, Cummings J. Potential molecular prognostic markers in head and neck squamous cell carcinomas. *Head & Neck*, 2001;147.
176. Van denBogaert W, van der Schueren E, Horiot JC, et al. The EORTC randomized trial on three fractions per day and misonidazole in advanced head and neck cancer:prognostic factors. *Radiother Oncol* 1995;35:100.
177. Overgaard J, Hansen HS, Overgaard M, et al. A randomised double-blind phase III study of nimorazole as a hypoxic radiosensitizer of primary radiotherapy in supraglottic larynx and pharynx carcinoma. Results of the Danish Head and Neck Cancer Study Group (DHANCA) Protocol 5-85. *Radiother Oncol* 1998;46:135.
178. Fu KK, Hammond E, Pajak TF, et al. Flow cytometric quantification of the proliferation-associated nuclear antigen p 105 and DNA content in advanced head & neck cancers:results of RTOG 91-08. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;29:661.
179. Jones AS. Prognosis in mouth cancer:tumour factors. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1994;30B:8.
180. Cook JA, Jones AS, Phillips DE, et al. Implications of tumour in resection margins following surgical treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Otolaryngol* 1993;18:37.
181. Gangopadhyay S, Abraham J, Lin Y, et al. The tumour suppressor gene p53. In : Peters KVG, editor. *Frontiers in molecular biology*. New York: Oxford University Press:1997.

182. Sioniv RV, Haupt Y. The cellular response to p53:the decision between life and death. *Oncogene* 1999;18:6145.
183. Sugerman PB, Joseph BK, Savage NW. Review article: the role of oncogenes, tumour suppressor genes and growth factors in oral squamous cell carcinomas: a case of apoptosis versus proliferation. *Oral Dis* 1995;1:172.
184. Ding HF, Fisher DE. Mechanisms of p53-mediated apoptosis. *Crit Rev Oncol* 1998;9:83.
185. Bristow RG, Benchimol S, Hill RP. The p53 gene as a modifier of intrinsic radiosensitivity: implications for radiotherapy. *Radiother Oncol* 1996;40:197.
186. Peller S. Clinical implications of p53:effect on prognosis tumor progression and chemotherapy response. *Semin Cancer Biol* 1998;8:379.
187. Taylor D, Koch WM, Zahurak M, et al. Immunohistochemical detection of p53 protein accumulation in head and neck cancer:correlation with p53 gene alterations. *Hum Pathol* 1999;30:1221.
188. Shin HJ, Kalapurakal SK, Lee JJ, et al. Comparison of p53 immunoreactivity in fresh-cut versus stored slides with and without microwave heating. *Mol Pathol* 1997;10:224.
189. Pavelic ZP, Portugal LG, Gootee MJ, et al. Retrieval of p 53 protein in paraffin-embedded head and neck tumor tissues. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;119:1206.
190. Saunders ME, MacKenzie R, Shipman R, et al. Patterns of p53 gene mutations in head and neck cancer:full-length gene sequencing and results of primary radiotherapy. *Clin Cancer Res* 1999;5:2455.

191. Oveergaard J, Sorensen SB, Stausbol-Gron B, et al. TP53 mutation is an independent prognostic marker for poor outcome of radiotherapy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;42:43.
192. Raybaud-Diogene H, Fortin A, Morency R, et al. Markers of radioresistance in squamous cell carcinomas of the head and neck: A clinicopathologic and immunohistochemical study. *J Clin Oncol* 1997;15:1030.
193. Pai HH, Rochon L, Clark B, et al. Overexpression of p53 protein does not predict local-regional control or survival in patients with early-stage squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;41:37.
194. Awwad S, Jaros E, Somes J, et al. P53 overexpression in head and neck carcinoma and radiotherapy results. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 1996;34:3232.
195. Jin YT, Kayser S, Kemp BL, et al. The prognostic significance of the biomarkers p21/WAF1/CIP1, p53, and bcl-2 in laryngeal squamous cell carcinomas. *Cancer* 1998;82:2159.
196. Caminero DM, Nuñez F, Suarez C et al. Detection of p53 protein in oropharyngeal carcinoma. Prognostic implications. *Arch Otolaryngol Head Neck Sug* 1996;122:769.
197. Shin DM, Lee JS, Lippman SM, et al. p53 expressions:predicting recurrence and second primary tumors in head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:519.

198. Koch WM, Brennan JA, Zahurak M, et al. p53 mutation and locoregional treatment failure in head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1580.
199. Modjtahedi H, Dean C. The receptor for EGF and its ligands: Expression, prognostic value and target for therapy in cancer (review). *Int J Oncol* 1994;4:277.
200. Zanke B. Growth factors and intracellular signalling. In: Tannock IF, Hill RP, editors. *The basic science of oncology*. New York: Mc Graw-Hill;1998.
201. Wen QH, Miwa T, Yoshizaki T, et al. Prognostic value of EGFR and TGF alpha in early laryngeal cancer treated with radiotherapy. *Laryngoscope* 1996;106:884.
202. Miyaguchi M, Olofsson J, Hellquist HB. Expression of epidermal growth factor receptor in glottic carcinoma and its relation to recurrence after radiotherapy. *Clin otolaryngol* 1991;16:466.
203. Maurizi M, Scambia G, Benedetti Panici P, et al. EGF receptor expression in primary laryngeal cancer: correlation with clinico-pathological features and prognostic significance. *Int J Cancer* 1992;52:862.
204. Dasonville O, Formento JL, Francoual M, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and survival in upper aerodigestive tract cancer. *J Clin Oncol* 1993;11:1873.
205. Grandis JR, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGF-alpha and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:824.

206. Dassonville O, Formento JL, Francoual M, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and survival in upper aerodigestive tract cancer. *J Clin Oncol* 1993;11:1873.
207. Slingerland JAT. Cell proliferation and cell death. In: Tannock IF, Hill RP, editors. *The basic science of oncology*. New York: McGraw-Hill;1998.
208. Akervall JA, Michalides RJ, Mineta H, et al. Amplification of cyclin D1 in squamous cell carcinoma of the head and neck and the prognostic value of chromosomal abnormalities and cyclin D1 overexpression. *Cancer* 1997;79:380.
209. Fracchiolla NS, Pignataro L, Capaccio P, et al. Multiple genetic lesions in laryngeal squamous cell carcinomas. *Cancer* 1995;75:1292.
210. Masuda M, Hirakawa N, Nakashima T, et al. Cyclin D1 overexpression in primary hypopharyngeal carcinomas. *Cancer* 1996;78:390.
211. Pignataro L, Pruneri G, Carboni N, et al. Clinical relevance of cyclin D1 protein overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1998;16:3069.
212. Michalides RJ, van Veelen NM, Kristel PM, et al. Overexpression of cyclin D1 indicates a poor prognosis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123:497.
213. Clayman GL, el-Naggar AK, Lippman SM, et al. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Oncol* 1998;16:2221.
214. Pirollo KF, Hao Z, Rait A, et al. p53 mediated sensitisation of squamous cell carcinomas of the head and neck to radiotherapy. *Oncogene* 1997;14:1735.

215. Xu L, Pirollo KF, Rait A, et al. Systemic p53 gene therapy in combination with radiation results in human tumor regression. *Tumor targeting* 1999;4:92.
216. Fan Z, Mendelsohn J. Therapeutic application of antigrowth factor receptor antibodies. *Curr Opin Oncol* 1998;10:67.
217. Mendelsohn J, Shin DM, Donato N, et al. A phase I study of chimerized anti-epidermal growth factor receptor (EGFf) monoclonal antibody, C225, in combination with cisplatin (CDDP) in patients with recurrent head and neck squamous cell carcinoma (SCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:389a.
218. Ezekiel MP, Bonner JA, Robert F, et al. Phase I trial of chimerized anti-epidermal growth factor antibody in combination with either once-daily or twice-daily irradiation for locally advanced head and neck malignancies. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:388a.
219. Whal A, Donaldson K, Fairchil C, et al. Loss of normal p53 function confers sensitisation to taxol by increasing G2/M arrest and apoptosis. *Nature Medicine*, 1996;2:72.
220. Donaldson K, Goolsby GL, Kiener PA, et al. Activation of p34 coincident with taxol-induced apoptosis. *Cell Growth Diff*, 1994;5:1041.
221. Fan S, Cherney B, Reinhold W, et al. Disruption of p53 function in immortalized human cell does not affect survival or apoptosis after taxol or vincristine treatment. *Cin Cancer Res*, 1998;4:1047.
222. O'Connor P, Jackman J, Bae I, et al. Characterization of the p53 tumor suppressor pathway in cell lines of the National Cancer Institute anticancer

- drug screen and correlations with the growth-inhibitory potency of 123 anticancer agents. *Cancer Res* 1997;57:4285.
223. Safran H, King T, Choy H, et al. p53 mutations do not predict response to paclitaxel/radiation for nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 1996;78:1203.
224. Herbst R, Langer C. Epidermal growth factor receptor as a target for cancer treatment: the emerging role of IMC-C225 in the treatment of lung and head and neck cancers. *Semin Oncol* 2002;29:27.
225. Grandis JR, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGF- α and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst* 1998;11:824.
226. Todd R, Donoff BR, Gertz R, et al. TGF- α and EGF-receptor mRNAs in human oral cancers. *Carcinogenesis* 1989;10:1553.
227. Santini , Formento JL, Francoual M, et al. Characterization, quantification, and potential clinical values of the epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck* 1991;13:132.
228. Chen Z, Ke LD, Yuan XH, et al. Correlation of cisplatin sensitivity with differential alteration of EGFR expression in head and neck cancer cells. *Anticancer Res* 2000;20:899.
229. Kroning R, Jones JA, Hom DK, et al. Enhancement of drug sensitivity of human malignancies by epidermal growth factor. *British J Cancer* 1995;72:615.

230. Kottke TJ, Blajeski AL, Martins M, et al. Comparison of paclitaxel-,5fluoro-2'-deoxyeridine-,and epidermal growth factor (EGF)- induced apoptosis. *J Biological Chemistry* 1999;274:15927.
231. Peto P, Pike MC. Conservation of the approximation $2/E$ in logrank-test survival data on tumour incidence data. *Biometrika* 1977;29:579.
232. Mantle N. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Nat Cancer Inst* 1959;22:719.
233. Siegel S. The care of two independent samples. *Non parametric statistics*. New York: Mc Graw-Hill.1956.
234. Cox DR. Regression models and life tables. *J Rv Stat Assoc* 1958;53:457.
235. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. International Committee of medical Journal Editors. *N Engl J Med* 1997;336:309.
236. Wendt TG, Grabenbauer GG, Rodel CM et al. Simultaneous radiochemotherapy versus radiotherapy alone in advanced head and neck cancer: A randomised multicenter study. *J Clin Oncol* 1998;16:1318.
237. Haraf DJ, Kies M, Rademaker AW,et al. Radiation therapy with concomitant hydroxyurea and fluoruracil in stage II and III head and neck cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:638.
238. Vokes EE, Weichselbaum RR, Mick R , et al. Favorable long-term survival following induction chemotherapy with PFL and concomitant chemoradiotherapy for locally advanced head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:877.

239. Vokes EE, Kies M, Haraf DJ, et al. Induction chemotherapy followed by concomitant chemoradiotherapy for advanced head and neck cancer: Impact on the natural history of the disease. *J Clin Oncol* 1995;13:876.
240. Ison DH, Ajani J, Bhaja K, et al. Phase II trial of paclitaxel, fluoruracil, and cisplatin in patients with advanced carcinoma of the esophagus. *J Clin Oncol* 1998;16:1826.
241. Bhalla KN, Kumar GN, Walle UK, et al. Phase I and pharmacological study of a 3-hour infusion of paclitaxel followed by cisplatin and 5-fluoruracil in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 1999;5:1723.
242. Catimel G, Verweij J, Mattijissen V, et al. Docetaxel: an active drug for the treatment of patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 1994;5:533.
243. Dreyfuss A, Clark JR, Norris CM, et al. Docetaxel: an active drug against squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Clin Oncol* 1996;14:1672.
244. Colevas AD, Busse PM, Norris CM, et al. Induction chemotherapy with docetaxel, cisplatin, fluoruracil, and leucovorin for squamous cell carcinoma of the head and neck: a phase II trial. *J Clin Oncol* 1998;16:1331.
245. Colevas AD, Norris CM, Tishler RB, et al. A phase II trial of docetaxel, cisplatin, fluoruracil, and leucovorin as induction for squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 1999;17:3503.
246. Posner MR, Glisson B, Frenette G, et al. Multicenter phase I-II trial of docetaxel, cisplatin and fluoruracil induction chemotherapy for patients with locally advanced squamous cell cancer of the head and neck. *J Clin Oncol* 2000;19:1096.

247. Pignon JP, Bourhis J, Domenge C, et al. Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous cell carcinomas: three meta-analyses of updated individual data. MACH-NC Collaborative Group. Meta-analyses of Chemotherapy on head and Neck Cancer. *Lancet* 2000;355:949.
248. alSarraf M, LeBlanc M, Giri PG, et al. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomised Intergroup Study 0099. *J Clin Oncol* 1998;16:1310.
249. Brizel DM, Albers ME, Fisher SR, et al. Hyperfractionated irradiation with or without concurrent chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *N Engl J Med* 1998;338:1798.
250. Calais G, Alfonsi M, Bardet E, et al. Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:2081.
251. Vokes EE, Kies SM, Rosen FR, et al. Induction chemotherapy followed by concomitant chemoradiotherapy for stage IV head and neck cancer: an attempt at locoregional and systemic tumor control. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000;19:419a.
252. Kraxner H, Tamas L, Jaray B, et al. Search for prognostic factors in head and neck cancer. *Acta Otolaryngol Suppl Stockh* 1997;527:145.
253. Lavieille JP, Brambilla E, Riva L, et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in preneoplastic lesions and squamous cell carcinomas of the head and neck. *Acta Otolaryngol Stockh* 1995;115:334.
254. Bradford CR, Zhu S, Wolf GT, et al. Overexpression of p53 predicts organ preservation using induction chemotherapy and radiation in patients

- with advanced laryngeal cancer. Department of Veterans Affairs laryngeal Cancer Study group. *Otolaryngol head Neck Surg* 1995;113:408.
255. Melhem MF, Law JC, el Ashmawy L, et al. Assessment of sensitivity and specificity of immunohistochemical staining of p53 in lung and head and neck cancers. *Am J Pathol* 1995;146:1170.
256. Caminero MJ, Nuñez F, Suarez C, et al. Detection of p53 protein in oropharyngeal carcinoma. Prognostic Implications. *Arch otolaryngol head Neck Surg* 1996;122:769.
257. Lassaletta L, Brandariz A, Benito A, et al. P53 expression in locally advanced pharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125:1356.
258. Dunphy CH, Dunphy FR, Boyd JH, et al. Expression of p53 protein in advanced head and neck squamous cell carcinoma before and after chemotherapy. *Arch otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123:1223.
259. Fiel JK, Malliri A, Butt SA, et al. p53 expression in end stage squamous cell carcinoma of the head and neck prior chemotherapy treatment: expression correlates with a very poor clinical outcome. *Int J Oncol* 1993;3:431.
260. Ahomadegbe JC, Barrois , Fogel S, et al. High incidence of p53 alterations (mutation, deletion, overexpression) in head and neck primary tumors and metastases; absence of correlation with clinical outcome. Frequent protein overexpression in normal epithelium and in early non-invasive lesions. *Oncogene* 1995;10:1217.

261. Zatterstrom UK, Wennerberg J, Ewers S, et al. Prognostic factors in head and neck cancer: histologic grading, DNA ploidy, and nodal status. *Head & Neck* 1991, Nov:477.
262. Cognetti F, Pinnaro P, Rugerri EM, et al. Prognostic factors for chemotherapy response and survival using combination chemotherapy as initial treatment of advanced head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1989, 7:829.
263. Sudbo J, Kildal W, Johannssen AC, et al. Gross genomic aberrations in precancers: Clinical implications of a long-term follow-up study in oral erythroplakias. *J Clin Oncol* 2002;20:456.
264. Smith B, Smith GL, Carter D, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2000;18:2046.
265. Grandis JR, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGF-alpha and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:824.
266. Xia W, Lau YK, Zhang HZ, et al. Combination of EGFR, HER/2neu, and HER-3 is a stronger predictor for the outcome of oral squamous cell carcinoma than any individual family members. *Clin Cancer Res* 1999;5:4164.
267. Woodbun JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82:241.
268. Gille J, Swerlick R, Caughman SW. Transforming growth factor alpha induced transcriptional activation of the vascular permeability factor

- (VPF/VEGF) gene requires AP-2-dependent DNA binding and transactivation. *EMBO J* 1997;16:750.
269. Giordano A, Rustum Y, Wenner CE, et al. Cell cycle: molecular targets for diagnosis and therapy: tumor suppressor genes and cell cycle progression in cancer. *J Cell Biochem* 1998;70:1.
270. Kiyokawa N, Lee EK, Karunagaran D, et al. Mitosis-specific negative regulation of epidermal growth factor receptor, triggered by a decrease in ligand binding and dimerization, can be overcome by overexpression of receptor. *J Biol Chem* 1997;272:18656.
271. Wu X, Masui Z, Rosen N, et al. Apoptosis induced by anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in a human colorectal carcinoma cell line and its delay insulin. *J Clin Invest* 1995;95:1897.
272. Karashima T, Sweeney P, Slaton JW, et al. Inhibition of angiogenesis by the anti-epidermal growth factor receptor antibody Imclone C225 in androgen-independent prostate cancer growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 2002;8:1253.
273. Mendelsohn J. Epidermal growth factor receptor inhibition by a monoclonal antibody as anticancer therapy. *Clin Cancer Res* 1997;3:2707.
274. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, et al. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol/Haematol* 1995;19:183.
275. Chow NH, Liu HS, Lee EI, et al. Significance of urinary epidermal growth factor and its receptor expression in human bladder cancer. *Anticancer Res* 1997;17:1293.

276. Anzai H. Expression of metastasis-related genes in surgical specimens of human gastric cancer can predict disease recurrence. *Eur J Cancer* 1998;34:558.
277. Klijn JG, Berns PM, Schmitz PI, et al. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr Rev* 1992;13:3.
278. Fujino S, Enokibori T, Tezuka N, et al. A comparison of epidermal growth factor receptor levels and other prognostic parameters in non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 1996;32A:2070.
279. Niikura H, Sasano H, Sato S, et al. Expression of epidermal growth factor-related proteins and epidermal growth factor receptor in common epithelial ovarian tumors. *Int J. Gynecol Pathol* 1997;16:60.
280. Gibson K, Grundy W, Godfrey A, et al. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase-structure-activity relationships and antitumour activity of novel quinazolines. *Bioorg Med Chem Lett* 1997;7:2723.
281. Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82:241.
282. Moyer JD, Barbacci EG, Iwata KK, et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358, 774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res*;57:4838.
283. Lydon NB, Mett H, Mueller M, et al. A potent protein-tyrosine kinase inhibitor which selectively blocks proliferation of epidermal growth factor receptor expressing tumor cells in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 1998;76:154.

284. Wang S, Lee RJ, Cauchon G, et al. Deliver of antisense oligodeoxyribonucleotides against the human epidermal growth factor receptor into cultured KB cells with liposomes conjugated to folate via polyethylene glycol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3318.
285. Robert F, Ezekiel M, Spencer SA, et al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody Cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:3234.
286. Saleh MN, Raisch KP, Stackhouse MA, et al. Combined modality therapy of A431 human epidermal cancer using anti-EGFr antibody C225 and radiation. *Cancer Biother Radiopharm* 1999;14:451.
287. Bonner JA, Raisch KP, Trummell HQ, et al. Enhanced apoptosis with combination C224/radiation treatment serves as the impetus for clinical investigation in head and neck cancers. *J Clin Oncol* 2000;18:47.
288. Shin DM, Donato NJ, Perez-Soler R, et al. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy with C225 and cisplatin in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:1204.