

**A mi familia y amigas-hermanas.**

## **AGRADECIMIENTOS**

La medicina me ha dado no sólo la satisfacción de poder ayudar a la gente en un momento vital tan complicado como es la enfermedad; ha sido también la intermediaria para conocer a muchos compañeros a los que no dejaré de admirar por sus enseñanzas y amor a esta profesión como la Dra. Montes, el Dr. del Campo, el Dr. Muggia o el Dr. Ojanguren.

También me ha permitido viajar y trabajar en diferentes hospitales y ciudades, y conocer a personas geniales; algunas han querido ser mis amigas. Las agradezco profundamente que formen parte de mi vida. Al igual que a mi familia, que me ha apoyado y cuidado siempre, especialmente mi madre y mi padre. Y recuerdo con cariño a los que ya no están, mi tía Bernarda, que tanto me animó a acabar este trabajo e Isaac.

En estos últimos años la medicina además, me ha posibilitado conocer a otros profesionales que han enriquecido mi trabajo al ampliarme el enfoque habitual dirigido a la enfermedad, hacia el valor del cuidado y recuperación de la salud, que parece lo mismo pero no es igual. La Dra. Schnake e Iñaki Zapirain han sido referentes.

Y sin la medicina hoy no estaría aquí. El agradecimiento es infinito, a ella, a las amigas y profesionales que de nuevo ha puesto en mi camino, y a la vida que me ha devuelto.

## RESUMEN

El cáncer de cabeza y cuello es un término que engloba enfermedades que crecen en los senos paranasales, la cavidad oral, nasal, faringe y laringe. A pesar de que el 90% comparten el origen epidermoide con características epidemiológicas y moleculares comunes, conforman un grupo heterogéneo de neoplasias.<sup>1</sup>

Al igual que ocurre con el resto de tumores, el estudio de las múltiples alteraciones moleculares que conllevan la transformación maligna celular, está influyendo en el desarrollo de las nuevas terapias antitumorales<sup>2-5</sup>. En el cáncer de cabeza y cuello está descrito el papel fundamental que juega en su patogénesis el receptor del factor de crecimiento epidérmico (*Epidermic Growth Factor Receptor: EGFR*), miembro de la familia de receptores transmembrana del factor de crecimiento epidérmico humano (*Human Epidermal Growth Factor Receptor: HER*). Su sobreexpresión alcanza hasta el 90% de los casos<sup>6</sup>. De entre las nuevas terapias biológicas desarrolladas, la única aprobada hasta el año pasado por las autoridades sanitarias para su uso clínico en el cáncer de cabeza y cuello ha sido el agente anti-EGFR cetuximab, bien en combinación con radioterapia en enfermedad localmente avanzada irreseccable<sup>7</sup>, o en combinación o monoterapia en enfermedad metastática<sup>8</sup>. Sin embargo, a pesar de unos resultados iniciales prometedores, a día de hoy no disponemos de un tratamiento efectivo. Esto podría deberse no sólo a la dificultad de identificar a los pacientes que puedan responder a estas terapias, sino también al desarrollo de resistencias farmacológicas de las células tumorales.

Este trabajo revisará, con el estudio de una cohorte de pacientes afectados de carcinoma de cabeza y cuello tratados con cetuximab y otros citotóxicos, la relación entre diferentes variables moleculares implicadas en la carcinogénesis y la eficacia del tratamiento, con el fin de identificar factores pronósticos o predictores de respuesta a las terapias en este tipo de neoplasias.

## AGRADECIMIENTOS

## RESUMEN

<b>1. INTRODUCCION .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. ETIOLOGIA.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. PATOGENESIS.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 DIAGNOSTICO .....</b>	<b>9</b>
<b>1.4. ESTADIFICACION .....</b>	<b>13</b>
<b>1.5 FACTORES PRONOSTICO.....</b>	<b>14</b>
<b>1.6 TRATAMIENTO .....</b>	<b>19</b>
<b>1.6.a. Cirugía .....</b>	<b>21</b>
<b>1.6.b. Radioterapia .....</b>	<b>22</b>
<b>1.6.c. Quimioterapia .....</b>	<b>23</b>
<b>1.6.d. Cetuximab .....</b>	<b>25</b>
<b>1.6.e. Terapias combinadas .....</b>	<b>32</b>
<b>1.7. RECIDIVAS Y SEGUNDAS NEOPLASIAS .....</b>	<b>34</b>
<b>1.8. EL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO (EGFR) .....</b>	<b>34</b>
<b>1.8.a. Descubrimiento, estructura y mecanismo de acción .....</b>	<b>35</b>
<b>1.8.b. Alteraciones del EGFR en células malignizadas.....</b>	<b>37</b>
<b>1.8.c. Transducción de señales por el EGFR .....</b>	<b>39</b>
<b>1.8.d Señalización a través del EGFR en células normales y en células malignizadas.....</b>	<b>40</b>
<b>1.9. RESISTENCIA A AGENTES A ANTI-EGFR .....</b>	<b>42</b>
<b>1.9.a. Mecanismos reguladores a nivel del EGFR y ligandos.....</b>	<b>45</b>
<b>1.9.b. Sobreexpresión de otros co-receptores.....</b>	<b>47</b>
<b>1.9.c. Mecanismos de resistencia relacionados con otras vías.....</b>	<b>53</b>
<b>1.9.d. Otras vías de señalización en investigación .....</b>	<b>57</b>
<b>1.10. POTENCIALES MARCADORES PRONOSTICO y/o PREDICTORES DE RESPUESTA A AGENTES ANTI-EGFR EN EL CANCER DE CABEZA Y CUELLO.....</b>	<b>61</b>
<b>1.10.a. EGFR .....</b>	<b>61</b>
<b>1.10.b. p16 .....</b>	<b>63</b>
<b>1.10.c. eIEF4E y 4EBP1.....</b>	<b>67</b>
<b>1.10.d. Vía de señalización EGFR/PI3K/AKT/mTOR y PTEN .....</b>	<b>70</b>

1.10.e. MAPK.....	75
1.10.f. STAT3.....	79
1.10.g. p53 .....	81
1.10.h. Ki67 .....	82
<b>2. JUSTIFICACION DEL TRABAJO Y OBJETIVOS .....</b>	<b>83</b>
<b>3. MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>86</b>
3.1. Criterios de inclusión .....	87
3.2. Criterios de exclusión .....	87
3.3. Diseño.....	87
3.4. Variables estudiadas .....	88
3.5. Análisis de datos .....	90
3.6. Análisis estadístico .....	90
3.7. Consideraciones éticas .....	92
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>93</b>
<b>5. DISCUSION.....</b>	<b>112</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>121</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>123</b>
<b>8. ACRONIMOS .....</b>	<b>162</b>
<b>9. TABLAS Y FIGURAS.....</b>	<b>167</b>

## **1. INTRODUCCION**

## 1.1. ETIOLOGIA.

Los principales factores de riesgo implicados en el 80% de los casos, y con un efecto sinérgico entre ellos, son el alcohol y el tabaco<sup>9-11</sup>. Esta asociación se da principalmente en el caso del cáncer de cabeza y cuello entre mujeres y el cáncer de lengua, y se sugiere que la susceptibilidad genética puede tener un papel en el desarrollo de los tumores, ya que no todos los expuestos las padecen. La literatura describe un riesgo aumentado entre 5 y 25 veces entre los grandes fumadores frente a los no fumadores con un efecto dosis-respuesta. Por ello, el riesgo de padecer una neoplasia en esta localización disminuye progresivamente cuando se abandona el hábito tabáquico.

Los fumadores pasivos también tienen un riesgo aumentado de desarrollar un tumor en relación a la inhalación del humo del tabaco cuyos componentes favorecen la inflamación crónica de la mucosa oral, así como la modificación de la respuesta inmune del huésped a los antígenos exógenos<sup>12</sup>. Además se ha descrito que el *cannabis* puede desencadenar diversos cambios citogenéticos en las células y que tiene una capacidad carcinogénica similar a la del tabaco. Zhang *et al.*<sup>13</sup> concluyeron que el uso de marihuana podía aumentar la incidencia de cáncer de cabeza y cuello con un patrón dosis-respuesta que el tabaco potenciaría aún más.

En referencia al alcohol, aunque resulta difícil separar sus efectos de los del tabaco, diferentes estudios han demostrado que el consumo de este último aumenta el riesgo de cáncer de cabeza y cuello de manera independiente<sup>14</sup>. Su efecto carcinogénico es dosis-dependiente.<sup>15</sup>

La inflamación también juega un papel importante en el desarrollo de un tumor. En 1863 Virchow postulaba que un proceso de irritación crónica podía conducir a un daño tisular y a una inflamación que aumentaría la proliferación celular y la posibilidad de desarrollar una neoplasia<sup>16</sup>. Una hipótesis factible para explicar la implicación del proceso inflamatorio en la carcinogénesis, sería el desarrollo de algunas neoplasias en el contexto de una infección que, mantenida en el tiempo, conduciría a una inflamación crónica. Los leucocitos y otras células fagocíticas induci-

rían el daño del ADN (ácido desoxirribonucleico) en las células proliferantes al generar radicales de oxígeno y nitrógeno para combatir la infección. El daño repetido y la regeneración del tejido en presencia de estas sustancias podrían producir diferentes alteraciones genómicas que facilitasen el desarrollo del cáncer. De hecho, se han podido detectar mutaciones de p53 en algunas neoplasias con una frecuencia similar a la detectada en enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide u otras inflamatorias del tubo digestivo<sup>17</sup>. La inflamación crónica se asocia además con una higiene deficitaria de la cavidad oral y el liquen plano, una enfermedad autoinmune con una incidencia de aproximadamente el 1% y con un rango de transformación maligna que oscila entre el 0% y 10%.<sup>18</sup>

En cuanto a las infecciones, ha sido documentada en los últimos años la relación del virus del papiloma humano (VPH) con algunos tumores de la esfera otorrinolaringológica. Un metaanálisis del 2005 con datos de 60 estudios de todo el mundo y más de 5000 tumores de cabeza y cuello, clasificó como neoplasias VPH positivas al 26% de las mismas, que ascendía al 36% en las de localización orofaríngea<sup>19</sup>. Datos más recientes de otro metaanálisis objetivaron una prevalencia de infección de hasta el 46% en las neoplasias orofaríngeas<sup>20</sup>. Un tercer estudio del 2016 con más de 3500 casos de carcinoma de cabeza y cuello de 29 países diferentes, mostraba el aumento de la fracción de tumores atribuibles al VPH en el tiempo, a pesar del descenso de la incidencia global de estas neoplasias, con una marcada diferencia entre áreas geográficas y también el sexo del paciente<sup>21</sup>. Actualmente hay unos 120 subtipos identificados que se clasifican según su capacidad oncogénica. Entre los subtipos más frecuentes asociados a las neoplasias otorrinolaringológicas destacan el 16 (hasta en el 80% de los casos) y el 18, considerados de alto riesgo, por su capacidad de transformar los queratinocitos humanos tanto del tracto genital como del respiratorio superior en células malignas.

Los adultos jóvenes de países desarrollados con prácticas sexuales que favorecen la transmisión de la infección por HPV son los más afectados<sup>22-24</sup>. Su determinación es importante por las potenciales implicaciones para su prevención y tratamiento, ya que se ha confirmado que son neoplasias con una mejor respuesta

a la radioterapia y/o quimioterapia lo que convierte al VPH en un biomarcador favorable tanto predictivo como pronóstico<sup>25</sup>. Este hecho está relacionado con su mecanismo patogénico. La potencial transformación celular se atribuye a dos oncoproteínas virales, E6 y E7, con capacidad para inactivar a dos proteínas humanas supresoras de tumores, p53 y la proteína del retinoblastoma (*retinoblastoma protein*: pRb), respectivamente.

La interacción de E6 con p53 tiene un efecto antiapoptótico lo que permite la acumulación de mutaciones cromosómicas sin reparación del ADN en las células infectadas. La unión de E7 con pRb puede permitir que las células con daños en el ADN eviten la detección de p53 y proliferen sin control. Además la interacción de E7/pRb promueve el ciclo celular mediante la liberación del factor de transcripción E2F desencadenando la expresión de proteínas esenciales para la replicación del ADN. Estos procesos permiten el crecimiento celular descontrolado en presencia de inestabilidad genómica que puede conducir a la transformación maligna.

Las alteraciones moleculares detectadas en las neoplasias VPH positivas incluirían la presencia del ADN del VPH, la expresión de las oncoproteínas E6 y E7, la ausencia de mutaciones de p53, la expresión disminuida de ciclina D y pRb y la sobreexpresión de p16; mientras que las neoplasias VPH negativas se caracterizan por las mutaciones de p53 inducidas por el tabaco, el aumento de la ciclina D por amplificación génica, los niveles normales o elevados de pRb y la disminución de p16 por mutaciones, deleciones o metilación del promotor del gen.

La observación de estas diferencias entre ambas entidades apoyan la existencia de dos vías patogénicas diferentes en su desarrollo con diversas implicaciones diagnósticas, terapéuticas y pronósticas<sup>26</sup>. Sin embargo, no son dos entidades completamente independientes porque también existe evidencia de que el tabaco puede modificar el comportamiento biológico de los tumores VPH positivos empeorando la supervivencia global y favoreciendo las recidivas de la enfermedad.<sup>27</sup>

Se han descrito también otras infecciones virales crónicas implicadas en el desarrollo de este tipo de neoplasias en probable relación con la alteración de los ge-

nes supresores de tumores y con un efecto potenciador de diferentes oncogenes. Cabe destacar:

- Virus de Epstein-Barr (VEB). Se trata de la asociación más fuerte descrita entre un virus y un tumor de cabeza y cuello, concretamente con el carcinoma nasofaríngeo. Su implicación en el cáncer oral es discutida.<sup>28</sup>
- Virus Herpes Simple. Su papel es más controvertido pero se ha observado que pacientes con cáncer de cabeza y cuello tienen elevados niveles del anticuerpo IgM contra el virus herpes simple-1.<sup>29</sup>
- Virus de la Inmunodeficiencia Humana Adquirida (VIH). Se ha observado que los pacientes con VIH pueden padecer diferentes neoplasias de cabeza y cuello, como linfoma no Hodgkin o neoplasias escamosas de cavidad oral, entre otras.<sup>30</sup>

Otros factores etiológicos serían:

- **La dieta:** se han descrito asociaciones entre el consumo de determinados alimentos y el desarrollo de tumores, como el del carcinoma nasofaríngeo y la ingesta importante de carne con altos niveles de nitritos.<sup>31</sup>
- **Nuez de areca:** Existe evidencia de la relación entre el carcinoma de cabeza y cuello y el consumo de esta goma de mascar ya que contiene alcaloides que originan nitrosaminas con capacidad carcinogénica. Tiene además un efecto dosis-dependiente ya que la duración y la frecuencia del consumo están relacionadas con el desarrollo de las neoplasias. La asociación de areca con tabaco aumenta esta probabilidad.<sup>32</sup>
- **Radiación previa:** La radiación previa se ha relacionado con tumores de glándulas salivares, neoplasias de células escamosas y sarcomas.<sup>33</sup>
- **Exposición ocupacional:** Se ha descrito una débil relación entre el carcinoma de laringe y la exposición a agentes de limpieza como el percloroetileno, pero existen otras muchas sustancias relacionadas con el desarrollo de neoplasias de ca-

beza y cuello como son el carbón, los pesticidas, el polvo de metales pesados o los gases tóxicos.<sup>34</sup>

- **Factores genéticos:** Existen síndromes con un componente hereditario que aumentan la susceptibilidad individual para el desarrollo de neoplasias, como el cáncer colorectal no polipósico hereditario, el síndrome de Li Fraumeni, la anemia de Fanconi y el síndrome de ataxia telangiectasia.<sup>35,36</sup>
- **Otros factores:** Existen otros factores implicados en el desarrollo del carcinoma de cabeza y cuello como la enfermedad periodontal que se relaciona con las neoplasias de cavidad oral<sup>37</sup>, o la inmunosupresión de los trasplantados, especialmente la del trasplante renal con una mayor incidencia de cáncer labial.<sup>38</sup>

## 1.2. PATOGENESIS.

En la región de la cabeza y el cuello, la displasia de alto grado y el carcinoma *in situ* son lesiones premalignas identificables mediante el estudio histológico. No existe ningún biomarcador o técnica de imagen útil para el seguimiento de estos pacientes, así como tampoco medidas de quimioprevención. Sólo el abandono del hábito tabáquico y el alcohol parecen efectivos.<sup>39</sup>

La evolución y progresión hasta el desarrollo de la neoplasia se cree que es resultado de múltiples alteraciones moleculares de las células del epitelio<sup>40-43</sup> que sugieren una progresión desde la lesión premaligna hasta el tumor propiamente invasivo<sup>2-5</sup>. Gracias a los avances de los últimos años se han podido identificar algunas de estas alteraciones génicas y epigenéticas que han conducido a plantear un hipotético modelo de carcinogénesis para las neoplasias de cabeza y cuello. Las alteraciones genéticas parecen marcar distintas etapas de progresión del tumor, aunque la secuencia específica no haya sido identificada.<sup>44-46</sup>

- La delección homocigótica de 9p21, presente hasta en el 70% de los casos, responsable de la mutación de CDKN2A (anteriormente TP16), es la alteración más frecuente y precoz.<sup>47</sup>
- La pérdida en el cromosoma p17, detectada hasta en el 60% de los tumores invasivos otorrinolaringológicos, inactiva a TP53, un gen supresor de tumores implicado en el control celular y la apoptosis. Las mutaciones puntuales de este oncogen, descritas hasta en el 50% de estas neoplasias<sup>48</sup>, parecen ser un evento más tardío. Su significado pronóstico es controvertido, aunque algunas de ellas se han asociado a un peor pronóstico tras la cirugía de estos tumores, a mayor agresividad y progresión de la enfermedad.<sup>49</sup>
- Una mayor agresividad del tumor también parece relacionarse con la amplificación de 11q13 y la sobreexpresión de ciclina D1.<sup>50,51</sup>
- Adicionalmente genes supresores tumorales como el RB1 y CDKN2A están generalmente inactivados en el carcinoma de cabeza y cuello. Cuando el gen RB1 se inactiva o muta favorece la proliferación celular incontrolada.<sup>52</sup>
- Otras alteraciones genéticas identificadas son la pérdida de heterocigosidad de ciertos cromosomas con oncogenes y genes supresores de tumores como 9p34 (NOTCH1), 3q26 (PIK3CA) y 11p15 (HRAS).<sup>53,54</sup>

Recientemente, un estudio englobado en el proyecto del Atlas del Genoma del Cáncer (*The Cancer Genome Atlas: TCGA*)<sup>55</sup> analizó los cambios en el conjunto completo de ADN de 279 muestras de neoplasias de cabeza y cuello. La mayoría mostraban similitud en ciertos reordenamientos y alteraciones que afectan a genes que codifican receptores de factores de crecimiento como el EGFR y moléculas de señalización implicadas en la proliferación celular. También se identificaron características específicas para los tumores relacionados con el tabaco y el VPH. Estos datos confirmarían la heterogeneidad de las neoplasias otorrinolaringológicas y su

influencia en las diferencias biológicas, respuesta al tratamiento y pronóstico que presentan.

En la patogénesis del carcinoma de cabeza y cuello también se ha descrito el papel del VPH. En la década de los 80, diferentes estudios pusieron de manifiesto que tumores de la cavidad oral presentaban características histopatológicas consistentes con la infección. En 2009 la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer reconocía al VPH subtipo 16 como un agente causal en el desarrollo de los tumores orofaríngeos.<sup>56</sup>

Entre un 18 y 72% de estas neoplasias se relaciona con el virus y su frecuencia va en aumento, mientras que la de los tumores relacionados con el tabaco o el alcohol descende o se estabiliza por un menor consumo de los mismos<sup>57</sup>. De hecho, se consideran entidades biológicamente diferentes con un mejor pronóstico si el virus está implicado en su desarrollo, lo que lleva a considerar la necesidad de una terapéutica específica. Por todo ello, se recomienda el análisis de rutina del VPH en las neoplasias orofaríngeas. Como el virus no puede ser cultivado *in vitro* y los análisis serológicos son todavía inefectivos, se han desarrollado una gran variedad de métodos para su detección. Las diferentes estrategias varían considerablemente en función de los recursos del laboratorio o las preferencias del investigador, lo que supone una dificultad para unificar criterios y resultados.<sup>58</sup>

Otro factor relevante en la biología del carcinoma de cabeza y cuello es el EGFR, miembro de la familia de receptores transmembrana HER. El EGFR juega un papel importante en la regulación de la homeostasis celular y el control de la organogénesis de múltiples tejidos epiteliales, incluido los de origen endodérmico. Esto ha servido de base para plantear que la dependencia funcional de la actividad del EGFR en las neoplasias de cabeza y cuello o colon, puede relacionarse con la íntima interacción del epitelio de origen con los tejidos linfoides asociados a mucosas (*mucosa-associated lymphoid tissues*: MALT), que pueden albergar en su interior a diferentes células inflamatorias. De hecho, en el intestino adulto, la señalización del EGFR tiene un papel crucial en la regeneración de la mucosa y la respuesta inflama-

toria. Es probable que la sobrerregulación de la actividad del EGFR en la inflamación crónica (normalmente implicada en la reparación del tejido en el contexto de una inflamación aguda) se convierta en una señal pro-oncogénica.<sup>59</sup>

Diferentes estudios preclínicos han demostrado que la activación del EGFR favorece además múltiples procesos oncogénicos, como la proliferación, la angiogénesis, las metástasis o el bloqueo de la apoptosis<sup>60,61</sup>. A nivel clínico, se han descrito neoplasias más agresivas y de peor pronóstico, en relación a niveles elevados de EGFR y/o de sus ligandos.<sup>62-64</sup>

Por todos estos motivos, se determinó que el EGFR podía ser una excelente diana para el desarrollo de nuevas estrategias dirigidas contra el propio EGFR o contra componentes de la vía molecular donde se encontrase implicado o contra las células que lo sobreexpresasen.

### **1.3. DIAGNÓSTICO.**

El diagnóstico se basa en la historia clínica que recoja los síntomas y signos específicos que dependerán de la localización del tumor y la exploración por parte del especialista.

Cuando se sospecha la existencia de una neoplasia, disponemos de una serie de estudios radiográficos complementarios que nos permiten conocer el alcance real de la lesión. Los estudios de imagen alteran el estadio clínico entre el 15 y 20% de los casos. Entre las pruebas de elección se encuentran la Tomografía Axial Computarizada (TAC) y la Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Otros estudios complementarios incluyen la ortopantomografía mandibular, la gammagrafía ósea o la tomografía por emisión de positrones (PET).

Para la confirmación de la sospecha diagnóstica, deberemos realizar una biopsia o punción con aguja fina de cualquiera de las lesiones accesibles.<sup>1</sup>

Existen también otras técnicas que aportan información diagnóstica como son los análisis citogenéticos, dirigidos a la detección de las alteraciones cromosómicas tumorales, y que permiten además la posibilidad de realizar un seguimiento de la enfermedad o valorar la respuesta al tratamiento tal y como ocurre en las neoplasias hematológicas.

Sin embargo, su detección en tumores sólidos ha sido siempre más dificultosa por problemas metodológicos, pero la incorporación de nuevas técnicas de citogenética molecular basadas en la hibridación *in situ* con fluorescencia, y la mayor coordinación y colaboración entre cirujanos, patólogos, oncólogos y genetistas ha hecho que el análisis citogenético de tumores sólidos haya experimentado un enorme avance.

Paralelamente, el desarrollo de las técnicas de genética molecular ha permitido conocer los mecanismos patogénicos tumorales relacionados con alteraciones cromosómicas, identificándose nuevos oncogenes y genes supresores de tumores implicados en la génesis de las neoplasias, lo que a su vez podría ayudar a establecer terapias específicas de acuerdo a la alteración molecular detectada.

Algunas de las técnicas citogenéticas y moleculares más utilizadas y que contribuyen al mejor diagnóstico de los tumores sólidos son<sup>65</sup>:

- Citogenética convencional (cariotipo de bandas G).

El análisis citogenético convencional consiste en el estudio de las alteraciones cromosómicas en las metafases de las células neoplásicas obtenidas tras el cultivo *in vitro*, a corto plazo y sin mitógenos de células de médula ósea, sangre periférica, ganglios o biopsias de tejidos. El estudio de la morfología de los cromosomas, teñidos fundamentalmente con bandas G (Tripsina-Giemsa), permite detectar en un único experimento, tanto las alteraciones numéricas (monosomías, trisomías, etc.), como las estructurales (translocaciones, inversiones, deleciones...) presentes en todo el genoma.

- Hibridación fluorescente *in situ* (*Fluorescence In Situ Hybridization: FISH*) convencional.

Los dos componentes principales de la técnica de FISH convencional son la sonda de ADN marcada con fluorescencia y la secuencia diana en la muestra tumoral (bien en la metafase cromosómica o en el núcleo en interfase) para la cual es específica. Es una técnica que detecta únicamente aquello que se pretende buscar. El resto del genoma permanece oculto.

- Hibridación Genómica Comparada.

Esta técnica además de definir patrones de ganancias y pérdidas específicas, proporciona información para identificar nuevos genes implicados en el cáncer. Su fundamento, basado en el empleo de ADN tumoral pero sin el análisis de metafases para evitar la necesidad de células en crecimiento, está en la hibridación competitiva de dos ADNs (tumoral y control normal), marcados con distintos fluorocromos, sobre cromosomas normales. Esta técnica permite, por tanto, la detección de ganancias y pérdidas de regiones cromosómicas en todo el genoma tumoral al comparar las intensidades de las señales de hibridación.

- Reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction: PCR*).

Esta técnica, permite amplificar secuencias específicas de ADN o ARN (ácido ribonucleico) multiplicando por  $10^6$  el número de copias que podemos obtener de un determinado fragmento de ADN. Una de las aplicaciones más frecuentes es la detección de translocaciones en las neoplasias. Su caracterización molecular ha llevado a la identificación de los genes implicados.

Aunque la mayor parte de los análisis son cualitativos, indicando sólo ausencia o presencia de la alteración, es importante la cuantificación de ésta mediante PCR en tiempo real (*real-time PCR*), en la que se detecta el producto específico a

medida que se produce, de manera que la comparación de su nivel de amplificación con los estándares adecuados proporciona una medida cuantitativa del grado de afectación.

- Microarrays.

Esta técnica permite el análisis simultáneo de un gran número de genes y de sus niveles de expresión en una muestra. En todos los casos, cada material genético que se coloca en el array está referido a una región del genoma cuya situación y características son conocidas o predichas con anterioridad, es decir, cada uno de los puntos del microarray puede representar un gen y la información que nos genera se refiere al estatus de ese gen en la muestra analizada.

El material obtenido de la muestra a estudio se marca con una molécula que permite su identificación o lectura (fluorescencia) y se pone en contacto con el *array* hibridando en aquellas posiciones que se complementan con las sondas. El patrón de hibridación es revelado empleando un escáner basado en microscopía confocal y la imagen resultante se convierte a valores numéricos siendo los resultados del ensayo. El gran volumen de datos generados debe ser tratado con métodos bioinformáticos.

- Técnicas de secuenciación masiva.

La secuenciación del ADN es un conjunto de métodos cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos y por tanto de la secuencia de ADN que constituye la información genética heredable.

Esta metodología de alto rendimiento se ha empezado a utilizar en el estudio de nuevas mutaciones de genes o bien de mutaciones presentes en pequeña proporción no detectadas con anterioridad pero implicados en el desarrollo del cáncer. En el caso de los tumores sólidos, esta técnica permite la identificación

de mutaciones presentes en una proporción menor del 20%, necesaria para los sistemas clásicos de secuenciación.

## 1.4. ESTADIFICACIÓN.

La clasificación TNM elaborada inicialmente en los años 50 por Pierre Denoix tiene como objetivo fundamental obtener grupos de poblaciones lo más homogéneos posibles con respecto a las características tumorales y factores clínicos de riesgo equivalentes, para permitir la comparación interinstitucional de resultados terapéuticos.<sup>66</sup>

En la actualidad es uno de los sistemas de clasificación más usados, y ha sido aceptado por la *International Union Against Cancer* (UICC) y por la *American Joint Committee on Cancer* (AJCC).

Este sistema se basa en la valoración de tres componentes:

- **T: extensión del tumor primario.**
- **N: ausencia o presencia, así como extensión de las metástasis en los ganglios de la zona.**
- **M: ausencia o presencia de afectación neoplásica a distancia.**

Este y otros sistemas de estadificación del cáncer son dinámicos y pueden modificarse con los años. El sistema TNM permite, fundamentalmente, dos clasificaciones para cada localización anatómica:

- **TNM clínico (TNM ó cTNM):** Es la clasificación clínica del cáncer antes de realizar un procedimiento quirúrgico, basada en la información obtenida de las diferentes exploraciones realizadas al paciente. Su principal utilidad radica en la selección y evaluación del tratamiento más adecuado.

- **TNM patológico (pTNM):** Es la clasificación histopatológica del cáncer después del tratamiento quirúrgico y precisa del estudio microscópico tanto del tumor primario (pT), de los ganglios linfáticos regionales (pN) y de las metástasis (pM). El pTNM aporta información pronóstica y la indicación de posibles tratamientos adyuvantes.

La administración de quimio y/o radioterapia previas a la cirugía, puede ser especificada a través del TNM con la utilización de un prefijo que indica la extensión de la enfermedad tras dicho tratamiento (p.e, yT1N0M0, indicaría que la enfermedad tras el tratamiento neoadyuvante está confinada a la localización primaria del tumor). La clasificación R (RX, R0, R1, R2) describe la extensión de la enfermedad residual normalmente tras la cirugía y la r, la de la enfermedad en el momento de la recurrencia (p.e. rcTON1M0).<sup>67</sup>

Después de establecer las categorías cTNM y/o pTNM estas son agrupadas en estadios (0, I, II, III y IV), en función de las agrupaciones de las diversas categorías T, N y M en cada localización anatómica.

## 1.5. FACTORES PRONÓSTICO.

El 90% de los tumores de cabeza y cuello son carcinomas escamosos lo que podría hacernos pensar en una enfermedad relativamente homogénea en comparación con otras neoplasias. Sin embargo, estudios moleculares ponen de manifiesto su gran heterogeneidad lo que puede dificultar no sólo el planteamiento terapéutico sino también la valoración pronóstica.<sup>68,69</sup>

En estas neoplasias han sido evaluados numerosos factores tanto relacionados con el paciente, el tumor o el tratamiento por su potencial influencia en el pronóstico. Los que tienen que ver con el paciente serían la edad, la comorbilidad y el estado general del enfermo que influyen en la elección de la terapéutica más apropiada. Aquellos relacionados tradicionalmente con el tumor y con re-

percusión directa sobre el tratamiento son la localización y extensión, tanto local, regional como metastática; de menor relevancia sería el grado histológico. Referente al tratamiento hay que destacar los márgenes quirúrgicos, la infiltración linfovascular o la afectación extracapsular adenopática.<sup>70,71</sup>

Paralelamente, también se han estudiado otros factores cuanti y cualitativos como la expresión de citokeratinas<sup>72</sup>, la vascularización del tumor<sup>73</sup> o el contenido del ADN tumoral. El valor de la ploidía aunque con un valor pronóstico controvertido en tumores sólidos parece tener relación con el tratamiento en el cáncer de cabeza y cuello<sup>74</sup>. También ha sido descrito que los tumores aneuploides laríngeos son más quimiosensibles<sup>75</sup> aunque la asociación con la radioterapia no está tan clara.<sup>76</sup>

La actividad proliferativa de las células tumorales determinada por inmunohistoquímica, por ejemplo con la proteína Ki67, también ha sido considerada un posible factor pronóstico puesto que parece favorecer la eficacia de algunos tratamientos de radioterapia cuando está aumentada pero está por confirmar.<sup>41</sup>

Igualmente algunas alteraciones genéticas han sido valoradas por su significación pronóstica. Poeta *et al.*<sup>49</sup> estudiaron prospectivamente la presencia de mutaciones de TP53 en 420 pacientes afectos de carcinoma de cabeza y cuello. El 53% de las muestras tuvieron mutaciones identificables en este gen y su presencia se asoció con una diferencia significativa en la supervivencia global (3,2 vs. 5,4 años; HR 1,4; IC 95%: 1,1-1,8; p= 0,009). Así mismo se ha observado que neoplasias con mutaciones de TP53 tienen una peor respuesta a los tratamientos con quimio y radioterapia<sup>77</sup>. Una mayor agresividad del tumor también parece relacionarse con la amplificación de 11q13 y la sobreexpresión de ciclina D1.<sup>50,51</sup>

Más recientemente, otros estudios del ADN y ARN están permitiendo el desarrollo de los perfiles moleculares tumorales que en algunos casos contribuyen a definir mejor el pronóstico de los pacientes afectos de una neoplasia. Es el caso del cáncer de mama. Perou *et al.*<sup>78</sup> proporcionaron una nueva clasificación taxo-

nómica tras la investigación sistemática de los patrones de expresión de miles de genes usando la técnica de microarrays de ADN y correlacionándolo con distintos fenotipos de pacientes tratadas homogéneamente. De esta manera, plantearon 4 subtipos según las características del tejido mamario (luminal, basal, HER2+ y normal).

En las neoplasias de cabeza y cuello, Chung *et al.*<sup>68</sup> a partir de 60 muestras de pacientes con esta patología, describieron 4 subgrupos con pronóstico diferente en función de los mismos. Los subtipos mostraban diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia libre de recurrencia e incluían uno relacionado con la activación de la vía del EGFR, otro con un patrón mesenquimal y otro con uno similar al epitelio normal, y un último con niveles elevados de enzimas antioxidantes y un patrón de expresión génica similar al producido por la exposición al tabaco. El análisis predijo con un 80% de exactitud las metástasis linfáticas cuando la localización del tumor y el estado de las adenopatías se valoraban de manera simultánea.

De Cecco *et al.*<sup>79</sup> basándose en un metaanálisis creado a partir de los datos de expresión génica con las características biológicas y vías de señalización alteradas de diferentes estudios, describieron 6 subtipos moleculares distintos de neoplasias de cabeza y cuello (clásico, inmunorreactivo, inflamatorio, VPH-asociado, mesenquimal y asociado a hipoxia). Se detectó un comportamiento más agresivo para los subtipos mesenquimal y asociado a hipoxia. La identificación de tumores con estas características permitiría una selección más eficaz de los tratamientos indicados en estos casos.

También en relación a estudios genéticos, otros autores<sup>80,81</sup> han detectado tumores diploides y aneuploides, ambos compartiendo las alteraciones cromosómicas más frecuentes, bien ganancias o amplificaciones cromosómicas. Smeets *et al.*<sup>82</sup> utilizando nuevas técnicas de hibridación, avalaron estos hallazgos al clasificar una muestra con 39 tumores orofaríngeos en tres subtipos en función de las aberraciones cromosómicas que se asociaban de manera estadís-

ticamente significativa con la supervivencia. La mejor supervivencia se observó en el grupo con menor número de alteraciones genómicas.

En general, estos estudios independientes ponen de manifiesto un grupo de tumores con un genoma aparentemente normal y un posible mejor pronóstico. Sin embargo, estos datos deben ser confirmados. La manera en que esta clasificación genética se puede conectar con la clasificación molecular en base a la propuesta de Chung *et al.* así como la implicación pronóstica, permanece sin ser aclarada.

Hasta el momento ninguno de estos factores histobiológicos/genéticos se ha confirmado que tenga una mayor influencia que la clasificación TNM. Sin embargo, en los últimos años han cobrado una especial relevancia, en cuanto a su papel pronóstico, la infección por el VPH y el EGFR.

La sobreexpresión del EGFR ha sido descrita en diferentes tumores epiteliales incluidos el cáncer de colon, mama, pulmón y cabeza y cuello, en el que se encuentra sobreexpresado hasta en el 90% de los casos en comparación con la mucosa normal. La co-expresión del receptor y sus ligandos implica una vía de regulación autocrina en la carcinogénesis de estas neoplasias. La relevancia clínica de la sobreexpresión del EGFR radica en que se ha demostrado que es un factor pronóstico independiente, puesto que los niveles elevados de EGFR se correlacionan con un estadio más avanzado, una menor supervivencia, una mayor tasa de recurrencia y una menor sensibilidad a la radioterapia. Todo ello refuerza la hipótesis de que la alteración de la función del EGFR juega un papel en la patogénesis del carcinoma de cabeza y cuello y por lo tanto podría ser una potencial diana a tener en cuenta para el tratamiento.<sup>6</sup>

El papel del VPH en las neoplasias de la esfera otorrinolaringológica fue puesto de manifiesto cuando en los años 80 se postuló que los oncogenes E6 y E7, cruciales en la patogénesis del cáncer de cérvix, podrían también estar implicados en la carcinogénesis de estos tumores, especialmente de los orofaríngeos. Posteriormente, se determinó que el serotipo 16 era el más frecuentemente im-

plicado y que incluso la infección, podía conferir un mejor pronóstico al paciente. Además de otras diferencias clínicas con los tumores VPH negativos, como el grupo de edad más joven al que afecta y su relación con las prácticas sexuales como base etiológica, parece evidente que también presenta un perfil genético diferente (**Tabla 1**). Los tumores virus positivos son típicamente TP53 nativos habiéndose demostrado en otros estudios que las mutaciones de este gen tienen también una importancia pronóstica. Es por ello, que se discute si estos tumores tienen un mejor pronóstico en relación a la propia infección o si son las mutaciones de TP53 las que confieren el peor pronóstico, o ambos. En cualquier caso, las bases biológicas que intervienen en el pronóstico de los tumores VPH positivos y negativos permanecen todavía por ser aclaradas.<sup>69</sup>

Lo que parece evidente es que los tumores VPH positivos conforman una entidad molecular diferente en el carcinoma de cabeza y cuello, con factores etiológicos diferentes que implican diferencias a nivel molecular y clínicas con incluso un mejor pronóstico. Son muchos los estudios en los que al compararse con tumores virus negativos, se asocian con unos mejores resultados en relación al riesgo de muerte por cáncer, con una disminución en torno al 60-80%. Esto parece que pueda tener relación con la ausencia del campo de cancerización inducido por tóxicos o por un incremento de la sensibilidad a la radioterapia y/o quimioterapia al mantener intacta la función apoptótica en ausencia de mutaciones de TP53. Los resultados desfavorables de algunos otros ensayos podrían tener relación con la heterogeneidad molecular inducida por el virus en las neoplasias<sup>83</sup>. Por ello, de cara a precisar con más exactitud los datos de su prevalencia y pronóstico, se vuelve imprescindible mejorar los métodos para la determinación de la infección puesto que todavía en la actualidad existen diferencias técnicas ostensibles en este sentido.

En cualquier caso, hasta la fecha, la supervivencia de los tumores de cabeza y cuello, viene determinada fundamentalmente por el estadio y la localización de la enfermedad. De manera estimada, en la mayoría de las localizaciones, la supervivencia a los 5 años para los tumores en estadio I es del 75-90%, del 40-70%

en el estadio II, del 20-50% en estadio III, y del 10-30% en el estadio IV (**Tabla 2**). La supervivencia a 5 años para todos los estadios de manera global oscilaría en torno al 60% siendo marcadamente inferior para determinadas localizaciones como la hipofaringe.<sup>84</sup>

## 1.6. TRATAMIENTO.

Los objetivos fundamentales del tratamiento oncológico del cáncer de cabeza y cuello consisten en eliminar la neoplasia y mantener unas funciones fisiológicas adecuadas además de conseguir un resultado estético aceptable.

- La eliminación de la neoplasia implica eliminar la enfermedad macroscópica y la enfermedad microscópica subclínica. La decisión de administrar el tratamiento en la enfermedad subclínica se basa en los cálculos que comparan la probabilidad de que exista esta enfermedad con la de que aparezcan complicaciones debido al tratamiento y de la posibilidad de rescate si la neoplasia recidiva en la localización probable de diseminación cuando no se administra el tratamiento electivo.
- El mantenimiento de una adecuada función fisiológica a pesar del tratamiento aplicado implica a:
  - 1) órganos de los sentidos (vista, oídos, equilibrio, gusto, olfato);
  - 2) masticación-deglución (mandíbula, dientes, lengua, glándulas salivales, paladar, faringe, laringe);
  - 3) respiración (laringe, tráquea), y
  - 4) lenguaje (laringe, lengua).
- La obtención de un resultado estético aceptable tras el tratamiento que permita al paciente sentirse bien.

Los objetivos terapéuticos sólo se consiguen con el consenso del equipo multidisciplinar implicado en el tratamiento (cirujano, oncólogo médico y radioterápico, radiólogo y anatomopatólogo). Tras la valoración del paciente hay que establecer entre todos el plan terapéutico teniendo siempre presente la decisión última del paciente así como determinados factores personales que puedan influir en dicha estrategia tales como:

- Edad y estado clínico general.
- Comorbilidades.
- Costumbres y estilo de vida.
- Profesión.

### **Opciones Terapéuticas:**

Al menos 2/3 de las neoplasias de cabeza y cuello debutan como enfermedad localmente avanzada (estadios III y IV) y requieren de un tratamiento multidisciplinar. Casi 1/3 de pacientes se presentan en estadios iniciales I y II, y son tratados habitualmente con cirugía y/o radioterapia con una tasa de curación entre el 70 y 90%, aunque no están exentos de recurrencias o segundos tumores. La radioterapia puede facilitar una mejor recuperación funcional de la zona afectada, pero presenta una serie de complicaciones y secuelas que la cirugía no tiene. Esta última juega un papel fundamental en los tumores localizados de orofaringe, hipofaringe y laringe. Cerca de un 10% de pacientes serán metastáticos ya desde el diagnóstico. En estos casos el tratamiento será exclusivamente paliativo con la quimioterapia como eje central.<sup>84</sup>

### 1.6.a. Cirugía.

Los principios del tratamiento quirúrgico siguen siendo los descritos a principios del siglo pasado:

“Retirar el tumor primario y el drenaje ganglionar regional, con el fin de disminuir las tasas de persistencia y de recaída tumoral”.

Este principio obliga al cirujano a conocer la anatomía funcional del sistema linfático cervical, con el fin de realizar un tratamiento óptimo con mínimas secuelas.

En los últimos años los avances tecnológicos han repercutido positivamente en todas las estrategias de tratamiento incluía la cirugía. En este sentido, los esfuerzos se han dirigido a disminuir la invasividad de los procedimientos y a mejorar las técnicas de reconstrucción para conseguir mejores resultados funcionales y estéticos.

A la hora de plantear el tratamiento quirúrgico de las neoplasias de cabeza y cuello hay una serie de conceptos que deben tenerse presentes:

- Tumor residual macroscópico. Un tratamiento quirúrgico potencialmente curativo debe reseca toda la neoplasia macroscópica. Se han descrito muchas técnicas quirúrgicas normalizadas pero es necesario individualizar cada caso. Aunque la radioterapia prequirúrgica o la quimioterapia pueden reducir el tamaño del tumor, cualquier modificación de la técnica quirúrgica debe tener en cuenta que tal disminución de tamaño no implica que se puedan reducir los márgenes de la técnica quirúrgica. Los márgenes quirúrgicos amplios mejoran el control local, pero en la región de cabeza y cuello suelen ser limitados. Cuando los márgenes son positivos o limitados, hay que considerar la administración de tratamiento postoperatorio.
- Colgajos. Los colgajos pediculados regionales más utilizados son el pectoral mayor, trapecio y dorsal ancho. Los colgajos libres microvascularizados más

empleados son la cara radial del antebrazo, la escápula, la cresta ilíaca, la cara lateral del brazo y los colgajos de yeyuno. Todos ellos, a excepción de la cara lateral del brazo y el yeyuno, pueden incluir hueso vascularizado.

- Las linfadenectomías cervicales, sin que se asocien con otra terapia combinada, pueden curar las metástasis cervicales ocultas clínicas o la afectación ganglionar limitada. La elección del tipo de linfadenectomía cervical (radical, modificada o más limitadas, selectivas o funcionales) dependerá de la afectación cervical de la neoplasia y/o de la probabilidad de que se haya producido una diseminación ganglionar.

### **1.6.b. Radioterapia.**

La radioterapia también ha experimentado en los últimos años mejoras en relación a los esquemas de fraccionamiento así como a las técnicas para su administración, como por ejemplo la intensidad modulada, que consigue una mayor precisión en la irradiación disminuyendo el daño a los tejidos sanos.

La selección de la dosis de radioterapia se basa en el tamaño tumoral y en las características clínicas. Las neoplasias microscópicas subclínicas precisan 50 Gy en 5 semanas; las lesiones pequeñas (T1) requieren 60 y 65 Gy; las lesiones intermedias (T2) 65 y 70 Gy, y las lesiones grandes (T3 y T4) suelen necesitar más de 70 Gy, e incluso así las posibilidades de que el control local sea óptimo no son elevadas.

Las complicaciones asociadas a la radioterapia suelen ser menores si se instaura el tratamiento oportuno en cuanto se detectan. Las escalas para medir la toxicidad tardía más utilizadas son los grados abreviados de la *Radiation Therapy Oncology Group (RTOG)/European Organization for Radiation Therapy in Cancer (EORTC)*, o el sistema más elaborado LENT (*Late Effects Normal Tissue*) de síntomas subjetivos, signos objetivos y criterios de tratamiento.<sup>1</sup>

### 1.6.c. Quimioterapia.

En lo que se refiere a la quimioterapia, podemos decir que se ha convertido en una parte integral del tratamiento de las neoplasias de cabeza y cuello no localizadas. La quimioterapia se ha utilizado simultáneamente con la radioterapia para las neoplasias avanzadas (concomitancia radical), tras los tratamientos locales (adyuvancia), antes del tratamiento local (neoadyuvancia o inducción), y como tratamiento de la recidiva o las metástasis (paliativa) aunque a día de hoy es una modalidad terapéutica en constante evolución.

Los citotóxicos se utilizan tanto en monoterapia como en combinación con unas tasas de respuesta que oscilan entre el 15 y el 35%. Los agentes más activos son el cisplatino, carboplatino, paclitaxel, docetaxel, metrotexate, 5-fluoracilo, bleomicina, ifosfamida y cetuximab. Las combinaciones más eficaces contienen derivados de platino junto con 5-fluoracilo o taxanos. En la enfermedad diseminada en primera línea el cetuximab ha conseguido la única mejora reseñable en supervivencia en los últimos años.<sup>85</sup>

La probabilidad de respuesta a la quimioterapia depende del estadio de la enfermedad y de los tratamientos recibidos previamente, llegando a ser hasta del doble para los pacientes vírgenes de tratamiento. Esto parece tener relación con los cambios en la irrigación tras la cirugía y/o radioterapia lo que podría originar la aparición de clones de células resistentes.

En lo que respecta al tratamiento según el estadio, en tumores localmente avanzados, habitualmente se administra de manera simultánea con la radioterapia, bien adyuvante a la cirugía si existen factores de riesgo que así lo aconsejen o bien con intención radical si el tumor no es reseccable o se desea una preservación de órgano, con resultados equiparables a la cirugía. En los últimos años ha cobrado relevancia la administración de la quimioterapia antes del tratamiento definitivo, lo que se conoce como neoadyuvancia.

Aunque las neoplasias de cabeza y cuello tienden a la diseminación ganglionar más que a la hematógica, también en estadios avanzados de la enfermedad podemos encontrar afectación metastática como forma de presentación con una incidencia alrededor del 10%. Los pulmones, el hígado y el hueso son las localizaciones más frecuentemente afectadas. Estos pacientes no se consideran curables y el tratamiento con quimioterapia tendrá principalmente un carácter paliativo. De manera global la supervivencia media de estos pacientes sin tratamiento estará entre los 3 y 6 meses.

Los efectos tóxicos de la quimioterapia derivan de su acción sobre las células sanas, principalmente aquellas con una alta capacidad de replicación como las de los folículos pilosos, médula ósea, tubo digestivo o sistema reproductor. Su importancia radica no sólo en el riesgo vital que puede conllevar en algunas ocasiones sino también en la influencia negativa que puede tener en la calidad de vida de los pacientes.

La toxicidad debe ser evaluada en cuanto a severidad, frecuencia y duración, teniendo en cuenta que tiene dos dimensiones, la subjetiva del paciente y la objetiva evaluable con el examen físico o los análisis de laboratorio. Para ello disponemos de los criterios de toxicidades comunes (CTC) que es un sistema ordenado según la severidad y la afectación de los diferentes órganos o sistemas<sup>1</sup>. Así mismo, es importante conocer los efectos secundarios asociados a cada citotóxico para poder prevenir la aparición de la toxicidad o en su defecto, tratarla precozmente. La mayoría de estos efectos adversos desaparecen gradualmente tras finalizar el tratamiento, salvo que se hayan ocasionado daños permanentes principalmente a nivel de corazón (miocardiopatía), pulmones (fibrosis), riñones (insuficiencia renal crónica), nervios periféricos (neuropatía) o en los órganos reproductores (esterilidad).

Por otro lado, la existencia de pacientes largos supervivientes, ha permitido conocer los efectos tóxicos tardíos, siendo tal vez el más grave, la aparición de segundos tumores. Los quimioterápicos con mayor riesgo de inducir segundas

neoplasias son los alquilantes (nitrosureas, clorambucil, ciclofosfamida, melfalán y busulfán), inhibidores de la topoisomerasa II (etopósido, irinotecan) y antraciclinas (doxorubicina, epirubicina, daunorubicina, actinomicina D).<sup>86</sup>

#### **1.6.d. Cetuximab.**

Hasta los años 70 en los que se describió la actividad de los derivados del platino en el cáncer de cabeza y cuello, el metrotexate y la bleomicina habían sido los agentes más ampliamente utilizados en esta patología. Pocos años después, al demostrarse la mejora de la supervivencia global frente al metrotexate o los mejores cuidados de soporte, el cisplatino pasó a formar parte del eje central del tratamiento quimioterápico del carcinoma escamoso de cabeza y cuello recurrente o metastático. Posteriormente, alrededor de la década de los 90, diferentes estudios aleatorizados demostraron el beneficio en las tasas de respuesta de los dobletes con platino, fundamentalmente la combinación con fluoracilo, aunque a expensas de una mayor toxicidad sin una clara ventaja en la supervivencia. La aparición de los taxanos, evidenció su actividad en este tipo de tumores, pero sin impactar tampoco en la supervivencia.<sup>85</sup>

Los avances en la biología celular han permitido desarrollar nuevos agentes dirigidos específicamente contra dianas moleculares presentes en el tumor, y aportar las mejoras más significativas de los últimos años en el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello, sin un aumento importante de la toxicidad. Es el caso del EGFR, sobreexpresado en el carcinoma de cabeza y cuello hasta en el 90% de los casos. Estudios preclínicos determinaron que agentes dirigidos contra este receptor como los anticuerpos anti-EGFR o los inhibidores tirosina quinasa tenían actividad antitumoral en monoterapia o en combinación con otros agentes. Sin embargo, los inhibidores no han demostrado suficiente beneficio clínico en las neoplasias de la esfera otorrinolaringológica hasta la fecha.

Los resultados de diferentes ensayos con gefitinib, erlotinib, lapatinib o dacomitinib han sido tan modestos que se ha descartado su uso, al menos, en enfermedad metastática<sup>85</sup>. Hasta el momento, sólo el afatinib, un pan-inhibidor tirosina quinasa (EGFR, HER2 y HER4) ha demostrado una actividad antitumoral comparable a la del cetuximab en el cáncer de cabeza y cuello recurrente o metastático. Sin embargo, a pesar de los datos favorables de eficacia<sup>87,88</sup> el inhibidor no cuenta todavía con la aprobación para su uso en el carcinoma escamoso de cabeza y cuello.

Realmente, han sido los anticuerpos quiméricos o humanizados IgG, dirigidos contra diferentes epitopos del EGFR, los que primero han conseguido bloquear eficazmente la señalización desencadenada por la unión del ligando con el EGFR, impidiendo de esta manera el desarrollo de la actividad celular tumoral en el cáncer de cabeza y cuello<sup>89</sup>. De entre estos agentes el único aprobado hasta la fecha por las autoridades sanitarias para su uso clínico ha sido el cetuximab, bien en combinación con radioterapia en enfermedad localmente avanzada no reseccable, o en combinación o monoterapia en enfermedad metastática.<sup>7,90</sup>

El cetuximab (IMC-225, Erbitux) es uno de los anticuerpos anti-EGFR con mayor desarrollo clínico. Se trata de un anticuerpo monoclonal IgG1 recombinante humano y de ratón, que se une específicamente al dominio extracelular del EGFR, incluso con una mayor afinidad que los ligandos endógenos, el factor de crecimiento epidérmico (*Epidermic Growth Factor*: EGF) o el factor de crecimiento transformante alfa (*Transforming Growth Factor alpha*: TGF $\alpha$ ). Esta unión, conduce a la internalización del receptor sin estimular su fosforilización, y en consecuencia inhibe la cascada de reacciones en la vía molecular correspondiente que tendría como última consecuencia la activación celular. Por lo tanto, la eficacia antitumoral del cetuximab es el resultado de diferentes mecanismos que incluyen la inhibición del ciclo celular, de la angiogénesis y de la reparación celular tras la administración de quimioterapia o radioterapia, la activación de la apoptosis, así como un potencial aumento de la actividad inmunológica, con-

cretamente de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (*Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity*: ADCC).

Sin embargo, el cetuximab por sí solo parece que no es suficiente para inducir la muerte celular programada siendo su efecto fundamentalmente citostático, al menos en la mayoría de las líneas celulares estudiadas hasta la fecha. Aunque, por otro lado, su combinación con diferentes agentes quimioterápicos parece aumentar esta capacidad apoptótica además de potenciar los efectos antitumorales de los mismos.<sup>91</sup>

A raíz de diferentes estudios preclínicos, tanto en cultivos celulares como en ratones que demostraron su actividad en células neoplásicas que sobreexpresaban el EGFR, se desarrollaron los estudios clínicos que demostraron su eficacia antitumoral en combinación o en monoterapia<sup>92</sup>. En el caso de los tumores de cabeza y cuello destacamos a continuación los más importantes:

#### **1.6.d1. Con Radioterapia.**

En 2001, Robert *et al.*<sup>93</sup> evaluaron en un estudio fase I, la combinación de radioterapia con cetuximab en 15 pacientes con carcinoma de cabeza y cuello localmente avanzado. Se observó una respuesta completa en 13 de los 15 pacientes y 2 respuestas parciales, confirmando la seguridad de la dosis de carga entre 400-500 mg/m<sup>2</sup> y de mantenimiento semanal con 250 mg/m<sup>2</sup> para estudios posteriores. Más adelante Bonner *et al.*<sup>7</sup> demostraron que el cetuximab en combinación con radioterapia mejoraba el control loco-regional y la supervivencia global en pacientes con neoplasias de cabeza y cuello localmente avanzadas. En este ensayo fase III, 424 pacientes fueron aleatorizados a recibir radioterapia sola (213 pacientes) frente a radioterapia en combinación con cetuximab (211 pacientes). Se administró un boost concomitante hasta en el 56% de los casos. El anticuerpo anti-EGFR se administraba una semana antes de la radioterapia a dosis de carga de 400 mg/m<sup>2</sup> seguido de 250 mg/m<sup>2</sup> semanales durante la radiote-

rapia. El control loco-regional y tanto la supervivencia libre de progresión como la supervivencia global, resultaron favorables para la combinación. Además, con el tratamiento experimental se observó un descenso del riesgo de progresión loco-regional del 32% y del riesgo de muerte del 26%. Sin embargo, la tasa de metástasis a 1 año y 2 años no fueron diferentes entre los grupos. En un subanálisis no planeado, el beneficio en la supervivencia se incrementó en pacientes con tumores orofaríngeos (amígdala y base de lengua) y en aquellos que recibieron radioterapia acelerada con boost concomitante. La adición del cetuximab no añadió más toxicidad de manera global salvo por la incidencia de reacciones infusionales y rash acneiforme. En relación a este último, se estableció una correlación entre el rash inducido por el cetuximab y la eficacia del fármaco, determinándose que aquellos pacientes con un rash  $\geq$  grado 2 tenían mejor supervivencia que aquellos con un grado 1 o nada. La actualización de los datos a 5 años confirmó estos resultados (supervivencia global a 5 años: 45,6% vs. 36,4%,  $p=0,018$ )<sup>94</sup>. Sin embargo su interpretación es difícil porque no se estableció una comparación con la combinación de radioterapia y quimioterapia. Esto se debe a que cuando el estudio fue diseñado, todavía la adición del cisplatino a la radioterapia era motivo de debate, por lo que no es posible conocer si resultaría superior al cetuximab.

A pesar de ello, las guías de tratamiento, incorporaron al agente anti-EGFR de manera equiparable a la combinación de quimioterapia y radioterapia en el carcinoma escamoso de cabeza y cuello localmente avanzado tras la aprobación por la administración de los alimentos y medicamentos (*Food and Drug Administration: FDA*) en el 2006.

#### **1.6.d2. Con Quimioterapia.**

El ensayo del grupo cooperativo de oncología del Este (*Eastern Cooperative Oncology Group: ECOG*) 5397 fue el primero en demostrar la actividad del cetuximab como tratamiento de inicio en el cáncer de cabeza y cuello recurrente o

metastático<sup>95</sup>. Este estudio aleatorizado comparaba en 117 pacientes recién diagnosticados de la patología mencionada, el tratamiento con cisplatino (100 mg/m<sup>2</sup> cada 4 semanas) y cetuximab (400 mg/m<sup>2</sup> dosis de carga, seguido de 250 mg/m<sup>2</sup> semanal) frente a cisplatino y placebo. La tasa de respuesta fue claramente mejor para el brazo experimental (26% vs. 10%, respectivamente; p= 0,03) pero sin beneficios en la supervivencia, aunque no tenía la potencia estadística para ello.

Sobre esta base, el ensayo *Erbix in First-Line Treatment of Recurrent or Metastatic Head and Neck Cancer* (EXTREME) confirmó los datos previos pero además fue el primer fase III en carcinoma escamoso de cuello recurrente o metastático que demostró un beneficio en la supervivencia. Se aleatorizaron 442 pacientes a recibir cisplatino (100 mg/m<sup>2</sup>) o carboplatino (área bajo la curva, 5 mg/mL/min) día 1, seguido de fluoracilo (1,000 mg/m<sup>2</sup> por día durante 4 días), cada 3 semanas por un máximo de 6 ciclos o la misma quimioterapia junto con cetuximab (400 mg/m<sup>2</sup> dosis de carga, seguido de 250 mg/m<sup>2</sup> semanal). Los pacientes en este brazo, continuaron recibiendo cetuximab de mantenimiento hasta la progresión de la enfermedad o toxicidad intolerable. No se permitió el cruzamiento entre brazos. El objetivo primario era la supervivencia global, que fue estadísticamente significativa a favor del brazo experimental con cetuximab (10,1 meses vs. 7,4 meses, p= 0,04). Así mismo, el cetuximab también prolongó la supervivencia libre de progresión (5,6 meses vs. 3,3 meses, p= 0,001) y la tasa de respuesta (36% vs. 20%, p= 0,001). Los pacientes que recibieron el anticuerpo presentaron mayor toxicidad cutánea grado 3 (p= 0,001), hipomagnesemia (p= 0,05) y sepsis (p= 0,02) pero sin asociarse a un detrimento en la calidad de vida. El beneficio pareció ser más pronunciado en pacientes menores de 65 años con buen estado general y que recibieron cisplatino frente a carboplatino aunque los datos, dado que se trata de un subanálisis, no tienen suficiente poder estadístico.<sup>8</sup>

En pacientes con carcinoma de cabeza y cuello recurrente o metastático platino refractarios o inadecuados para la poliquimioterapia previa, Hitt *et al.*<sup>96</sup> evi-

denciaron en un fase II de un solo brazo con 46 pacientes, datos favorables para la combinación de cetuximab (400 mg/m<sup>2</sup> dosis de carga, seguido de 250 mg/m<sup>2</sup> semanal) con paclitaxel (80 mg/m<sup>2</sup> semanal). La tasa de respuesta fue del 54% (IC 95%, 39%-69%), con una tasa de respuesta completa del 22% y de control de la enfermedad del 80%. La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 4,2 meses (IC 95%, 2,9-5,5 meses), y la de supervivencia global de 8,1 meses (IC 95%, 6,6-9,6 meses), comparable a controles históricos.

El cetuximab en monoterapia para enfermedad platino resistente sólo ha demostrado una modesta actividad. En un estudio con 103 pacientes con carcinoma recurrente o metastático de cabeza y cuello resistente a platino, el objetivo primario de tasa de respuesta fue del 13% (IC 95%, 7%-21%) y de control de enfermedad del 46%. La mediana de tiempo a la progresión fue de 70 días, la supervivencia global de 178 días y no parecía haber beneficio al añadir el cisplatino tras progresión.<sup>90</sup>

#### **1.6.d3. Otras combinaciones y estudios en marcha.**

En general, la estrategia más planteada en cuanto al uso e integración del cetuximab en la práctica clínica habitual, ha sido la combinación con la quimioterapia, fundamentalmente esquemas basados en derivados del platino, y radioterapia simultáneas en carcinomas de cabeza y cuello localmente avanzados irsecables. Diferentes ensayos fase I y II demostraron su eficacia y perfil de seguridad<sup>97-101</sup>. Sin embargo, el estudio fase III RTOG 0522, que evaluó la radioterapia y quimioterapia concomitante (cisplatino con radioterapia acelerada) con o sin cetuximab para los estadios III/IV de carcinoma de cabeza y cuello, no demostró una mejora de la supervivencia libre de progresión o global al añadir el anti-EGFR<sup>102</sup>. En este estudio, 444 pacientes fueron aleatorizados a recibir cetuximab y cisplatino concomitante con radioterapia frente a 447 pacientes tratados con cisplatino y radioterapia. No hubo diferencias en el objetivo primario, la supervivencia libre de progresión a 3 años (61,2% vs. 58,9%, p= 0,76). Tampoco

en la supervivencia global a 3 años (72,9% vs. 75,8%,  $p= 0,32$ ), la tasa de recurrencia loco-regional (19,9% vs. 25,9%,  $p= 0,97$ ), o las metástasis a distancia (13,0% vs. 9,7%,  $p= 0,08$ ). El brazo experimental presentó más mucositis grado 3-4 (43,2% vs. 33,3%) así como rash, fatiga, anorexia e hipocaliemia, pero no toxicidades tardías. También tuvo más interrupciones del tratamiento (26,9% vs. 15,1%;  $p<0,001$ ). Los pacientes con carcinomas de orofaringe p16 positivos mostraron una mejor supervivencia libre de progresión (72,8% vs. 49,2%;  $p< 0,001$ ) y global (85,6% vs. 60,1%;  $p < 0,001$ ).

Con estos datos, la integración del cetuximab en la combinación de la quimioterapia y radioterapia clásica en el carcinoma escamoso de cabeza y cuello localmente avanzado es un uso que todavía permanece por ser validado. La pregunta de si el cetuximab podría sustituir al platino como radiosensibilizador con la misma eficacia sigue sin respuesta y por ello diferentes estudios siguen en marcha para intentar responderla<sup>103</sup> y valorar incluso la expansión de su uso en las diferentes estrategias terapéuticas como la inducción o la adyuvancia.<sup>104,105</sup>

#### **1.6.d4. Otros anticuerpos antiEGFR en el cáncer de cabeza y cuello.**

- Panitumumab

El panitumumab es un anticuerpo monoclonal completamente humanizado (IgG2) que bloquea la señalización de la vía del EGFR al bloquear el dominio extracelular del receptor. Aunque todavía no se conoce con exactitud el epitopo de unión, algunos estudios lo sitúan próximo al del cetuximab. Dada su estructura y composición, presenta una menor tasa de reacciones de hipersensibilidad (<1%) y una vida media más larga (2 semanas vs. 1 semana del cetuximab). Por ser un anticuerpo IgG2 parece tener menos capacidad de activar la respuesta del sistema inmune a través de la ADCC así como la activación de las células *natural killers* (NK).<sup>106</sup>

La eficacia del panitumumab en el carcinoma de cabeza y cuello localmente avanzado fue evaluada en dos ensayos fase II (CONCERT-1<sup>107</sup> y CONCERT-2<sup>108</sup>) y en la enfermedad metastática o recurrente en el fase III SPECTRUM<sup>109</sup>. Los resultados de eficacia y supervivencia no resultaron estadísticamente significativos con lo que el panitumumab no ha obtenido la aprobación para su uso en este tipo de neoplasias.

- Nimotuzumab

El nimotuzumab es un anticuerpo humanizado IgG1 anti-EGFR con afinidad intermedia por este receptor pero con capacidad de provocar la respuesta inmune ADCC. Probada su tolerabilidad y eficacia en diferentes fases I<sup>110,111</sup>, dos fases II en pacientes con neoplasias de cabeza y cuello localmente avanzadas han avalado dichos resultados en combinación con radioterapia<sup>112,113</sup> aunque tampoco ha conseguido su aprobación en esta área.

- Zalutumumab

Zalutumumab es un anticuerpo monoclonal completamente humanizado IgG1 con gran afinidad por el EGFR. Dos estudios fase III con pacientes afectados de carcinoma escamoso de cabeza y cuello localmente avanzado<sup>114</sup> y enfermedad metastática<sup>115</sup> respectivamente no mostraron diferencias estadísticamente significativas en control de la enfermedad o supervivencia por lo que este anti-EGFR no ha continuado su desarrollo en este escenario.

### **1.6.e. Terapias combinadas.**

Los tumores primarios de pequeño tamaño (T1 y T2) con ganglios clínicamente negativos se tratan con cirugía o radioterapia. La tasa de curaciones con cualquiera de las formas de tratamiento es prácticamente la misma; por tanto, la que se elija dependerá sobre todo del pronóstico funcional y de las preferencias

del paciente. Los tumores primarios de gran tamaño (T3 y T4) o con presencia de metástasis ganglionares cervicales, suelen necesitar un plan de tratamiento combinado.

El tratamiento quirúrgico potencialmente curativo debe reseca toda la neoplasia macroscópica, y del mismo modo, aunque la radioterapia y/o la quimioterapia pre-quirúrgicas pueden disminuir el tamaño de la neoplasia, cualquier modificación de la cirugía debe tener presente que esa disminución de tamaño no siempre implica poder reducir el alcance de la resección. Los ganglios clínicamente positivos se tratan con linfadenectomía radical o linfadenectomía cervical modificada.

Si se trata la lesión primaria con radioterapia, hay que administrar al menos 50 Gy a ambos lados del cuello en 5 semanas en los casos con adenopatías negativas (N0). Si existen ganglios cervicales positivos a la exploración, el cuello deberá tratarse con dosis de hasta 70 Gy. En caso de valorar la cirugía como primera opción, se suele realizar también una linfadenectomía cervical, y se administra la radioterapia adyuvante, al menos 60 Gy en los casos N2. Si se asocian factores de riesgo, como la extensión extracapsular o los márgenes afectados, la dosis posquirúrgica deberá alcanzar los 66 Gy, casos además en los que estaría indicada la concomitancia con quimioterapia.

Los ganglios cervicales inoperables de entrada por fijación a la base del cráneo, a la columna cervical, a los músculos prevertebrales o a los vasos carotídeos deben radiarse con o sin quimioterapia concomitante antes de la cirugía si es que en algún momento se consideran resecables. El tratamiento profiláctico quirúrgico de los ganglios cervicales vendrá determinado por la localización primaria de la neoplasia y el tamaño/extensión por lo que habrá que individualizar cada caso.

Respecto a la quimioterapia los ensayos clínicos apoyan su empleo en los protocolos de conservación del órgano para los tumores localmente avanzados tanto en concomitancia como en neoadyuvancia. La utilización simultánea de la ra-

dioterapia y quimioterapia en adyuvancia también ha obtenido beneficios sobre el control local y regional en ensayos aleatorizados.

### **1.7. RECIDIVAS Y SEGUNDAS NEOPLASIAS.**

Los supervivientes a un carcinoma de cabeza y cuello hacen frente a la posibilidad de segundos tumores primarios de cualquier localización en el tracto aéreo-digestivo, con una incidencia anual que varía del 3–5%<sup>116,117</sup>. Esto está relacionado con lo que se conoce como “campo de cancerización”, el conjunto de alteraciones genéticas acumuladas en la mucosa por el contacto prolongado con agentes carcinogénicos como el tabaco y el alcohol. La mayoría de las recidivas suelen producirse en los 2 primeros años desde el diagnóstico, son más infrecuentes tras los 4 primeros y su incidencia se relaciona directamente con el estadio y localización del tumor así como con los resultados post-tratamiento.

Por otro lado, es cada vez más evidente que las terapias agresivas mejoran el control de la neoplasia a nivel loco-regional, aunque con una escasa influencia en la supervivencia global. Esto puede deberse a que la mejora en las tasas de respuesta con una repercusión inicial en la supervivencia de los pacientes con tumores en estadios localmente avanzados, se acompaña paradójicamente de una inesperada y elevada incidencia de metástasis hematógenas. Los pacientes con neoplasias primarias de gran tamaño y metástasis ganglionares cervicales bilaterales pueden presentar metástasis a distancia entre el 40 y 70% de los casos. La incidencia de las segundas neoplasias en los pacientes con carcinoma de cabeza y cuello oscila entre el 20 y 40% según la localización.

### **1.8. EL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO (EGFR).**

### 1.8.a. Descubrimiento, estructura y mecanismo de acción.

Stanley Cohen aisló y caracterizó por primera vez en 1962 una proteína de glándula salival de ratón implicada en la odontogénesis. Cuando posteriormente se observó que estimulaba la proliferación de células epiteliales se la denominó EGF. Una década después, Graham Carpenter descubrió la diana de este factor, una proteína transmembrana de 170 kilodalton, a la que bautizó como EGFR.

En 1984 se consiguió caracterizar la secuencia del EGFR y casi de manera paralela se descubrió que la fosforilización de los residuos tirosina quinasa de algunas proteínas podía desempeñar un papel crucial en la carcinogénesis. Al poco tiempo se confirmaba la naturaleza tirosina quinasa del EGFR y a partir de ahí diferentes estudios llevaron al esclarecimiento de la regulación de las vías de señalización del receptor epidérmico. También en los años 80, otros estudios describieron la sobreexpresión del EGFR en diferentes tumores epiteliales apoyando su implicación en la carcinogénesis. Estos hallazgos impulsaron la investigación con agentes diana para bloquear el EGFR.

Mendelsohn *et al.*<sup>60,118</sup> desarrollaron el mAb225 (C225), un anticuerpo anti-EGFR dirigido contra el dominio extracelular impidiendo su unión al ligando, que demostró una actividad antitumoral en cultivos y ratones con xenoinjertos. La FDA aceptó su uso en el cáncer colorrectal en el 2004. Un poco antes, en el 2003, había aprobado un inhibidor tirosina quinasa del receptor, el gefitinib, con indicación en el cáncer de pulmón no célula pequeña<sup>119</sup>. Sin embargo, los resultados terapéuticos no han sido los esperados y esto se debe en gran parte a la aparición, casi de manera paralela a su utilización, de las resistencias farmacológicas.

Actualmente se sabe que el EGFR, o también denominado ErbB1 o HER1, es una glicoproteína transmembrana ampliamente expresada en células de origen epitelial, mesenquimal y neuronal que junto con otras tres proteínas (HER2, HER3 y HER4) forman la familia de receptores con actividad tirosina quinasa conocida como HER/ErbB.<sup>120</sup>

Tanto el EGFR como el resto de proteínas contienen un dominio extracelular de diferente conformación para la unión a ligandos (dominios I, II, III y IV), otro transmembrana de anclaje a la célula y otro citoplasmático carboxilo terminal con actividad tirosina quinasa. En condiciones fisiológicas la activación del receptor depende de la disponibilidad de ligandos, agrupados de manera conjunta en la familia de EGF, que se divide en tres grupos diferentes<sup>121</sup>:

- El primero incluye al EGF, al TGF- $\alpha$  y la anfiregulina, todos de unión específica al EGFR.
- Al segundo pertenecen la betacelulina, el factor de crecimiento homólogo al factor de crecimiento epidérmico ligado a heparina (*Heparin-Binding EGF*: HB-EGF) y la epiregulina que se unen al EGFR y al HER4.
- Y el tercer grupo compuesto por las neuregulinas (*neuregulins*: NRG) 1-4, que se clasifican en función de su capacidad de unión al HER3 y 4 (NRG 1 y 2) o sólo al 4 (NRG 3 y 4).<sup>122</sup>

La unión del ligando con el receptor conlleva la homo y heterodimerización entre los diferentes receptores de la familia HER. Además de por el ligando específico, el EGFR puede ser activado indirectamente por los receptores acoplados a proteínas G (*G-Protein-Coupled Receptors*: GPCR) en el proceso denominado transactivación. Los ligandos de estas proteínas como la prostaglandina E2 o la bradiquinina, han sido relacionados también con la fisiopatología de múltiples tumores incluido el cáncer de cabeza y cuello.<sup>123</sup>

Con la dimerización se produce la activación del dominio intracelular con actividad tirosina quinasa que induce la fosforilización de residuos tirosina intrínsecos. Estos sirven como sitios de unión a una amplia gama de proteínas de anclaje que activan diferentes cascadas de señalización intracelular<sup>121</sup>. Como los receptores HER están dotados de características distintivas (p.e el HER2 no tiene ligandos conocidos o el HER3 no tiene actividad tirosina quinasa), presentan también una interdependencia e interacción con diferentes resultados biológi-

cos. Por eso, aunque todos activan a las quinasas reguladas por señales extracelulares (Extracellular signal-Regulated Kinase: ERK 1/2) a través del reclutamiento de la proteína ligada al receptor del factor de crecimiento 2 (*Growth factor receptor bound 2: Grb2*) o los adaptadores Src que contiene dominio de homología 2 (*Src Homology 2 Domain Containing: Shc*), la activación de fosfoinositol 3 quinasa (*Phosphoinositide-3-Kinase: PI3K*) es más fácil a través de HER3 y HER4 por su capacidad de unirse directamente a p85 (la subunidad regulatoria de PI3K). También es conocido que la heterodimerización entre HER2 y HER3 presenta la señal oncogénica más intensa.

Por lo tanto, la estimulación del EGFR implica la activación de diferentes cascadas de señalización determinadas por el tipo de ligando, la conformación de los dímeros y la disponibilidad de las proteínas de unión fosfotirosina. Una vez finalizada su función, el complejo ligando receptor se internaliza y la señalización finaliza.<sup>6,91</sup>

### **1.8.b. Alteraciones del EGFR en células malignizadas.**

El EGFR tiene un papel central en el desarrollo fisiológico del ser humano pero su desregulación también puede ocasionar la transformación celular maligna. Una de las alteraciones más frecuentes es su sobreexpresión. La elevación en el número de copias del EGFR es un evento somático característico en el desarrollo de la neoplasia así como un indicador de mal pronóstico en las de cabeza y cuello<sup>124,125</sup>, donde el EGFR se encuentra sobreexpresado hasta en el 90% o más de los casos<sup>6</sup>. El principal mecanismo parece ser epigenético, con la activación génica del EGFR como causa más probable. Su aparición puede ser el resultado de un incremento en el número de cromosomas que codifiquen para el gen (polisomía) o de la amplificación local de una región del cromosoma (amplificación). El aumento del número de copias puede indicar que la actividad de un tumor es dependiente de la misma lo que se conoce como adicción oncogénica.<sup>126</sup>

Ang *et al.*<sup>63</sup> llevaron a cabo en un fase III prospectivo de la RTOG, el análisis de la sobreexpresión de EGFR para determinar su impacto en la supervivencia y recaída de la enfermedad con los pacientes afectos de cáncer de cabeza y cuello. Los resultados mostraron que la expresión de EGFR no se relacionaba con el estadio de la enfermedad o el estado general del paciente. Sin embargo, los autores observaron que la expresión de EGFR era un fuerte indicador pronóstico para la supervivencia global y libre de progresión de la enfermedad así como para la recaída local aunque no a distancia, lo que apoyaría los datos preclínicos de que la sobreexpresión es un indicador de radioresistencia *in vitro*<sup>127</sup> e *in vivo*<sup>128</sup>. De hecho, la alta incidencia de recaída local frente a las metástasis en otros órganos, sugería que los pacientes con neoplasias con elevada sobreexpresión de EGFR podrían beneficiarse de tratamientos loco-regionales más agresivos.

Inicialmente y dada la alta especificidad de los anticuerpos monoclonales anti-EGFR por el dominio extracelular del receptor, se consideró que estos agentes serían más efectivos cuanto mayor fuese la expresión del EGFR en el tumor e incluso se postuló su valor como marcador predictivo de respuesta. Sin embargo nada de esto ha podido ser confirmado.

Las mutaciones del EGFR también pueden conducir a la activación constitutiva del receptor y favorecer el desarrollo de las neoplasias. Una de las formas mutadas con capacidad tumorigénica es la forma conocida como EGFRvIII o variante III, que carece de dominio extracelular de unión al ligando por la pérdida de 267 aminoácidos correspondientes a los exones 2 a 7. Su presencia ha sido descrita en diferentes neoplasias como las ováricas, pulmonares, de cabeza y cuello o los glioblastomas, pero no en el tejido sano. Las mutaciones en el dominio intracelular del receptor son también frecuentes en diversos carcinomas como el de pulmón hasta en un 40% o los glioblastomas hasta en un 20%. Sin embargo en las neoplasias de cabeza y cuello su incidencia es baja y varía de acuerdo con el origen étnico (1% en los caucásicos vs. 7% en los asiáticos).<sup>129</sup>

Otra alteración observada a nivel del EGFR son los polimorfismos, que ocurren de manera fisiológica y suponen el cambio o pequeñas deleciones o inserciones de nucleótidos dentro del genoma. Dichas variaciones en la secuencia del ADN pueden afectar a la función del gen, o favorecer el desarrollo de un tumor o condicionar la respuesta terapéutica.<sup>130</sup>

En lo que respecta a los ligandos, se ha observado que algunos tumores aumentan la expresión de los factores de crecimiento para incrementar la estimulación de la señalización intracelular de manera autocrina<sup>131</sup>. Tinhofer *et al.*<sup>132</sup> analizaron por inmunohistoquímica los niveles de expresión de anfiregulina en 47 muestras de biopsias de pacientes con carcinoma de cabeza y cuello recurrente o metastático tratados con poliquimioterapia. El 45% de las muestras revelaron una sobreexpresión del ligando lo que se asoció a una peor supervivencia global (HR: 2,2, p= 0,002) y libre de progresión (HR 2,2, p= 0,019).

### 1.8.c. Transducción de señales por el EGFR.

Las dos principales vías de señalización activadas por el EGFR incluyen:

- El eje de RAS / RAF / proteínas quinasas activadas por mitógenos (*Mitogen Activated Protein Kinases*: MAPK), responsable fundamentalmente de la transcripción, progresión y proliferación celular.
- El eje PI3K, que promueve la activación de AKT/mTOR (*mammalian Target Of Rapamycin*: diana de la rapamicina en mamíferos). A su vez, mediante fosforilización, mTOR modula a la proteína 3-2 ligada al factor eucariótico de traducción 4E (*Eukaryotic translation initiation factor 4E Binding Protein 3-2*: 4EBP)1 que libera al factor eucariótico de traducción 4E (*Eukaryotic translation initiation Factor 4E*: eIF4E), regulando el proceso de traducción proteico. Además es responsable de señales antiapoptóticas.

También se ha documentado el papel de otras vías como la de las tirosina quinasas Src y la fosfolipasa C- $\gamma$  (*Phospholipase C- $\gamma$ : PLC $\gamma$* ) más implicadas en la invasión tumoral, o la proteína quinasa C (*Protein Kinase C: PKC*) y la de transductores de señales y activadores de la transcripción (*Signal Transducers And Activators of Transcription: STAT*)<sup>121,133,134</sup>. Además de esta vía citoplasmática, el EGFR actúa como una proteína chaperona de membrana para la proteína transportadora de sodio/glucosa (*Sodium-Glucose Linked Transporter: SGLT1*)<sup>135</sup> lo que sugiere una función quinasa independiente del EGFR a la hora de mantener la homeostasis celular.

Una vez que el EGFR entra en el núcleo puede funcionar de dos maneras. Una como factor de transcripción debido a su actividad intrínseca de transactivación; con la ayuda de un cofactor de transcripción de unión al ADN como el STAT, el EGFR nuclear puede unirse a la secuencia rica en A/T en los promotores de múltiples genes incluido el de ciclina D1, la sintasa inducible por óxido nítrico (*inducible Nitric Oxide Synthase: iNOS*) y Aurora-A (un miembro de la familia mitótica seronina/treonina quinasas) para regular la transcripción. La segunda sería a través del dominio citoplasmático tirosina quinasa del EGFR que puede fosforilar directamente a otras proteínas relacionados con la proliferación celular.<sup>136</sup>

#### **1.8.d. Señalización a través del EGFR en células normales y en células malignizadas.**

La motilidad celular y la invasividad son características de las células tumorales, capaces de alterar las uniones intercelulares y de secretar enzimas proteolíticas que degradan o modifican la matriz extracelular<sup>137</sup>. Esto facilita la migración y el acceso al estroma circundante y a los compartimentos vasculares, desde donde pueden metastatizar a otras regiones. Los factores de crecimiento, incluidos los ligandos del EGFR, pueden aumentar la motilidad celular y la invasividad<sup>138</sup>. Por ejemplo, el EGF puede inducir la inactivación de quinasas de adhesión focal (*Focal Adhesion Kinase: FAK*) lo que facilita la separación de la matriz

extracelular y en consecuencia la alteración del contacto de la célula con la misma.<sup>139</sup>

La familia de receptores ErbB y sus ligandos están implicados en la comunicación entre las células tumorales y el resto de células que conforman su microambiente y que las permite crecer, proliferar e invadir. El EGFR se activa en las células endoteliales asociadas al tumor pero no en las células endoteliales de regiones no implicadas, lo que sugiere que la activación del EGFR y su expresión en las células endoteliales está condicionada por el microambiente del órgano.<sup>140</sup> También se postula que las células tumorales secretan factores homólogos de crecimiento EGF que pueden actuar directamente sobre las células endoteliales y favorecer el desarrollo de la neoplasia.<sup>141</sup>

La duración de la señal del EGFR se regula por la internalización y degradación del receptor. Una vez finalizada su función, el complejo receptor-ligando activado es endocitado y degradado en los lisosomas o reciclado de nuevo a la membrana plasmática<sup>142</sup>. En condiciones fisiológicas, el complejo EGFR-ligando puede trasladarse al núcleo donde es capaz de modular la transcripción génica al interactuar con STAT3.<sup>143</sup>

La transactivación del EGFR, es decir, la estimulación de los receptores como resultado de la interacción con diferentes proteínas de señalización y receptores de membrana en ausencia de un ligando, es otro mecanismo de activación estudiado en el EGFR y relacionado con la malignización celular.<sup>144-146</sup>

Las mutaciones del EGFR también influyen en su señalización. La presencia de la forma mutada EGFRvIII, constitutivamente activada y pobremente internalizada, resulta en una elevación de la capacidad tumorigénica<sup>147</sup>. Las mutaciones producidas en su dominio extracelular con alteración de la glicosilación en los residuos Asn420 y Asn579, impiden la unión con el ligando y disminuyen la dimerización en la membrana, lo que tiene como consecuencia la alteración en su activación<sup>148</sup>. Otro factor más sería la desregulación epigenética, implicada en la

expresión génica del EGFR a través de la acetilación<sup>149</sup> o del remodelado de la cromatina del receptor.<sup>150</sup>

## 1.9. RESISTENCIA A AGENTES ANTI-EGFR.

El objetivo principal de la quimioterapia es causar la muerte de la célula tumoral y, en consecuencia, curar la enfermedad, y para ello es necesario que el fármaco penetre en su forma activa en el interior celular. La mayoría de las neoplasias, sin embargo, ya sea de forma innata o adquirida, terminan desarrollando resistencias a los diferentes citotóxicos por un fenómeno denominado multiresistencia. Los mecanismos de resistencia se pueden dividir en 2 grupos según la mediación de factores intracelulares o extracelulares, que no necesariamente tienen que ser independientes.<sup>151</sup>

Los factores intracelulares pueden tener relación con:

- La naturaleza tumoral determinante de la sensibilidad al fármaco.
  - Mecanismos que influyen en la concentración del fármaco como la capacidad de activación del fármaco, expulsión o secuestro del mismo o la alteración de su metabolismo.
  - Alteraciones de la diana molecular, bien por sobreexpresión o mutaciones adquiridas o intrínsecas.
- Bloqueo de la muerte celular.

La importancia de los factores extracelulares radica en que los fármacos anti-neoplásicos suelen ser moléculas de bajo peso molecular que, en muchos casos, difunden al interior celular pasivamente. Cualquier situación clínica que contri-

buya a disminuir la concentración extracelular influirá en la concentración intracelular. Estos factores extracelulares se dividen también en 2 grupos:

- Los relacionados con el aclaramiento plasmático que favorecen la eliminación del fármaco. Aquí existen diferencias interindividuales ocasionadas por la actividad intrínseca de los diferentes complejos enzimáticos que confieren al individuo una capacidad metabolizadora específica. Por otro lado, los propios fármacos son capaces de estimular o inhibir la actividad de estas enzimas y en consecuencia influir en la concentración plasmática y por tanto en la actividad del fármaco.
- Los derivados de la existencia de barreras fisiológicas, como la barrera hemoencefálica, las zonas poco vascularizadas o la presencia de tejido intersticial tumoral, como el colágeno, que impiden la difusión.

La gran mayoría de las neoplasias de cabeza y cuello responden pobremente a los agentes antitumorales utilizados en su tratamiento. En el caso del cetuximab en monoterapia la tasa de respuesta es alrededor del 10%<sup>152</sup>. Sin embargo, la inhibición del EGFR es la única estrategia en los últimos años que ha demostrado un beneficio clínico en combinación con los citotóxicos clásicos. Por ello, el mayor reto en la actualidad dentro de la terapia dirigida en el cáncer de cabeza y cuello, sea conocer la resistencia a los fármacos y concretamente a la terapia anti-EGFR.

El principal mecanismo de acción del cetuximab es el bloqueo de la unión del ligando con el receptor en su dominio extracelular, lo que favorece también su internalización y degradación. Inicialmente, dada la especificidad del anticuerpo por el receptor, se asumió que estos agentes serían mucho más activos en aquellos tumores con sobreexpresión por inmunohistoquímica del EGFR. Sin embargo, sólo pudo ser confirmado su valor pronóstico<sup>95,124,125,153</sup>. Cuando los niveles de EGFR y/o sus ligandos están elevados, las tasas de recurrencia y muerte se in-

crementan significativamente (tasa de recurrencia local a 5 años del 70% para la mediana mayor de EGFR versus 48% para mediana menor o igual y la supervivencia global a 5 años del 20% vs. 38%) si el tratamiento primario del tumor es la cirugía con radioterapia o bien quimioterapia de inducción.<sup>63</sup>

Otro factor predictor de respuesta a los agentes anti-EGFR son las mutaciones. Las del dominio intracelular del receptor sirven como biomarcador para el tratamiento con inhibidores tirosina quinasa pero no así para el cetuximab. Las del gen RAS, presentes hasta en un 50% de los casos de carcinoma colorectal, han emergido como un importante biomarcador que permite identificar a aquellos pacientes respondedores a la terapia con cetuximab en estas neoplasias.<sup>154</sup> Lamentablemente, en el carcinoma de cabeza y cuello, con una tasa de mutación de RAS en torno al 10%, no se ha encontrado evidencia similar.<sup>155</sup>

Dado que a nivel de la práctica clínica los resultados del tratamiento con agentes anti-EGFR, y concretamente con el cetuximab, son más bien modestos, se especula que diferentes mecanismos no conocidos hasta la fecha deben estar implicados en la resistencia al fármaco, bien de manera primaria (intrínseca) o secundaria (adquirida).

Algunos de los mecanismos moleculares potenciales modificadores de la capacidad de respuesta individualizada a los inhibidores de EGFR en el carcinoma de cabeza y cuello, probablemente sujetos a variaciones entre pacientes, comprenderían<sup>156</sup>:

- Interacciones del EGFR-ligando.
- Exceso de co-receptores de EGFR y utilización de receptores alternativos.
- Mecanismos de resistencia relacionados con otras vías.

### 1.9.a. Mecanismos reguladores a nivel del EGFR y ligandos.

Diferentes estudios han demostrado que la sobreexpresión del EGFR detectada mediante inmunohistoquímica se asocia con una peor supervivencia y un aumento del fracaso loco-regional<sup>62,63,157</sup>. Sin embargo, la hipótesis de que los niveles de expresión del receptor podrían predecir su capacidad de respuesta al tratamiento no ha podido ser confirmada.

Un estudio del ECOG en pacientes con tumores metastáticos y enfermedad recurrente tratados con cisplatino y placebo o cetuximab, analizó el valor predictivo de la sobreexpresión del EGFR<sup>95</sup>. Los individuos con tinción de EGFR muy intensa eran menos sensibles a la quimioterapia sin ningún beneficio con la adición de cetuximab, mientras que aquellos con tinción baja moderada presentaban una significativa mejor tasa de respuesta. Estos hallazgos sugerirían, bien que las dosis actuales del fármaco no son suficientes en algunos pacientes o bien que la activación independiente del ligando y por lo tanto, no susceptible a la inhibición por cetuximab, es más frecuente si la concentración de receptores es alta.

Los niveles de expresión de los ligandos y de la familia de proteasas que se encargan de liberarlos al espacio intersticial conocida como desintegrina y metaloproteasas (*A Disintegrin And Metalloproteases: ADAM*)<sup>158</sup> se han relacionado con resultados negativos en diferentes tipos de cáncer<sup>159,160</sup>. La unión de ligandos al EGFR conduce a la homo o heterodimerización con la consecuente activación de la vía, por lo que su sobreexpresión y la de las proteasas puede contribuir a la resistencia al cetuximab tal y como han evidenciado diferentes estudios que ponen de relevancia su importancia en la carcinogénesis de estos tumores.<sup>161-163</sup>

Las mutaciones intrínsecas somáticas del tumor también influyen en su activación. Como consecuencia aumentan el acceso tanto del ATP, lo que resulta en un incremento de la activación dependiente de ligando, como de los inhibidores tirosina quinasa, que resulta en un aumento de la sensibilidad del EGFR a la inhi-

bición por estos agentes diana<sup>156</sup>. Los datos de la literatura sugieren que la incidencia de las mutaciones tirosina quinasa en el carcinoma de cabeza y cuello es baja o nula<sup>164-166</sup> aunque existe algún estudio aislado en el que se observaron mutaciones del dominio intracelular en menos del 10% de los casos.<sup>167</sup>

Otras mutaciones derivadas de un *splicing* anormal o de deleciones somáticas ocasionan diferentes variantes de EGFR, como la EGFR VIII, la más frecuente en el carcinoma de cabeza y cuello<sup>168</sup>. En un estudio con 33 pacientes afectos de neoplasias de la esfera otorrinolaringológica, se observó que la expresión del EGFRVIII era del 42% y que los tumores expresaban también el EGFR completo. Así mismo se objetivó que el EGFRVIII se encontraba solamente dentro de la tumoración y no en la mucosa normal adyacente<sup>129</sup>. Además, en contraste con el EGFR nativo, el EGFRVIII parece activar de manera preferente la vía PI3K y se asocia con un incremento de la proliferación, crecimiento tumoral, movilidad e invasión celular in vitro, así como resistencia a la terapia anti-EGFR<sup>129,169</sup>. Se ha sugerido además que podría estar más presente en la enfermedad recurrente o metastática y ser el responsable de la falta de respuesta a las terapias dirigidas anti-EGFR<sup>170</sup>. El papel de la señalización del EGFRVIII en el cáncer de cabeza y cuello sigue siendo un área de investigación activa.

En condiciones fisiológicas, el complejo EGFR-ligando puede traslocarse al núcleo donde es capaz de modular la transcripción génica al interactuar con diferentes mediadores como las proteínas STAT. El aumento de la actividad nuclear del EGFR puede favorecer la proliferación celular, incrementar la reparación del daño del ADN generado por la quimioterapia y radioterapia, y en consecuencia facilitar la aparición de resistencias y el crecimiento del tumor<sup>171</sup>. El mecanismo exacto de translocación del EGFR al núcleo permanece desconocido. Se ha sugerido que la unión de una supuesta secuencia de localización nuclear localizada en los aminoácidos 645-657 del dominio citoplasmático con la beta-galactosidasa facilitaría dicha translocación<sup>172</sup>. También se ha identificado al menos una variante del EGFR que carece de las secuencias transmembrana, con tendencia a localizarse en el núcleo de modo EGF-dependiente<sup>173</sup>. En cualquier

caso, los niveles elevados de EGFR nuclear suelen acompañarse de niveles elevados de EGFR en general, aunque la importancia de la regulación génica EGFR-dependiente (además de por los efectos indirectos de señalización) no es del todo conocida.

En el carcinoma escamoso oral la presencia del EGFR nuclear se ha observado hasta en el 24,3% de los pacientes y se ha identificado su expresión aumentada con un peor pronóstico en esta y otras patologías<sup>174,175</sup> en los que la expresión aumentada del EGFR se correlaciona con un peor pronóstico clínico. La presencia del EGFR nuclear también se asocia con la resistencia al tratamiento. Por ejemplo, se ha reportado que la expresión de EGFR nuclear juega un papel en la respuesta al platino y radioterapia a través de la modulación de la reparación del ADN<sup>176</sup>. En lo que respecta al cetuximab, la localización nuclear del EGFR mediada por la familia de quinasas Src (*Src Family Kinases: SFK*) se ha relacionado con la resistencia al fármaco<sup>177</sup>. Por otro lado, la radioterapia, ampliamente usada en el tratamiento del carcinoma de cabeza y cuello, favorece la estabilización y activación de la quinasa Src con la consiguiente fosforilización de las proteínas caveolin (una proteína transmembrana implicada en la endocitosis y señalización intracelular) y EGFR, lo que se relaciona con su translocación al núcleo y la activación de la proteína quinasa dependiente de ADN (mediadora de la reparación de las roturas de la doble cadena de ADN inducida por la radiación), lo que favorecería su resistencia.<sup>178</sup>

### **1.9.b. Sobreexpresión de otros co-receptores.**

#### **1.9.b1. HER 2, HER3 y HER4.**

Es de sobra conocida la interacción del HER2 con otros miembros de la familia HER así como la potencia oncogénica del dímero que forma en la unión con HER3. De hecho, en neoplasias de cabeza y cuello resistentes al cetuxi-

mab, se han determinado niveles elevados de HER2, HER3 así como del complejo HER2:HER3.<sup>179</sup>

La sobreexpresión de HER2 en las neoplasias de la esfera otorrinolaringología es muy variable oscilando del 0% al 70%. Dicha variación, se atribuye en parte a las diferentes técnicas de inmunohistoquímicas utilizadas, la selección de las áreas celulares seleccionadas para su análisis o los criterios para definir la sobreexpresión del receptor. Por este motivo resulta difícil establecer su clara relación con el grado del tumor, la afectación nodal o la supervivencia. Pero en cualquier caso es indiscutible su implicación en la carcinogénesis.<sup>171</sup> La sobreexpresión de HER2 es importante para la activación independiente del ligando pero no es imprescindible para la activación dependiente de ligando cuando el HER2 forma parte de un heterodímero.

La activación de HER2 se ha asociado con la resistencia a cetuximab porque su señalización ocurre a través de muchos de los efectores de la vía del EGFR. Yonesaka *et al.*<sup>180</sup> plantearon que la resistencia al cetuximab podría ser inducida por la activación del HER2 a través de la amplificación del HER2 o la sobrerregulación de la heregulina, que mantendrían la activación permanente de ERK1/2. Además lograron la restauración de la sensibilidad al cetuximab con la inhibición de HER2 o la disrupción de la heterodimerización de HER2/HER3 tanto *in vitro* como *in vivo*. Estos datos, apoyarían el potencial papel del HER2 como biomarcador así como su implicación en las resistencias a la terapia anti-EGFR en las neoplasias de cabeza y cuello.

El receptor HER3 es conocido por su papel de activador crítico de PI3K así como por su relación con la resistencia a inhibidores de HER en tumores con implicación del EGFR, HER2 o el factor de crecimiento hepatocitario (*Hepatocyte Growth Factor*: HGF)/el receptor del factor de crecimiento hepatocitario (*Hepatocyte Growth Factor Receptor*: HGFR o MET).

La presencia de 6 unidades YXXM en HER3, que se unen directamente a la subunidad p85 de PI3K, lo convierte en la mejor pareja de dimerización para

la activación de la vía PI3K frente a otras vías. De hecho, diferentes estudios han observado que en tumores sensibles a los inhibidores de EGFR o HER2, el HER3 es el más potente mediador de la activación de PI3K/AKT. La persistencia de la activación del HER3 por la heterodimerización con HER2 o EGFR u otros receptores tirosina quinasa como MET, da lugar a la resistencia a inhibidores de EGFR o HER2<sup>181</sup>. En las neoplasias de cabeza y cuello se ha determinado hasta un 40% de expresión de HER3.<sup>182</sup>

El HER4, junto con HER3, tiene la capacidad de unirse a la subunidad p85 y activar directamente a PI3K. De hecho, en el corazón adulto que no presenta HER3, su estimulación mediante los ligandos correspondientes es la única manera de activar la vía PI3K/AKT. Además, HER4 es mediador de la activación de otros muchos efectores gracias a los puntos de unión para las proteínas adaptadoras Shc, STAT5 y Grb2. Estas características junto con la disponibilidad de ligandos y la presencia de su actividad tirosina quinasa intrínseca, le confieren un papel importante en la biología del cáncer, aunque en las neoplasias de cabeza y cuello no existen muchos datos disponibles.<sup>171</sup>

### **1.9.b2. El receptor del factor de crecimiento insulínico-1 (IGF-1R).**

El receptor del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (*Insulin like Growth Factor type 1 Receptor: IGF-1R*) es un receptor transmembrana con actividad tirosina quinasa expresado en el tejido normal y que se ha implicado en el desarrollo de los tumores de estirpe epitelial. Entre otras funciones, el IGF-1R transmite señales para la supervivencia y la motilidad celular.<sup>183,184</sup>

Aunque su papel en la patogénesis de los carcinomas de cabeza y cuello permanece por ser definido, se ha objetivado que el IGF-1R se sobreexpresa en líneas celulares y tumores del área otorrinolaringológica<sup>185</sup> y que podría estar implicado en la resistencia a inhibidores EGFR en líneas celulares de diferentes neoplasias<sup>186-188</sup> así como a la radioterapia.<sup>155</sup>

### 1.9.b3. c-MET.

El proto-oncogen MET codifica para el receptor transmembrana tirosina quinasa MET, también conocido como c-MET o HGFR. La vía de MET en las neoplasias de cabeza y cuello puede ser desregulada<sup>189</sup> por mutación y/o amplificación de MET, detectadas hasta en un 13,5 y 13% respectivamente<sup>190</sup> o por aumento de la expresión de ligandos y/o de su actividad presente hasta un 80%<sup>191</sup>, con el resultado de la activación permanente de la vía de señalización de PI3K/AKT.

Por otro lado, al detectarse una elevada expresión de MET en los carcinomas recidivados o metastáticos de cabeza y cuello hasta en el 58% de los casos, diferentes estudios han planteado el posible papel de MET en la resistencia a la terapia anti-EGFR.<sup>191-193</sup>

### 1.9.b4. El receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular

#### **(VEGFR: *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*).**

La angiogénesis tiene un papel fundamental no sólo en el desarrollo del cáncer sino también en la resistencia a inhibidores EGFR, ya que con la activación del receptor se produce la liberación de factores de crecimiento proangiogénicos, tales como el factor de crecimiento del endotelio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF*)<sup>194</sup>. Por lo tanto, cabe pensar que el bloqueo del EGFR podría inhibir consecuentemente la secreción de VEGF. Diferentes autores han analizado en estudios preclínicos esta relación sugiriendo que la resistencia a agentes anti-EGFR como el cetuximab, podía estar en relación con el aumento de los niveles de VEGF<sup>195-197</sup>. A nivel clínico, un metaanálisis<sup>198</sup> de 12 estudios que analizaba la sobreexpresión de la proteína VEGF y el resultado clínico de pacientes diagnosticados de carcinoma escamoso de cabeza y cuello, concluyó que el riesgo global de muerte a los 2 años era aproximadamente 1,9 veces mayor en pacientes con expresión aumenta-

da de VEGF por inmunohistoquímica. La co-sobreexpresión de VEGF y del receptor de VEGF 2 (VEGFR2) se correlacionó con una mayor tasa de proliferación tumoral y una peor supervivencia.

#### **1.9.b5. Otros Factores Adicionales de Resistencia.**

En las neoplasias de cabeza y cuello, además de los factores anteriormente mencionados, existen otros receptores y factores ambientales que interfieren en la señalización del EGFR, aunque no se ha podido dilucidar completamente el impacto de estas interacciones en la activación de la vía y/o resistencias a la terapia.

En el carcinoma, el más prevalente de todas las formas de cáncer en el ser humano (hasta el 90%), la transformación maligna se asocia con la pérdida de las características del epitelio diferenciado en un proceso denominado transición epitelio mesenquimal (*Epithelial Mesenchymal Transition: EMT*) y que ocasiona la desanexión de las células vecinas favoreciendo la migración a los tejidos adyacentes<sup>199</sup>. En las neoplasias, la EMT contribuye a su progresión al conferirles propiedades como la invasividad, la capacidad metastatizadora o la resistencia a la terapia. Además de los cambios en la adhesión, las células también adquieren la capacidad para mantener la señalización de proliferación de maneras diferentes como la estimulación autocrina o paracrina<sup>200</sup>. En células de neoplasias de cabeza y cuello con morfología mesenquimal y alta capacidad migratoria, Holz *et al.*<sup>201</sup> determinaron que eran menos sensibles a la radioterapia y al cetuximab. Aunque cuando se combinaban ambas terapias, la sensibilidad aumentaba.

Las aurora quinasas A y B son quinasas serina treonina altamente conservadas que juegan un papel esencial en la mitosis. La sobreexpresión de ambas es frecuente en diferentes tumores. En el caso del carcinoma de cabeza y cuello el subtipo A se encuentra hasta en el 90% de los casos, y se correlacio-

na con la progresión tumoral, la capacidad metastática, y una peor supervivencia por lo que es considerado un potencial marcador pronóstico negativo<sup>202,203</sup>. Sin embargo se precisan más estudios para demostrar que estas proteínas pueden ser una posible diana para el tratamiento de las neoplasias de cabeza y cuello resistentes a los anti-EGFR.

También se ha comunicado que la desregulación a la baja del receptor del plasminógeno activador tipo uroquinasa (*urokinase-type Plasminogen Activator Receptor: uPAR*) actúa sinérgicamente con la inhibición del EGFR en las células de carcinoma de cabeza y cuello, que los GPCRs pueden estar implicados en la señalización cruzada con el EGFR y que la unión de las integrinas a la matriz extracelular y la señalización a través de la quinasa ligada a integrinas (*Integrin-Linked Kinase: ILK*) afecta también a la radiosensibilidad y a la supervivencia celular dependiente de EGFR en las células de cáncer de cabeza y cuello.<sup>156</sup>

La hipoxia es otro factor que se asocia con la resistencia al tratamiento y el desarrollo de metástasis. Más del 50% de los tumores sólidos presentan áreas hipóxicas independientemente del tamaño o sus características histológicas<sup>204</sup>. La efectividad de la radiación ionizante para crear roturas letales en el ADN también está fuertemente asociada a la presencia de oxígeno, necesario para la formación de radicales libres que estabilicen el daño sobre el ADN. De hecho, las células oxigenadas son dos o tres veces más sensibles a la radiación que las hipóxicas o anóxicas. Además la vascularización alterada en los tumores contribuye a la pobre distribución de los fármacos así como a la disminución de la proliferación celular tal que la eficacia de los citotóxicos puede verse comprometida<sup>205</sup>. Por todo ello, las células de las regiones hipóxicas podrían adaptarse y volverse resistentes a la radio y quimioterapia y aumentar su agresividad.

Diferentes estudios preclínicos y clínicos han implicado al factor inducible por la hipoxia (*Hypoxia-Inducible Factor 1: HIF-1*) en la resistencia a la radiote-

rapia y otros han notificado la capacidad del cetuximab para bloquear al HIF-1 inhibiendo su síntesis a través de la inhibición de las vías PI3K/AKT/mTOR y MEK/ERK<sup>206</sup>. En los carcinomas de cabeza y cuello, la sobreexpresión de HIF-1 en biopsias de tumores orofaríngeos se ha asociado con un riesgo aumentado de fracaso para obtener una respuesta completa tras la administración de la radioterapia.<sup>207</sup>

### **1.9.c. Mecanismos de resistencia relacionados con otras vías.**

Diferentes estudios han documentado alteraciones en otras vías de señalización relacionadas con la del EGFR que pueden contribuir a la resistencia farmacológica. Algunas de ellas se describen a continuación:

#### **1.9.c1. PI3K / AKT / PTEN.**

Las PI3K son una familia de enzimas que juegan un papel central en la regulación de los mecanismos intracelulares. Este complejo proteico heterodimérico citosólico es capaz de fosforilar la posición 3-OH de los lípidos fosfoinositol, generando segundos mensajeros lipídicos. Las quinasas PI3 se han relacionado con muy diversas funciones celulares, incluidas el crecimiento celular, la proliferación, la diferenciación, la motilidad, la supervivencia y el tráfico intracelular. Muchas de estas funciones se relacionan con su capacidad de activar a la proteína quinasa B (*Protein Kinase B*: PKB, también conocida como AKT). Su activación se inicia con su translocación a la membrana plasmática y su fosforilización se lleva a cabo por la proteína quinasa dependiente de 3-fosfoinositol 1 (*3-Phosphoinositide-Dependent protein Kinase 1*: PDK1) y PDK2. Una vez activada, AKT es la fuente de fosforilización de muchas proteínas reguladoras de diversas funciones celulares.

El EGFR activa PI3K por múltiples vías, y tras su activación, PI3K cataliza la formación del fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (*Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate*: PIP3), que actúa como segundo mensajero para reclutar a AKT

de la membrana celular y estimular la supervivencia celular<sup>156</sup>. Específicamente en neoplasias de localización faríngea, se han detectado mutaciones en PI3KCA<sup>208</sup>. Otras alteraciones asociadas al carcinoma de cabeza y cuello serían la amplificación génica de PIK3CA y la activación de AKT.<sup>209-211</sup>

Respecto al PTEN (*Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome 10*; homólogo de la tensina y fosfatasa delecionado en el cromosoma 10), es un gen que codifica para una fosfatasa dual específica que actúa como reguladora negativa de la vía PI3K-AKT-mTOR, relacionada con el control de la supervivencia celular. Dicha vía se activaría tras la unión del ligando con el receptor de crecimiento correspondiente (EGFR, HER-2 o IGFR) por la acción de PIP3 sobre AKT, y que el PTEN es capaz de desfosforilar bloqueando entonces la transmisión de la señalización, y ejercer así su función como gen supresor de tumores<sup>212</sup>. En neoplasias de cabeza y cuello ha sido descrita la supresión de PTEN<sup>211</sup>. Así mismo, tanto la regulación positiva de AKT como la pérdida de PTEN, tienen un efecto positivo sobre VEGF y el complejo de transcripción HIF-1 que favorecen el desarrollo de la angiogénesis y, por lo tanto, el desarrollo de un tumor.<sup>213</sup>

### **1.9.c2. RAS.**

La familia RAS es un conjunto de genes que codifica para pequeñas GTPasas con actividad reguladora GTP-hidrolasa. Las proteínas RAS transmiten las señales mediante receptores de superficie, incluido el EGFR, y ejercen sus efectos a través de diferentes efectores. Los genes RAS se encuentran mutados en diferentes neoplasias humanas hasta en el 30% de los casos. Las mutaciones oncogénicas puntuales afectan frecuentemente a los codones 12, 13 o 61, ocasionando su activación constitutiva. Otras causas de activación serían la amplificación génica o la activación aberrante de proteínas implicadas en esta vía de señalización. Inicialmente fueron identificadas a partir de las cepas Harvey y Kirsten del virus del sarcoma en ratas, detectándose dos

homólogos, el H-RAS y el K-RAS. Existe un tercer proto-oncogen conocido, el N-RAS, aislado inicialmente del neuroblastoma humano.<sup>214</sup>

Las mutaciones de K-RAS son más bien raras con un rango entre el 0 y 9,1% según el estudio<sup>155</sup>, por lo que se conoce muy poco sobre su valor predictivo de respuesta en el carcinoma de cabeza y cuello, a diferencia de lo que ocurre en el cáncer de colon, presentes hasta en el 40% de los casos<sup>215</sup> y que confieren resistencia a la terapia dirigida con los anticuerpos anti-EGFR<sup>216,217</sup>. Las de H-RAS oscilan entre el 0 y el 22%<sup>218</sup> y su papel en la resistencia al cetuximab precisa de estudios confirmatorios.

### 1.9.c3. Los reguladores del ciclo celular.

La ciclina D1 es una proteína que forma un complejo con la quinasa dependiente de ciclina 4 (*Cyclin-dependent kinase 4: Cdk4*) y Cdk6 funcionando como una subunidad regulatoria de estas últimas, que son necesarias para la transición del ciclo celular de G1/S. En las células normales, el eje EGFR-RAS-RAF-ERK regula la transcripción del gen CCND1, que codifica la ciclina D1, sobreexpresada hasta en el 68% de los tumores del área otorrinolaringológica y que se asocia a la invasión local y un peor pronóstico.<sup>156</sup>

En líneas celulares de carcinoma de cabeza y cuello, la resistencia al inhibidor tirosina quinasa del EGFR, gefitinib, se asoció con la sobreexpresión de ciclina D1<sup>219</sup>, lo que sugeriría su papel como potencial marcador predictivo de la terapia anti-EGFR, pero siguen siendo necesarios más estudios para definir mejor su implicación en la resistencia a estos fármacos.

También las mutaciones de la proteína supresora de tumores p53, ampliamente distribuidas en una gran variedad de neoplasias, están presentes en las de cabeza y cuello. La p53 es fundamental para la progresión del ciclo celular por lo que la pérdida de su función se relaciona con el proceso de carcinogénesis. Diferentes estudios han puesto de manifiesto su implicación en

la resistencia y sensibilidad al cetuximab en líneas celulares de diferentes carcinomas<sup>220-222</sup>. A pesar de estos datos, no existe suficiente evidencia para establecer que la pérdida de función de p53 pueda ser predictiva de resistencia a la terapia anti-EGFR.

#### 1.9.c4. STATs y Src.

Ambas son proteínas muy importantes para la transmisión de la señalización desde la superficie celular hasta el núcleo, donde actúan como factores de transcripción. Esta función las convierte en interesantes dianas terapéuticas.

En los seres humanos las proteínas STAT constituyen una familia de factores de transcripción (STAT1–STAT4, STAT5a, STAT5b y STAT6) codificadas en genes de 3 cromosomas diferentes: STAT1 y STAT4 en el cromosoma 2; STAT3, STAT5a y STAT5b en el 17 y STAT2 y STAT6 en el 12.

Todas comparten una serie de características estructurales así como la obligada fosforilización para su dimerización, su translocación al núcleo y su unión con el ADN. La acumulación nuclear de STATs de forma mono o dimérica no está completamente descrita.<sup>223</sup>

Las funciones de estas proteínas son específicas<sup>224,225</sup>, pero sólo STAT1, STAT3, STAT5a y STAT5b están implicadas en la carcinogénesis<sup>226</sup>, aunque el primero en asociarse a un potencial oncogénico fue el STAT3<sup>227</sup>. En el carcinoma de cabeza y cuello se encuentran variantes de STAT 3 constitutivamente activadas<sup>228</sup>, pero también existen variantes negativas que limitan su crecimiento<sup>229</sup>. De igual manera, es también frecuente encontrar en este tipo de tumores, la sobreexpresión de STAT3, mediador crítico de la proliferación inducida por el EGFR<sup>230</sup>, que se relaciona además con altos niveles de ciclina D1.<sup>231</sup>

En el ámbito de la resistencia a los inhibidores tirosina quinasa del EGFR, la activación de STAT3 ha sido identificada en modelos preclínicos de carcinoma de cabeza y cuello<sup>232</sup> y gliomas.<sup>233</sup>

En las neoplasias parece que la activación de STAT se produce sobre la base de la acción conjunta de uno de los receptores de la familia HER (EGFR o HER2 son los más estudiados) y la tirosina quinasa Src citoplasmática. Src es la primera tirosina quinasa caracterizada y pertenece a la familia de quinasas Src (*Src Family of Kinases: SFK*), compuesta por 9 miembros (Blk, Fgr, Fyn, Hck, Lck, Lyn, Src, Yes y Yrk) implicados en diferentes vías de transducción de señales y que comparten una estructura similar.

De manera general, Src puede ser considerada como un adaptador entre la membrana y las proteínas intracelulares y de esta interacción puede resultar una mutua activación/represión según sea la fosforilización aunque todavía permanece por ser definido el espectro de sus sustratos con un impacto en el desarrollo del cáncer. En el caso del EGFR, el complejo STAT-EGFR es directamente fosforilado por c-Src, lo que activa la función de STAT y favorece su translocación al núcleo, de tal manera que acaba por unirse a los promotores con elementos específicos de respuesta a STAT<sup>234</sup>. En el carcinoma de cabeza y cuello se han reportado niveles elevados de Src y estudios *in vitro* han mostrado reducción de su actividad quinasa tras la inhibición del EGFR. Por lo que la activación de las quinasas Src podría derivar en la resistencia a la terapia anti-EGFR.<sup>155</sup>

#### **1.9.d. Otras vías de señalización en investigación.**

##### **1.9.d1. NOTCH.**

La familia NOTCH está formada por 4 receptores (NOTCH1-4). La vía NOTCH se ha relacionado con múltiples funciones biológicas como la regula-

ción del ciclo celular o la supervivencia. En las neoplasias de cabeza y cuello, las mutaciones de NOTCH ocupan el segundo lugar en frecuencia tras las de p53<sup>53</sup>. Diferentes estudios han sugerido que la mutación de NOTCH puede tener un efecto oncogénico<sup>235,236</sup> o supresor, como sería en el caso del carcinoma de cabeza y cuello<sup>237,238</sup> aunque dichas funciones permanecen por ser definidas.

#### **1.9.d2. ALK1**

La quinasa homóloga del receptor de activina 1 (*Activin receptor-Like Kinase 1: ALK1*) forma parte de la superfamilia de TGF $\beta$  y se expresa selectivamente en células endoteliales activadas en respuesta a un daño o enfermedad. Se la relaciona con la maduración de la angiogénesis<sup>239</sup>. Los resultados favorables de un ensayo fase I<sup>240</sup> con un inhibidor de ALK1, han conducido a un fase II en pacientes tratados con recaída o enfermedad metastática de neoplasias de cabeza y cuello (NCT01458392).<sup>241</sup>

#### **1.9.d3. HedgeHog**

Hedgehog (Hh) es una familia de proteínas que juega un papel importante en el mantenimiento de múltiples estructuras adultas gracias a las diferentes funciones que puede desempeñar como mitógeno, factor de supervivencia o incluso molécula guía en función del contexto. De ahí que su alteración esté implicada en el desarrollo de numerosas enfermedades incluida el cáncer.

La activación a través del ligando sonic hedgehog (SHh) conduce a la activación de la vía de señalización con la expresión de la familia del oncogen dedo de zinc asociado a glioma (*Glioma associated oncogene family zinc finger 1: GLI1*) que modula a diferentes genes diana en el cáncer. Hh también puede ser crucial en la supervivencia y caracterización de las células madre y posi-

blemente intervenga en la resistencia farmacológica. Además junto al EGFR, ha sido implicado como promotor clave en la proliferación y supervivencia celular tumoral. Ambas vías convergen en GLI1 a través de la vía MEK/ERK en las células tumorales y durante la transformación oncogénica de los queratinocitos.

#### **1.9.d4. PD-1/PD-L1.**

Las neoplasias de cabeza y cuello tienen la capacidad de alterar la homeostasis linfocitaria y la función de las células *natural killer* (NK). Además, las células neoplásicas presentan diferentes estrategias para escapar a la inmunovigilancia. Por un lado actúan indirectamente sobre el sistema inmune a través de la secreción de citoquinas como el TGFb, la interleucina 10 o el VEGF para mantener un estado de inmunosupresión<sup>242</sup> y por otro lado son capaces de reducir su inmunogenicidad con la infraregulación de los antígenos leucocitarios humanos (*Human Leukocyte Antigen: HLA*) de clase I y la alteración de la maquinaria de procesamiento de los antígenos (*Antigen-Processing Machinery: APM*)<sup>243</sup>. Otro mecanismo sería la acción sobre los puntos de control del sistema inmune, como el PD-1, cuya activación desencadena la desactivación de las células T.<sup>244</sup>

El receptor de muerte programada 1 (*Programmed Death 1: PD-1*) es un inhibidor del receptor de células T que se une principalmente en el microambiente tumoral al ligando de muerte programada 1 (*Programmed Death Ligand 1: PD-L1*) y PD-L2, con capacidad para inhibir las células T durante la exposición antigénica a largo plazo como ocurre en las neoplasias. En el carcinoma de cabeza y cuello se ha publicado una expresión de PD-L1 que oscila entre el 45 y el 80%. Además, la exposición de las células tumorales a la terapia puede condicionar su sobrerregulación. Se ha observado que los pacientes con neoplasias otorrinolaringológicas tienen una elevada expresión de PD-

L1 en comparación con controles sanos y que la quimioterapia y la radioterapia son causa de la misma.<sup>245</sup>

El estudio fase I/II Keynote 012 evaluó la eficacia del anticuerpo PD-1 pembrolizumab a dosis de 200 mg. cada 3 semanas en 132 pacientes con carcinoma de cabeza y cuello metastático o recurrente previamente tratados (37% tenían 3 o más líneas). La tasa de respuesta objetiva que era el objetivo primario fue del 24,8% y tanto los tumores VPH positivos y negativos respondieron con aceptable tolerancia.<sup>246</sup>

Otro fase III aleatorizado con el anticuerpo PD-1 nivolumab administrado cada 2 semanas también en pacientes con carcinoma de cabeza y cuello metastático o recurrente comparaba su eficacia frente al tratamiento de elección del investigador (cetuximab, metotrexate o docetaxel). Los pacientes del brazo experimental presentaron mejores datos con una mediana de supervivencia global de 7,5 meses y una tasa de supervivencia global al año del 36% frente a los 5,1 meses y el 16,6% del brazo control (HR 0,70; IC 97,73%: 0,51-0,96; p= 0,0101) por lo que el estudio se cerró prematuramente. En un análisis por subgrupos se objetivó que el beneficio en la supervivencia fue mayor para el grupo de p16 positivos y especialmente en aquellos con una expresión de PD-L1 >1 % aunque también se observaron respuestas en pacientes que no expresaban el ligando.<sup>247</sup>

Este fármaco ha obtenido la aprobación por la FDA en Noviembre de 2016 para el tratamiento de pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello recurrente o metastático resistentes a terapia basada en derivados del platino.

## **1.10. POTENCIALES MARCADORES PRONOSTICO y/o PREDICTORES DE RESPUESTA A AGENTES ANTI-EGFR EN EL CANCER DE CABEZA Y CUELLO.**

Existen múltiples posibles causas que puedan explicar la falta de respuesta a los agentes anti-EGFR, incluidas las resistencias. Diferentes genes y proteínas están implicados en la respuesta alterada a la terapia anti-EGFR en el cáncer de cabeza y cuello y pueden ser considerados potenciales biomarcadores para la selección de pacientes para este tratamiento. Sin embargo, su papel no ha sido confirmado todavía y se precisan más estudios que permitan validarlos.

### **1.10.a. EGFR.**

La activación del proto-oncogen que codifica al EGFR puede contribuir a la malignización celular al dotarla de una capacidad de crecimiento y supervivencia alterada. La activación aberrante del EGFR, por cambios génicos y/o estimulación autocrina, parece ser un factor relacionado con el comportamiento agresivo de la neoplasia. Dicha asociación parece bien establecida en el carcinoma de cabeza y cuello, ovario, cérvix, vejiga o esófago. La evaluación de 74 estudios en este tipo de tumores, concluyó que el 70% demostraba que la expresión aumentada del EGFR se correlacionaba con una peor supervivencia global así como libre de recurrencia.<sup>248</sup>

En cuanto a la relación del EGFR con los tumores de la esfera otorrinolaringológica, la primera referencia data de los años 80 cuando fue descrita la expresión del receptor en líneas celulares de cáncer de esta localización. Poco después varios autores reportaron que el EGFR estaba sobreexpresado en este tipo de neoplasias hasta en el 90% de los casos. Posteriormente, diferentes estudios demostraron que la sobreexpresión de EGFR se relacionaba con un peor pronóstico y menor supervivencia.<sup>249</sup>

Diferentes estudios han relacionado los niveles de EGFR en el carcinoma escamoso de cabeza y cuello con un peor pronóstico<sup>62,63,250,251</sup>. Pero no todos los datos publicados coinciden a este respecto. Ang *et al.*<sup>102</sup> no encontraron ninguna asociación entre el pronóstico y la expresión del EGFR en el estudio fase III RTOG 0522 que aleatorizaba pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello localmente avanzado a recibir radioterapia y cisplatino sin (brazo control) o con (brazo experimental) cetuximab para evaluar la supervivencia libre de progresión. Los autores planteaban la posibilidad de que los tumores sensibilizados con cetuximab y cisplatino con una alta expresión del receptor, viesen anulado su valor pronóstico. En cualquier caso esta hipótesis no es verificable ya que el estudio no dispone de un brazo con pacientes tratados únicamente con radioterapia.

Burtneß *et al.*<sup>95</sup> en otro estudio fase III placebo-control con cetuximab y cisplatino en cáncer de cabeza y cuello recurrente y /o metastático, determinaron que la tasa de respuesta fue significativamente mayor en pacientes con baja o moderada expresión en comparación con los de alta expresión. Este fue un hallazgo inesperado y los autores lo relacionaron con el pequeño tamaño de la muestra, aunque podría haberse debido también a la incapacidad del cetuximab a dosis estándar de inhibir la vía con una gran sobreexpresión del EGFR.

Aún a pesar de estos datos no concordantes, en general, la alta expresión de EGFR en este tipo de neoplasias se asocia a un peor pronóstico. Sin embargo resulta paradójica la falta de correlación entre los niveles de expresión y la respuesta al cetuximab publicada en la literatura. Licitra *et al.*<sup>252</sup> en el ensayo fase III EXTREME con pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello recidivado o metastático, determinaron un incremento modesto en el número de copias del EGFR, y sólo un 11% con niveles altos de amplificación. Los autores no encontraron una asociación entre el número de copias del EGFR y la supervivencia o respuesta al tratamiento con cetuximab, así como tampoco con los parámetros de beneficio clínico. Otro pequeño estudio con 37 pacientes que recibieron cetuximab concomitante con radioterapia y quimioterapia, tampoco encontró una asociación entre la expresión proteica o el número de copias del EGFR en el

tumor y la respuesta al tratamiento con cetuximab<sup>253</sup>. Burtneß *et al.*<sup>95</sup> en un fase III con 117 pacientes con carcinoma de cabeza y cuello recidivado o metastático determinaron que la alta densidad e intensidad de tinción del EGFR era predictor de relativa resistencia al cetuximab.

La disparidad de resultados podría deberse a las diferencias en los métodos de determinación del EGFR y la heterogeneidad de las poblaciones y tratamientos utilizados. En la actualidad, la sobreexpresión del EGFR en el cáncer escamoso de cabeza y cuello no predice la respuesta al tratamiento con anticuerpos anti-EGFR y seguimos sin poder identificar de antemano a los pacientes potencialmente respondedores.

### **1.10.b. p16.**

El p16 es un gen supresor de tumores localizado en el cromosoma 9p21. La proteína p16 bloquearía la proliferación celular en la fase G1-S al unirse a Cdk4-6, evitando la formación del complejo catalítico activo ciclina D-Cdk4-6. En condiciones fisiológicas, cuando se produce una señal que estimula el crecimiento celular, este complejo fosforila a la proteína supresora de tumores pRb lo que tiene como consecuencia la liberación del factor E2F, capaz de activar a los genes implicados en el paso de la fase G1 a S del ciclo celular y por lo tanto favorecer la proliferación celular. Paralelamente el aumento de concentración de pRb fosforilada libre actuaría como feed-back positivo sobre p16, ejerciendo ésta su función de bloqueo sobre el complejo con actividad quinasa ciclina D-Cdk 4-6.<sup>26</sup>

La inactivación de la p16 a través de deleciones, mutaciones puntuales o metilación del promotor es frecuentemente detectada en las neoplasias de cabeza y cuello inducidas por el VPH<sup>254,255</sup>. Durante el proceso de replicación del virus se ha observado un aumento de p16, directamente relacionado con la capacidad oncogénica del virus<sup>256</sup>. La integración del ADN de este virus en el genoma del huésped conlleva la disrupción de E2 lo que favorece la expresión continuada de

los oncogenes E6 y E7. En los carcinomas orofaríngeos, la transcripción del ARN mensajero (ARNm) de E6 y E7 del VPH parece no ser necesariamente dependiente de la integración del ADN viral y puede presentarse en la forma episomal<sup>257</sup>. E6 y E7 a su vez, codifican oncoproteínas que se unen y degradan a las proteínas producto de la transcripción de los genes supresores de tumores p53 y Rb respectivamente, lo que favorece la alteración del control de la proliferación celular. A nivel molecular, los bajos niveles de pRb, que se comporta como un inhibidor transcripcional de la p16, conllevaría el aumento de esta última. Por lo tanto, los tumores asociados al VPH parecen tener una alta concentración de p16 por lo que se ha postulado como un marcador sustitutivo de la actividad transcripcional del virus, ya que la determinación del ARNm de E6/E7 o de su proteína, resulta complicada en los tejidos fijados en parafina (**Figura 1**).<sup>83</sup>

Los primeros datos de la implicación del virus en la patogénesis de las neoplasias de cabeza y cuello, fueron publicados a principios de la década de los 80 cuando Stina Syrjänen<sup>258</sup> señaló que el 40% de los casos de cáncer de su estudio guardaban similitudes histológicas y morfológicas con las lesiones asociadas al VPH. En los años 90, la fuerte correlación entre el VPH y los carcinomas de la esfera otorrinolaringológica, sobre todo de localización orofaríngea, llegó con la identificación de ADN viral en carcinomas amigdalares, confirmándose posteriormente su relación directa con la patogénesis de algunos de estos tumores gracias a diferentes estudios. Las neoplasias de cabeza y cuello asociadas al virus presentan una epidemiología, clínica y características moleculares diferentes a las que no se relacionan con la infección y que podrían influir en su plan terapéutico dado su mejor pronóstico<sup>25,257,259-261</sup>. Aunque ambos tipos de tumores presentan la inactivación de las proteínas p53 y pRb, ésta ocurre por diferentes mecanismos. En las neoplasias VPH positivas, las alteraciones moleculares son consecuencia de la actividad viral de tal manera que la p53 permanece sin mutaciones a diferencia de las virus negativos, en las que los principales factores de riesgo implicados en su patogénesis, el alcohol y el tabaco, inducen diferentes mutaciones en este gen<sup>48,260,262-267</sup>. La pRB inactivada por la proteína E7 viral en los tumores virus positivos tiene como consecuencia el aumento de la p16,

mientras que en los virus negativos la alteración de esta vía ocurre por otros mecanismos que incluyen la amplificación de la ciclina D o la inactivación de la p16<sup>262,263,268-271</sup>. De esto se deduce, tal y como demostraron Weinberger *et al.*<sup>259</sup>, que la detección del ADN viral por sí mismo en el carcinoma de cabeza y cuello no prueba su asociación causal porque sólo el ADN transcripcionalmente activo sería relevante en su patogénesis. Por este motivo, la expresión de la p16 podría determinar esa diferencia biológica lo que la convierte en un buen marcador sustituto para la detección de la infección.

Aunque en general suelen ser tumores más indiferenciados y con histología basaloide<sup>260</sup>, paradójicamente se asocian a un mejor pronóstico<sup>25,257,259,260,265,272-274</sup> debido a la ausencia de las alteraciones generalizadas de la mucosa como las producidas por el tabaco y/o el alcohol y por una mayor sensibilidad a la radioterapia y quimioterapia ya que los tumores VPH positivos no presentan mutaciones de p53 que puedan alterar los mecanismos de apoptosis en respuesta a estos agentes externos.<sup>83</sup>

También existen datos retrospectivos de grupos cooperativos que apoyan su implicación en el carcinoma recurrente de cabeza y cuello. Fakhry *et al.*<sup>275</sup> evaluaron de manera retrospectiva a 181 pacientes con carcinoma orofaríngeo localmente avanzado y con determinación de p16 conocida, que habían recidivado tras tratamiento con derivados del platino y radioterapia incluidos en los ensayos RTOG 0129 y 0522. Los patrones de recaída y tiempo a la progresión basados en el estado de p16 no presentaban diferencias. A la progresión, los pacientes con tumores p16-positivos tenían una mejor supervivencia comparada con los tumores p16-negativos (supervivencia global a 2 años: 54,6% vs. 27,6% respectivamente, con una mediana de supervivencia global de 2,6 vs. 0,8 años;  $p=0,001$ ). Argiris *et al.*<sup>276</sup> demostraron una mejora en la supervivencia global estadísticamente significativa en 65 pacientes con recurrencia de carcinoma orofaríngeo incluidos en los ensayos ECOG 1395 y 3301 y con determinación de p16 (mediana supervivencia global de 11,9 vs. 6,7;  $p=0,027$  a favor de los tumores p16 positivos frente a los p16 negativos).

En cuanto a su valor predictivo de respuesta a los agentes anti-EGFR no existe mucha evidencia. Ang *et al.*<sup>102</sup> en el estudio fase III RTOG 0522, objetivaron que no había una interacción significativa entre el cetuximab y el estado de p16, aunque se observaron tendencias con una peor supervivencia libre de progresión (HR: 1,57; p para interacción= 0,12) y supervivencia global (HR: 1,42; p para interacción= 0,13) para los pacientes con neoplasias orofaríngeas p16 positivas que recibieron el agente anti-EGFR. La ausencia de esta tendencia en el grupo de tumores p16 negativos resultó inesperada y podía reflejar un desequilibrio de la proporción de tumores con presencia o no de infección, o una disminución en la llegada de la radioterapia y cisplatino al tumor, hipótesis con un mayor impacto biológico. El análisis de otro estudio no aleatorizado Fase II con 39 pacientes con carcinoma de cabeza y cuello que recibieron quimioterapia de inducción con cetuximab seguido de quimio y radioterapia con cetuximab, sugería que el estado del VPH no se asociaba a la actividad del cetuximab<sup>104</sup>. A la misma conclusión llegaron Pogorzelski *et al.*<sup>277</sup>

Por el contrario, Pajares *et al.*<sup>278</sup> en el análisis retrospectivo de 78 pacientes afectos de carcinoma de cabeza y cuello localmente avanzado, observaron que los pacientes con tumores p16 positivos que recibieron radioterapia en combinación con cetuximab mostraban mayor supervivencia en comparación con aquellos que recibieron la combinación con quimioterapia (supervivencia global a 2 años 80% vs. 60%; p= 0,03; HR: 0,15; IC 95% 0,02-0,77 y supervivencia libre de progresión a 2 años 80% vs. 20%; p= 0,006; HR: 0,11; IC 95% 0,02-0,61). Estas diferencias no fueron observadas en los pacientes con tumores p16 negativos. Los autores sugerían el valor predictivo de respuesta de p16 a los anti-EGFR y su posible beneficio frente al tratamiento con la quimioterapia convencional. Sin embargo, el análisis predefinido en el estudio SPECTRUM que testaba la quimioterapia sola o con un anticuerpo anti-EGFR, en este caso el panitumumab, para carcinoma de cabeza y cuello recurrente y/o metastático, obtuvo unos resultados diferentes. La mediana de supervivencia en pacientes con tumores p16 negativos fue mayor en el grupo experimental con panitumumab que en el de control (11,7 meses vs. 8,6 meses; HR: 0,73; p= 0,0115), diferencia no observada en

el grupo de pacientes p16 positivos (11,0 meses vs. 12,6 meses; HR= 1,00; p= 0,998).<sup>109</sup>

Tampoco existe hasta la fecha en la literatura ningún estudio prospectivo que compare directamente la combinación de radioterapia con cetuximab frente a radioterapia y cisplatino y, menos aún, en función de la positividad de la infección del VPH. Aunque del ensayo fase II TREMPLIN<sup>279</sup> se pueden inferir algunos datos. Tras quimioterapia de inducción, se aleatorizaron 116 pacientes afectados de neoplasias de laringe e hipofaringe a recibir radioterapia combinada con cisplatino o cetuximab. Los autores concluyeron que la preservación de la función laríngea fue similar en ambos grupos de tratamiento con mayor toxicidad para el grupo tratado con cisplatino aunque no estadísticamente significativa (p= 0,41). Las recaídas locales fueron más numerosas en el grupo que correspondía al tratamiento de radioterapia y cetuximab, pero algunos de los pacientes pudieron ser rescatados con cirugía, por lo que el control local fue similar en ambos brazos. Tampoco hubo diferencias en la supervivencia global (85 % vs. 86 % respectivamente).

Dados los resultados contradictorios, hasta la fecha los pacientes con un carcinoma escamoso de cabeza y cuello deben ser tratados independientemente del estado del VPH, aunque es reconocido su valor en la estratificación de cara a determinar su impacto en los resultados de futuros estudios. Resulta también imprescindible mejorar los métodos de detección de la infección y su reproductibilidad porque pueden variar ostensiblemente por factores como la infraestructura y protocolos de los laboratorios, la selección del tipo de tejido disponible o la existencia de consenso sobre la positividad de los resultados.<sup>58</sup>

### **1.10.c. eIF4E y 4EBP1.**

La proteína eIF4E modula la expresión de genes implicados en el crecimiento,

proliferación y apoptosis a través de dos vías principales:

- exportando ARNm al citoplasma lo que aumentaría su concentración.
- y favoreciendo la traducción de los citoplasmáticos.

En humanos, hay 4 genes en la familia EIF4E: EIF4E1a, EIF4E1b, EIF4E2 y EIF4E3, pero sólo los dos primeros tienen todas las funciones y habitualmente cuando se menciona al EIF4E, se hace referencia al EIF4E1a.<sup>280</sup>

En condiciones fisiológicas, eIF4E se encuentra ligado al inhibidor 4EBP1 que evita su interacción con el factor eucariótico de traducción 4G (*Eukaryotic translation Initiation Factor 4 G*: eIF4G), la proteína andamio del complejo de iniciación de la traducción eIF4F. Ante la estimulación mitogénica, el 4EBP1 es fosforilado a través de las vías RAS-ERK y PI3K/AKT. La fosforilación libera a eIF4E del inhibidor 4EBP1, permitiendo al primero llevar al ARNm al complejo eIF4F para su traducción.

Este proceso, energéticamente hablando, es el más exigente en la célula y sufre un estrecho control. En mamíferos, la mayoría de la regulación tiene lugar a nivel del inicio de la traducción, más que en la elongación o terminación. El eIF4E es el que recluta al ARNm y es también una subunidad del complejo eIF4F, el cual en combinación con otros componentes de la maquinaria de iniciación, tiene una función crítica para la exposición y localización del sitio para el inicio de la traducción del ARNm.

Aunque la influencia en la transformación maligna celular de los procesos que afectan a la reparación de ADN o la estabilidad genómica es ya conocida<sup>281</sup>, el descubrimiento de la implicación de la desregulación de la síntesis proteica en esta transformación es relativamente reciente. Existen diferentes estudios que apoyan la competitividad de los ARNm para el crecimiento celular y que han demostrado que la sobreexpresión de eIF4E específicamente facilita la traducción del modelo de ARNm en función de su estructura 5'UTR<sup>282-284</sup>. Otros confirman que la sobreexpresión de eIF4E interviene en la transformación maligna y

la desregulación del crecimiento de las células humanas y de roedores<sup>285,286</sup> así como en los patrones de diferenciación celular<sup>287-289</sup>. Paralelamente el análisis de las células transformadas ha objetivado que sólo la síntesis de algunas proteínas seleccionadas estaba aumentada, concretamente algunas oncogénicas que en condiciones normales tienen la transcripción bloqueada y que son capaces de favorecer el crecimiento y la invasividad celular como por ejemplo el VEGF o la ciclina D1<sup>290</sup>. En contraposición, al reducir los niveles de eIF4E con un ARN antisentido se inhiben las propiedades metastáticas de diferentes líneas celulares oncogénicas.<sup>291,292</sup>

En el carcinoma de cabeza y cuello, ha sido reportada la sobreexpresión de eIF4E en el casi 100% de los tumores y estudios retrospectivos apuntan a que su elevación se correlaciona con un peor pronóstico<sup>293,294</sup>. En este sentido, Nathan *et al.*<sup>295</sup> publicaron que la sobreexpresión de eIF4E es funcionalmente activa en los márgenes tumorales de neoplasias de esta localización a través de la activación de la vía AKT/mTOR, confirmando así su valor pronóstico independiente para la recurrencia. Paralelamente, estudiaron la expresión de eIF4E durante la tumorigénesis de las neoplasias de cabeza y cuello, observando que la expresión de eIF4E se encontraba aumentada en el proceso. Así mismo, objetivaron una asociación positiva entre la expresión aumentada de eIF4E y otros factores angiogénicos junto con la media de densidad de vasos, lo que puede ser un indicador de un posible papel de eIF4E en la transformación maligna de los tejidos.<sup>296</sup>

También es conocido que la expresión de eIF4E es baja en tejido sano o lesiones benignas, pero claramente elevada en lesiones tumorales de localización otorrinolaringológica. Varios estudios han determinado que la presencia por inmunohistoquímica de sólo un 5% de células con eIF4E, es suficiente para predecir la recurrencia de la enfermedad en 2/3 de los pacientes con recurrencias en los dos primeros años<sup>297,298</sup>. De esta manera se sugiere que los eventos moleculares relacionados con eIF4E, pueden preceder a los cambios morfológicos celulares, lo que convertiría a eIF4E en un posible predictor de recurrencia precoz,

planteándose incluso que en algún momento de la carcinogénesis de las neoplasias de cabeza y cuello la elevación de eIF4E es un evento necesario para la progresión de los tumores sólidos y que eIF4E no sólo refleja el estado proliferativo de la célula, sino también sus propiedades malignas.

Por otro lado, se postula que eIF4E puede tener también un papel en la terapéutica puesto que su sobreexpresión parece generar resistencia a la radioterapia.<sup>299,300</sup>

#### **1.10.d. Vía de señalización EGFR/PI3K/AKT/mTOR y PTEN.**

La señalización de EGFR-PI3K-AKT-mTOR desempeña un papel importante en el desarrollo de algunos tumores, incluido el carcinoma de cabeza y cuello, donde se ha demostrado no sólo su activación, sino también la de otros componentes de estas vías. La unión del ligando con el EGFR, tal y como se ha descrito anteriormente, desencadena la activación de la PI3K Clase I que a su vez fosforila al fosfatidil-inositol 4,5-bifosfato (*Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate: PtdIns (4,5)P2*) que genera el PIP3<sup>301</sup> y que puede ser inactivado a través de la defosforilización por PTEN.<sup>302</sup>

En condiciones fisiológicas el PIP3 inicia la activación de AKT cuando se transloca a la membrana plasmática lo que conlleva un cambio conformacional en AKT, que ejerce su efecto a través de la fosforilización de múltiples dianas. Esto le confiere la capacidad de favorecer la supervivencia celular con el bloqueo de proteínas proapoptóticas y el estímulo de otras que favorecen dicha supervivencia<sup>303</sup>. Uno de los efectores de AKT es el complejo 1 mTOR (mTORC1).<sup>304</sup>

##### **1.10.d1. PI3K.**

Hasta la fecha se han identificadas 8 proteínas PI3K agrupadas en 3 subtipos (I-III) de entre las cuales destacarían las de clase I por su implicación en la carcinogénesis.<sup>305</sup>

En el carcinoma de cabeza y cuello se han determinado algunas mutaciones comunes del gen PIK3CA entre un 11 y 40%<sup>208,211,306</sup>. Así mismo, se ha comunicado que un evento oncogénico temprano sería la ganancia del número de copias 3q26 que se produce en las neoplasias de cabeza y cuello hasta en un 40–50% de los casos<sup>307,308</sup> y que se ha relacionado con un fenotipo tumoral más agresivo<sup>209</sup>, con invasión vascular<sup>309</sup>, y una mayor probabilidad de adenopatías metastáticas.<sup>308</sup>

#### **1.10.d2. AKT.**

Han sido descritas hasta la fecha tres isoformas de la serina-treonina quinasa AKT (AKT1, AKT2 y AKT3), codificadas por los genes PKB $\alpha$ , PKB $\beta$  y PKB $\gamma$ , respectivamente<sup>310</sup>. Estudios recientes han observado en carcinomas de cabeza y cuello y líneas celulares un aumento de la señalización de AKT que incluyen la amplificación génica y otras alteraciones<sup>211,311-313</sup>. Así mismo, el estado de activación de AKT se ha correlacionado con la progresión de la enfermedad de esta localización, mostrando claras diferencias entre la displasia, el carcinoma *in situ* y el tejido neoplásico de tumores de la esfera otorrinolaringológica.<sup>311</sup>

#### **1.10.d3. mTOR.**

Es uno de los principales efectores de AKT. Entre sus funciones destaca la regulación del crecimiento celular a través de la coordinación de los factores de crecimiento y las señales nutricionales<sup>314</sup>. Se han descrito dos complejos mTOR:

- Complejo 1 mTOR (mTORC1), sensible a la rapamicina que interactúa con la proteína reguladora asociada de mTOR conocida como RAPTOR.

Entre los efectores a los que fosforila se encuentran la proteína quinasa ribosomal S6 beta-1 (*Ribosomal protein S6 Kinase beta-1*: S6K1; también conocida como p70S6K) y la 4EBP1, implicada en el crecimiento celular.<sup>315</sup>

- y el Complejo 2 (mTORC2), insensible a la rapamicina que interactúa con la proteína asociada denominada RICTOR, que fosforila a AKT en el residuo Ser473.<sup>316</sup>

En el carcinoma de cabeza y cuello, la vías de señalización superiores e inferiores a mTOR aparecen alteradas en el 90-100% de los casos, lo que sugiere que las dianas de la vía AKT/mTOR son fundamentales en el proceso de tumorigénesis y supervivencia.<sup>317</sup>

En este sentido, Amornphimoltham *et al.* junto con otros autores<sup>317,318</sup>, observaron que la vía de mTOR juega un papel central en su desarrollo al encontrar acumulada la forma activa fosforilada de S6K1 en muestras de tumores así como en líneas celulares de cabeza y cuello y demostrar que la rapamicina (el primer inhibidor de mTOR) conseguía reducir sus niveles y en consecuencia inhibir la síntesis de ADN y causar la muerte por apoptosis de las células de carcinoma de cabeza y cuello.

Paralelamente, otros estudios han sugerido que tanto los niveles de expresión de mTOR como de sus dianas eIF4E, 4EBP1, S6K1, y S6 son potenciales biomarcadores tanto diagnósticos como pronósticos en este tipo de neoplasias.<sup>319</sup>

En un ensayo con 25 pacientes efectos de carcinoma de laringe tratados con radioterapia postoperatoria se evaluó la expresión de la proteína mTOR determinándose que la alta expresión de mTOR era un marcador pronóstico de riesgo para la recurrencia tras el tratamiento radioterápico<sup>320</sup>. En pacientes con carcinoma nasofaríngeo se ha determinado que la expresión de S6K1 y de 4EBP1 fosforiladas, se asocia con una mayor supervivencia planteándose su papel como potenciales biomarcadores pronósticos para estos pacien-

tes<sup>321</sup>. En este sentido, tratando de identificar el mejor biomarcador molecular en la vía mTOR del cáncer de cabeza y cuello, Clark *et al.*<sup>317</sup> determinaron que mTOR fosforilado tenía una mayor sensibilidad y especificidad en comparación con el 4EBP1 fosforilado para diferenciar el carcinoma de la mucosa normal en pacientes con este tipo de neoplasias.

Sin embargo, la relación entre la activación de la vía AKT-mTOR y la de otros eventos moleculares genéticos y epigenéticos que contribuyen a la progresión del carcinoma de cabeza y cuello permanecen por ser aclarada. Algunos autores, con el uso de anticuerpos fosfoespecíficos para detectar el estado activado de moléculas de la vía, han planteado que la activación de la vía AKT-mTOR se da ampliamente en las neoplasias de cabeza y cuello pero es independiente del estado de EGFR o de la mutación de p53. Se pone también de manifiesto además, la existencia de un subgrupo de pacientes en los que la vía mTOR esta activada pero no AKT, sugiriendo la existencia de una ruta de señalización AKT independiente que estimula a mTOR en el carcinoma de cabeza y cuello<sup>322</sup>. Estos hallazgos contribuyen al descubrimiento de los mecanismos de desregulación en estas neoplasias y pueden aportar información sobre posibles dianas para el desarrollo de nuevos fármacos.

#### **1.10.d4. PTEN.**

PTEN es un gen supresor de tumores que codifica para una enzima proteasa con especificidad para proteínas y lípidos. Su principal sustrato es PIP3, producto directo de la actividad de la fosfoinositol 3-quinasa. Tras la unión de factores de crecimiento a su receptor (p.e EGFR, HER-2 o IGFR), este sustrato media la señalización intracelular, fundamentalmente a través de la seronina treonina quinasa AKT, que en última instancia interviene en la supervivencia y proliferación celular. Por lo tanto PTEN puede ser considerado un regulador negativo de la vía PI3K-AKT-mTOR ya que su función consistiría en mantener los niveles de PIP3 bajos mediante su defosforilización y controlar así la acti-

vación de AKT y en última instancia la de la misma célula<sup>323,324</sup>. Esta hipótesis se basa en estudios que muestran que la inducción de la apoptosis por los bajos niveles de PIP3 y AKT fosforilada se han asociado con niveles altos de PTEN. Contrariamente, la pérdida de expresión de PTEN resulta en una elevada actividad de AKT y la continua proliferación y supervivencia celular. Por tanto, PTEN parece jugar un papel importante en la modulación de la progresión del ciclo celular así como en la apoptosis.<sup>325</sup>

En las neoplasias de cabeza y cuello, algunos estudios destacan una función disminuida de PTEN a causa de diversas alteraciones genéticas y epigenéticas alrededor del 5 al 10%, que incluyen la inestabilidad microsatélite (descrita hasta en 15% de los casos), la inactivación génica por hipermetilación del promotor o la pérdida de heterocigosidad<sup>326</sup>. Esta última se ha relacionado con un peor pronóstico<sup>327</sup> así como con la radiosensibilidad y quimiosensibilidad.<sup>328</sup>

Sin embargo, las posibles alteraciones a nivel proteico de PTEN han permanecido relegadas a un segundo plano hasta que en los últimos años, algunos estudios las han puesto de relevancia. Lee *et al.*<sup>325</sup>, utilizando análisis inmunohistoquímicos en muestras de carcinoma escamoso de lengua de 41 pacientes, observaron que la tasa de inactivación de PTEN a nivel proteico era más frecuente que la detectada a nivel genético. Así mismo demostraron una correlación significativa entre la pérdida de expresión de PTEN y una peor supervivencia global ( $p= 0,03$ ) y libre de progresión ( $p= 0,01$ ). Además PTEN permanecía como un predictor independiente de mal pronóstico cuando se comparaba con la afectación nodal o el estadio del tumor. Snietura *et al.*<sup>329</sup> también confirmaron un peor pronóstico para pacientes con carcinoma de cabeza y cuello con baja expresión de PTEN tratados con cirugía y radioterapia adyuvante.

Se han obtenido resultados similares con la baja expresión de PTEN como un marcador pronóstico, en estudios con diferentes tipos de neoplasias como

por ejemplo de cérvix<sup>330</sup>, próstata<sup>331</sup>, colorectal<sup>332</sup> o astrocitomas<sup>333</sup>. Sin embargo, Pattje *et al.*<sup>334</sup> mostraban en un estudio con 140 pacientes afectados de carcinoma de cabeza y cuello localmente avanzado, un riesgo aumentado de recaída loco-regional tras radioterapia post-operatoria y expresión de PTEN aumentada (HR: 2,2; IC 95%: 1,1-4,6; p= 0,03).

Estos resultados opuestos pueden explicarse por la diversidad de expresión de PTEN en los tejidos normales y neoplásicos, así como por la trascendencia de sutiles variaciones de concentración de PTEN según el fenotipo del tumor<sup>335</sup> o los diferentes métodos inmunohistoquímicos empleados.<sup>336</sup>

En cuanto a su valor predictivo, la pérdida de expresión de PTEN se ha relacionado con la resistencia a agentes anti-EGFR y anti-HER2 en diferentes neoplasias<sup>337-339</sup>. En los tumores de la esfera otorrinolaringológica, Da Costa *et al.*<sup>340</sup> analizaron de manera retrospectiva la presencia de PTEN y su relación con la eficacia del tratamiento en muestras de 61 pacientes con una recurrencia irreseccable o metastática de carcinoma de cabeza y cuello tratados con cetuximab. La baja expresión de PTEN estaba presente en el 26,2% de los casos e identificó a los pacientes con un peor pronóstico. Los autores concluyeron que la baja expresión de PTEN en pacientes tratados con cetuximab y quimioterapia representaba un posible biomarcador pronóstico pero su valor predictivo de respuesta al cetuximab no era valorable puesto que el estudio carecía de un grupo control.

#### **1.10.e. MAPK.**

La superfamilia de las MAPK representa un grupo altamente conservado de proteínas quinasas que juegan un papel fundamental en la transducción de señales al modular la transcripción de genes en el núcleo como respuesta a los cambios del ambiente celular. En humanos existen al menos 11 miembros iden-

tificados que se dividen a su vez en diferentes subgrupos. Las más estudiadas serían<sup>341</sup>:

- **Las ERK.** Las más relevantes serían ERK1 y ERK2, que como respuesta a estímulos de factores de crecimiento y mitógenos, favorecen la transcripción nuclear de genes con implicaciones en la división celular, la migración y la supervivencia.<sup>342</sup>
- **Las quinasas c-Jun N-terminal** (*Jun N-terminal kinase*: JNK). Incluye 3 genes (*jnk1*, *jnk2*, y *jnk3*) y un total de 8 isoformas creadas por un *splicing* alternativo, con JNK1y JNK2 expresadas en múltiples tejidos y la JNK3, específica del cerebro<sup>343</sup>. Las JNKs responden a una amplia variedad de señales de estrés como los cambios osmóticos, las citoquinas inflamatorias, la isquemia y la exposición ultravioleta. Su estimulación es requerida durante la apoptosis inducida por algunos agentes quimioterápicos como el cisplatino, etopósido o paclitaxel. De hecho, la apoptosis inducida por el platino se inhibe con la inactivación de las JNK MAPKs<sup>344</sup>. También se ha comprobado que pueden favorecer la supervivencia celular bajo determinadas condiciones (p.e miocitos cardíacos tras un estrés oxidativo) además de tener un importante papel en la diferenciación celular así como implicaciones en la tumorigénesis y respuesta inflamatoria.<sup>345</sup>
- **Las quinasas de la familia p38**, de las que hay definidas hasta la fecha 5 isoformas (*p38a*, *p38β*, *p38γ*, *p38d* y *p38-2*) en función de su especificidad por el sustrato. Su activación responde a estímulos tales como el estrés ambiental, las radiaciones ionizantes, la isquemia así como algunas citoquinas inflamatorias y la activación del receptor del factor de necrosis tumoral (*Tumoral Necrosis Factor*: TNF)<sup>346</sup>. Esta familia se encuentra implicada en la movilidad celular, la apoptosis y la transcripción y remodelación de la cromatina.<sup>347</sup>

Por lo tanto, cada una de ellas desempeña funciones diferentes en la regulación de la expresión genómica, del metabolismo intracelular y de la respuesta celular a estímulos externos aunque las ERK1 y 2 parece que se asocian con ma-

por frecuencia a la proliferación celular tumoral, ya que pueden ser activadas por receptores del factor de crecimiento tirosina quinasa mutados o nativos, así como por los oncogenes RAS o RAF entre otros. Sin embargo, tienen en común que cada una actúa como un sistema de tres niveles en cascada, al final de la cual se encontraría la MAPK, una quinasa seronina/treonina, cuya fosforilización conllevaría un cambio en su conformación favoreciendo su actividad específica, de tal manera que podría fosforilar a proteínas nucleares diana, como por ejemplo, los factores de transcripción implicados en la regulación de determinados genes.<sup>345</sup>

Aunque las tres familias MAPK corren en paralelo también se pueden cruzar las señales entre ellas lo que permitiría una modulación de la respuesta a diferentes estímulos. La especificidad de su activación es mayor a nivel de quinasas MAPK específicas, puesto que existiría un menor cruce de información en esos puntos. Obviamente estas comunicaciones entre las vías va a depender de múltiples factores que incluyen la duración e intensidad del estímulo, el tipo de célula y el receptor específico celular que sea estimulado. Así mismo, la vía MAPK puede interactuar con otras vías.<sup>345</sup>

En lo que se refiere a su implicación en el cáncer de cabeza y cuello la activación de la vía MAPK se ha relacionado con su desarrollo, la motilidad y migración de las células neoplásicas así como con un posible peor pronóstico<sup>348</sup>. Es el caso de Albanell *et al.*<sup>349</sup> que determinaron la activación de ERK1/2 en muestras de carcinoma escamoso de cabeza y cuello, aunque este estudio probablemente estaba limitado por la falta de comparación con el tejido normal; o Wang *et al.*<sup>350</sup> que objetivaron también una activación de ERK1/2 en las neoplasias de lengua en comparación con la mucosa normal, aunque en este caso la comparación tampoco se realizó con controles pareados.

Sin embargo existen otros estudios, como por ejemplo el llevado a cabo por Aguzzi *et al.*<sup>348</sup>, en el que comprobaron una reducción significativa de los niveles fosforilados de ERK1/2 en 30 muestras tumorales de cavidad oral en compara-

ción con los tejidos control peritumorales, sin encontrar diferencias significativas ni en expresión ni activación de otras MAPKs. Dichos hallazgos coincidían con la determinación de la misma desregulación de las formas activadas de ERK1/2 en muestras de carcinoma escamoso de laringe de otro estudio previo.<sup>351</sup>

Aunque los resultados de Aguzzi *et al.* no concuerdan con muchas de las publicaciones que confirman la activación de ERK en diferentes tipos de cáncer como el de próstata, colon, estómago o incluso melanoma<sup>352-354</sup>, los mismos hallazgos son descritos por otros autores como Tosi *et al.*<sup>355</sup> que en una muestra heterogénea con pacientes afectados de carcinoma escamoso de cabeza y cuello, determinaron una disminución de los niveles de las formas activadas de las MAPKs; o Garavello *et al.*<sup>351</sup> en este caso en muestras de carcinomas laríngeos.

Estas discrepancias en los datos pueden depender de la diferente modulación de las MAPK en función del tipo de tumor y de su localización anatómica así como por las diferencias en los métodos empleados para evaluar la expresión y activación de MAPK de los diferentes grupos, fundamentalmente basada en la inmunohistoquímica o en otros métodos cuantitativos<sup>348</sup>. Así mismo, es posible que la activación de MAPK y más en concreto la de ERK, pueda modularse de acuerdo al diferente estadio del tumor. Esta hipótesis de la disminución de la fosforilización de ERK se ha publicado en cáncer de próstata pobremente diferenciado cuando se comparaba con estadios más iniciales y cérvix.<sup>356,357</sup>

También es bien conocido que las diferencias en la activación temporal de MAPK pueden resultar en diferentes e incluso acciones opuestas sobre el desarrollo celular. De esta manera, es posible, que una activación temporal de ERK pueda, por ejemplo, desencadenar una señal proliferativa, mientras que la fosforilización mantenida de ERK pueda relacionarse con la diferenciación<sup>358</sup>. De hecho, incluso si la activación de ERK es necesaria para la transición de la fase G0/G1 del ciclo celular, existe una considerable evidencia que indica que la activación mantenida de ERK puede desencadenar la inhibición de dicho ciclo así como una señal pro-diferenciación<sup>359</sup>, también en células de origen epitelial.<sup>360</sup>

Así, es posible tal y como sugieren Paweletz *et al.*<sup>361</sup> que la pérdida de la fosforilización mantenida de ERK pueda favorecer la proliferación celular y el desarrollo del tumor.

Estos hallazgos sugieren que el papel de la vía de señalización MAPK en el pronóstico del carcinoma de cabeza y cuello permanece por ser esclarecido, al igual que su relación con los agentes anti-EGFR. Janmaal *et al.*<sup>362</sup> observaron la ausencia de sensibilidad a inhibidores del EGFR en líneas celulares de carcinoma de pulmón con activación de la vía MAPK. Yamatodani *et al.*<sup>363</sup> también determinaron la activación persistente de MAPK en líneas celulares de carcinoma de colon y cabeza y cuello parcialmente sensibles a cetuximab, pero concluían que era necesaria la determinación de otras proteínas de señalización intracelular para poder predecir la respuesta al anticuerpo anti-EGFR.

### **1.10.f. STAT 3.**

Las STATs son una familia de factores de transcripción de JAKs y otras quinasas formada por STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, y STAT6. Las STATs contienen residuos tirosina conservados próximos a *C-terminus* que es fosforilado por las janus quinasas (*Janus Kinases: JAKs*), lo que conduce a la formación de homo o heterodímeros STAT y la posterior translocación nuclear. Una vez en el núcleo, las STATs sirven como un factor de transcripción que inicia la transcripción de los correspondientes genes diana.

En lo que se refiere a su implicación en la carcinogénesis en humanos se ha observado una alta frecuencia de STAT1, STAT3, y STAT5 activados, siendo la proteína STAT3 la que está presente en casi todos los tumores estudiados. STAT3 es considerado un tipo de oncogén que ejerce un papel fundamental como regulador de eventos biológicos y moleculares implicados en el desarrollo de la neoplasia. Su activación constitutiva tiene una repercusión en la expresión de diversos genes requeridos para la supervivencia de la célula tumoral, la prolifera-

ración, la angiogénesis así como la invasión y las metástasis, sugestivo todo ello habitualmente de un peor pronóstico.<sup>364</sup>

Diferentes estudios han sugerido que la activación persistente de STAT3 podría favorecer la carcinogénesis a través de la desregulación de genes que codifican para proteínas anti-apoptóticas así como otras asociadas a la proliferación<sup>365,366</sup>. De ahí que las células tumorales con STAT3 constitutivamente activadas son más resistentes a la apoptosis y a determinados citotóxicos. STAT-3 también regula la respuesta inmune innata y adaptativa durante el desarrollo del cáncer, favorece la invasión celular, inhibe la expresión de p53 así como la producción de citoquinas pro-inflamatorias y quimioquinas.

Arany *et al.*<sup>367</sup> y Leeman *et al.*<sup>368</sup> han relacionado la fosforilización aumentada de STAT3 en el carcinoma de cabeza y cuello con metástasis ganglionares, una pobre diferenciación y en consecuencia un peor pronóstico. Seethala *et al.*<sup>369</sup> no objetivaron ningún valor pronóstico. Y Pectasides *et al.*<sup>370</sup> publicaron unos mejores resultados en los tumores de la esfera otorrinolaringológica con elevados niveles de expresión de STAT3 nuclear. La existencia de estos datos discordantes cuestionan el valor pronóstico de esta proteína.

En cuanto a su relación con el cetuximab, Wheeler *et al.*<sup>169</sup> demostraron niveles elevados de STAT3 en células escamosas neoplásicas de cabeza y cuello con expresión de EGFRvIII a diferencia de los controles y que eran requeridos específicamente para la motilidad e invasión celular mediada por la variante III del receptor. Para determinar los efectos del cetuximab en su activación mediada por STAT3, las células con la expresión del receptor mutado fueron tratadas con el anticuerpo seguido del análisis del promotor de STAT3. Mientras que el cetuximab disminuía la actividad del promotor de STAT3 en las células control, era incapaz de hacerlo en las células con EGFRvIII. Esto indicaba que el EGFRvIII aumentaría la transcripción y fosforilización de STAT3 en las células escamosas de cáncer de cabeza y cuello, efectos que podrían contribuir a la resistencia al cetuximab.

### 1.10.g. p53.

La familia de las proteínas de los mamíferos p53 (p53, p63 y p73) evolutivamente hablando, desciende de una antigua familia de factores de transcripción. De las tres proteínas de la familia, la p53 es claramente superior al resto en cuanto a su capacidad supresora tumoral. Además la p53 coordina diferentes respuestas celulares al estrés y daño externo y juega un papel importante en diferentes procesos fisiológicos, que incluyen la fertilidad, la respiración mitocondrial, el metabolismo celular, la autofagia, la adhesión celular y el mantenimiento y desarrollo de las células madre.

La función como proteína supresora de tumores la ejerce controlando la progresión del ciclo celular de la fase G1 a la fase S. Las alteraciones en el gen TP53 pueden generar células cancerosas con una ventaja en su capacidad replicativa lo que conllevaría un crecimiento incontrolado así como a niveles elevados de proteína p53. Este incremento de la proliferación celular se asocia con lesiones más avanzadas y la distribución de dichas células proliferantes en los tejidos, se postula que podría aportar información sobre los mecanismos reguladores que se alteran en la tumorigénesis.<sup>371</sup>

Kato *et al.*<sup>372</sup> identificaron un aumento de la expresión de dicha proteína que se relacionaba con una disminución de la supervivencia y de Vicente *et al.*<sup>373</sup> en un estudio que reunía 287 muestras de carcinoma escamoso de cavidad oral, observaron que la ausencia de expresión de la misma indicaba un mejor pronóstico con una mayor supervivencia. También parece clara su relación con la agresividad del tumor y estadios más avanzados<sup>374</sup>. A pesar de estos resultados favorables, el papel de p53 como marcador pronóstico permanece controvertido. El número de pacientes estudiados, el insuficiente seguimiento o las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas para su análisis, hacen su interpretación complicada. De hecho, su positividad en tumores orales, varía tanto como de 0 a 100%.<sup>49</sup>

### 1.10.h. Ki67.

Ki67 es una proteína nuclear expresada en las células sometidas al proceso de división y que en el caso de los tumores reflejaría la fracción de células proliferantes del mismo (**Figura 2**). Dicha proteína no es detectada durante la fase G0 del ciclo celular; su expresión queda restringida por tanto, desde la fase G1 a la M. Su función permanece desconocida.<sup>375</sup>

Se considera que es un potencial biomarcador con valor pronóstico en una amplia variedad de tumores, incluyendo las neoplasias de cabeza y cuello<sup>376</sup>. En tumores laríngeos pobremente diferenciados se ha reportado un aumento de su expresión así como en aquellos tumores asociados con ganglios linfáticos<sup>377</sup>, y por tanto más avanzados, aunque esto no ha podido ser confirmado por otros estudios<sup>378,379</sup>. Se ha sugerido también que la expresión de Ki67 aumenta con la severidad de los cambios displásicos en las lesiones pre-tumorales.<sup>380</sup>

## **2. JUSTIFICACION DEL TRABAJO Y OBJETIVOS.**

El cáncer de cabeza y cuello es una enfermedad agresiva asociada a una alta morbilidad y mortalidad (alrededor del 50% a los 5 años) a pesar de los tratamientos multidisciplinarios empleados. La mayoría de los tumores son de estirpe escamosa con sobreexpresión del EGFR, un factor pronóstico negativo bien estudiado en esta patología y en otras neoplasias como el cáncer de colon o de pulmón.

El cetuximab, un anticuerpo monoclonal dirigido contra el dominio extracelular del EGFR, ha sido el primer agente biológico aprobado para el tratamiento de los tumores de la esfera otorrinolaringológica y, aunque hasta la fecha es el único que ha conseguido una mejora significativa en la supervivencia en enfermedad localmente avanzada y metastática en primera línea, la falta de eficacia es evidente con una tasa de respuesta alrededor del 15% en monoterapia y un aumento de la supervivencia global de 3 meses en la enfermedad a distancia en combinación con quimioterapia.

Un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares de la resistencia a estos fármacos permitiría identificar marcadores que podrían seleccionar a los pacientes respondedores o ayudar a establecer opciones terapéuticas para superar dichas resistencias.

Paralelamente, en los últimos años ha sido documentada la relación del VPH con algunos de estos tumores, aproximadamente en el 20% de los casos aunque su incidencia puede variar entre otras causas, en función de la localización de la neoplasia. La determinación del virus es importante por las potenciales implicaciones para su prevención y tratamiento, ya que la evidencia apoya que son neoplasias con una mejor respuesta a la radioterapia y/o quimioterapia lo que convertiría al virus en un biomarcador favorable tanto predictivo como pronóstico. Existen diferentes métodos para su detección, incluida la tinción inmunohistoquímica de la proteína p16. Es reconocido su valor como marcador indirecto de la infección tras demostrarse su sobreexpresión en los tumores inducidos por el VPH y su relación directa con la capacidad oncogénica de este virus.

En base a esto hemos planteado los siguientes **objetivos**:

- Análisis cuantitativo por inmunohistoquímica de proteínas relacionadas con la transducción de señales en la vía del EGFR.
- Determinación de la eficacia del tratamiento en función de la expresión de proteínas implicadas en la vía de señalización del EGFR y su relación con variables clínicas.
- Análisis de la expresión de p16 y de la eficacia del tratamiento quimioterápico antitumoral administrado.

### **3. MATERIAL Y METODOS.**

### **3.1. Criterios de inclusión.**

- Pacientes afectos de carcinoma escamoso localmente avanzado de cavidad oral, orofaringe, laringe o hipofaringe no quirúrgicos y pacientes con enfermedad recidivada/metastática.
- Pacientes tratados con cisplatino o cetuximab concomitante con radioterapia para los tumores localmente avanzados, y tratados con cetuximab en combinación con otros citotóxicos en los pacientes metastáticos o recidivados.

### **3.2. Criterios de exclusión.**

- Pacientes sin exploración o estudio radiológico para estadio.
- Ausencia de material histológico suficiente para el estudio propuesto.

### **3.3. Diseño**

Estudio retrospectivo de cohortes con pacientes tratados en el Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario de Valle Hebrón (Barcelona) durante los años 1997-2009.

En el análisis se recogieron los datos de 50 individuos afectos de carcinoma escamoso de cabeza y cuello de diferentes localizaciones y estadio, no quirúrgicos al diagnóstico o con enfermedad recidivada/metastática.

Los pacientes se distribuyeron en 3 grupos.

- Grupo A, incluía a pacientes no quirúrgicos tratados de manera radical con radioterapia en concomitancia con cetuximab.

- Grupo B, comprendía pacientes con recidiva neoplásica localmente avanzada o metastática que, en algún momento de la evolución de su enfermedad, recibieron cetuximab como tratamiento paliativo.
- Grupo C, con pacientes no quirúrgicos tratados de manera radical con radioterapia en concomitancia con cisplatino.

La valoración de la respuesta al tratamiento se realizó según criterios *RECIST* (*Response Evaluation Criteria In Solid Tumors: Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos*) 1.0<sup>381</sup> sobre la enfermedad medible con las siguientes definiciones:

- Respuesta Completa: Desaparición de todas las lesiones diana.
- Respuesta Parcial: Disminución al menos del 30% de la suma de los diámetros mayores de las lesiones diana, tomando como referencia los diámetros basales.
- Progresión de enfermedad: Aumento de al menos un 20% de la suma de los diámetros mayores de las lesiones diana, tomando como referencia la suma basal o bien la aparición de lesiones nuevas.
- Estabilidad de la enfermedad: ni aumento ni disminución de la enfermedad que cumpla criterios previos.

### **3.4. Variables estudiadas.**

Las variables estudiadas relacionadas con el paciente fueron el sexo, la edad, tabaquismo e ingesta de alcohol. En cuanto al tumor se valoró el estadio, que incluía la extensión del tumor a nivel local (categoría T), la afectación ganglionar regional (categoría N) y a distancia (categoría M) según la clasificación TNM 7ª

edición (2009)<sup>67</sup>. Otras variables fueron el tratamiento antineoplásico recibido y la respuesta al mismo.

Se seleccionaron los bloques de parafina correspondientes a los tumores de los pacientes seleccionados para el estudio histológico sobre dicho material. Sobre dichos bloques se realizaron las técnicas de inmunohistoquímica y moleculares para la determinación de las siguientes proteínas:

**EIF4E y pEIF4E.**

**4EBP1 y p4EBP1.**

**mTOR y pmTOR.**

**pMAPK.**

**PTEN.**

**Ki67.**

**p53.**

**p16.**

Todos los anticuerpos, excepto PTEN fueron puestos a punto mediante el módulo de tinción *Benchmark XT*, utilizando el *ultraView Universal DAB Detection kit* de *Ventana Medical Systems* el cual se basa en un sistema indirecto y desprovisto de biotina, para detectar IgG de ratón, IgM de ratón y anticuerpos primarios de conejo.

Después de cortar los tejidos al grosor apropiado (2-3  $\mu$ ) las preparaciones se hornearon durante al menos 2 horas a 60<sup>o</sup> para mejorar la adhesión del tejido al portaobjetos y se colocaron en el módulo de tinción para proceder al protocolo automatizado diseñado para la IHQ. El módulo de tinción *Benchmark XT* utiliza un sistema automatizado propio. Cada paso se incubaba durante un tiempo y a una temperatura determinada. El desparafinado se realiza mediante la solución EZ

prepTM (10x) y el desenmascaramiento con la solución (*Cell Conditioning 2*, Pre-diluido pH 8). Una vez realizado el desenmascaramiento a pH 8, las muestras se bloquean con solución de peróxido de hidrógeno al 3%. Posteriormente es aplicado el anticuerpo primario específico.

El PTEN se realizó mediante un pretratamiento con EDTA pH 8 a una dilución 1/300 a 4°C durante toda la noche.

### **3.5. Análisis de datos.**

#### Valoración de la inmunohistoquímica.

Se consideró la tinción nuclear y/o citoplasmática, de acuerdo a la intensidad de expresión del reactivo definida como 0 en ausencia de tinción apreciable, 1 si la tinción era débil, 2 con tinción moderada y 3 con tinción intensa.

Se empleó el sistema Histo-score (H-score), método de determinación cuantitativa, basado en el porcentaje de células que expresan el reactivo y la intensidad de expresión evaluado sobre 10 campos de gran aumento (40x) en microscopía óptica. El índice de tinción mide el porcentaje de células positivas multiplicado por la intensidad de expresión (0, 1, 2 o 3 según sea el caso) con un rango del 0 a 300.

El índice de proliferación celular Ki67 y las proteínas p53 y p16, se determinaron por el porcentaje total de expresión en células tumorales positivas sobre el total de células tumorales de la muestra.

### **3.6. Análisis estadístico.**

Se realizó un análisis descriptivo de las variables en forma de frecuencias y porcentajes para las variables categóricas y mediante media y desviación estándar.

dar para las variables continuas, a excepción de las variables referente a tiempos, las cuales se presentaron mediante medianas y rangos intercuartílicos. La asociación entre variables continuas se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Pearson, mientras que las relaciones entre variables continuas y categóricas se evaluó mediante el test no paramétrico de Wilcoxon, en el caso de variables categóricas con 2 categorías, y mediante el test de Kruskal-Wallis, para más de 2 categorías. Por último, la asociación entre variables categóricas se evaluó mediante el test de la Chi-cuadrado (o el test de Fisher, cuando las frecuencias esperadas eran  $<5$ ).

Se desarrollaron modelos univariados de regresión de Cox de riesgos proporcionales para identificar posibles factores predictores de recidiva y mortalidad. En el caso de la variable respuesta mortalidad, todas aquellas variables que fueran significativas a un nivel del 0,20 fueron consideradas potenciales factores independientes para el análisis multivariable. Se desarrolló un modelo multivariable de regresión de Cox de riesgos proporcionales para la variable respuesta mortalidad, donde las variables predictoras fueron aquellas que eran significativas a un nivel del 0,05. La capacidad predictiva del modelo se determinó mediante el cálculo del c-index y su correspondiente intervalo de confianza del 95%.

Además, se evaluó el seguimiento de los tres grupos de pacientes mediante las curvas de Kaplan-Meier y las diferencias entre los grupos se determinaron mediante el test de log-rank.

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el *software SAS 9.4.*, mientras que los gráficos se realizaron en R v3.3.2. Se asumió significación estadística cuando  $p < 0,05$ .

### **3.7. Consideraciones éticas.**

El estudio fue aprobado por el Comité de Etica del Hospital Universitario Valle de Hebrón (Barcelona).

## **4. RESULTADOS**

### **Análisis descriptivo y relación con variables inmunohistoquímicas del total de pacientes. (Tabla 3)**

El total de pacientes analizados en este estudio ascendió a 50 individuos afectados de cáncer de cabeza y cuello de diferentes localizaciones y estadios, distribuidos en 3 grupos en función del tratamiento recibido (Grupo A con radioterapia en combinación con cetuximab, Grupo B con tratamiento paliativo con cetuximab en combinación con otros citotóxico y Grupo C con tratamiento combinado de radioterapia con cisplatino).

Se incluyeron 43 varones y 7 mujeres. La media de edad del conjunto de los pacientes fue de 59,16 años (d.e 11,98) (**Figura 3**) con un mayor número de casos entre los 40 y 50 años. La mayoría de los pacientes se encontraba en los grupos de edad entre los 50 y 80 años de edad. Los pacientes con menos de 40 o más de 80 años representaban el 8%.

En cuanto a la distribución por edad y sexo, los varones menores de 65 años suponían el 67,44% mientras que en las mujeres era más numeroso el grupo de mayores de 65 años, con un 57,14%. La distribución por grupos de edad en el caso de los hombres es similar a la del global, sin embargo, en el caso de las mujeres observamos que no hay ninguna afecta entre los 50 y 60 años, y que salvo esa excepción, las demás se distribuían, más o menos, homogéneamente en los diferentes grupos (**Figuras 4 y 5**).

Hasta el 71% de los pacientes reconocían un consumo habitual de alcohol; el 78,05% de los varones y el 28,57% de las mujeres.

Respecto al tabaquismo, sólo un 10% de los pacientes no había fumado nunca, un 40% había abandonado el consumo al menos un año antes del diagnóstico, y el 50% restante mantenía activo el hábito tabáquico (**Figuras 6 y 7**).

En la distribución según el género, un 55,81% de los hombres eran fumadores activos y un 44,19% había abandonado dicho hábito al menos un año an-

tes del diagnóstico, a diferencia de las mujeres, de las cuales un 71,42% no había fumado nunca. Del resto, un 14,29% mantenía el hábito tabáquico o continuaba fumando y otro 14,29% lo había dejado también al menos un año antes del diagnóstico.

La distribución según la localización neoplásica fue la siguiente (**Figura 8**):

- 17 en cavidad oral (34%).
- 14 en orofaringe (28%).
- 11 en laringe (22%).
- 6 en hipofaringe (12%).
- 2 con adenopatías cervicales de primario no filiado (4%).

En el momento del diagnóstico, un 8% de los pacientes presentaban enfermedad en estadio (E) localizado, EI y EII. El resto se distribuyeron en neoplasias localmente avanzadas con un 22% en EIII, 62% EIVA, 6% EIVB y un 2% con metástasis a distancia (EIVC) (**Figura 9**).

La mediana de supervivencia global del total de 50 pacientes fue de 698 días, con un rango intercuartil entre 399 y 1116, y la supervivencia libre de progresión de 302 días con un rango intercuartil entre 176 y 483.

En relación a las variables inmunohistoquímicas, cuantificadas por el sistema Histo-score, los índices de tinción revelaron una mayor presencia de las proteínas 4EBP1 con una media de 244,40 (d.e 55,11), pEIF4E con 213,88 (d.e 88,22) y su forma no fosforilada EIF4E con 193,70 (d.e 90,38), y mTOR con 168,80 (d.e 69,42). El resto de proteínas se distribuyeron en el siguiente orden: p4EBP1 con 102,04 (d.e 96,98), pMAPK con 92,80 (d.e 76,78), pmTOR con 45,90 (d.e 43,84) y PTEN con 27,14 (d.e 33,10), (**Tabla 5**).

La presencia de las proteínas p53, Ki67 y p16, cuantificada por el porcentaje total de expresión, tenía una media de 42,70 (d.e 39,61), 61,84 (d.e 26,82) y 13,70 (d.e 29,48) respectivamente, (**Tabla 5**).

La presencia de las proteínas p4EBP1 y pmTOR fue menor en comparación con sus formas no fosforiladas para todas las variables estudiadas.

Los hombres presentaron, respecto a las mujeres, mayor presencia de todas las proteínas salvo pMAPK y p16 y esta relación se observó también entre los fumadores. Los estadios localizados no presentaron tinción positiva para p16. En la recidiva a distancia se observó la mayor presencia de casi todas las proteínas salvo mTOR, pmTOR y p53.

Al relacionar la edad con las proteínas observamos una relación inversa en todas las proteínas salvo mTOR, pmTOR y pMAPK de tal manera que a mayor edad la presencia de las proteínas era menor, aunque sin significación estadística.

Respecto a los hábitos tóxicos o la localización no se objetivó ninguna asociación.

Encontramos asociaciones estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre la menor presencia de la proteína pMAPK y la recidiva neoplásica ( $p = 0,0379$ ) (**Tabla 3.4b**) y entre pmTOR y la localización del tumor primario ( $p = 0,0204$ ), de tal manera que las adenopatías cervicales de primario no filiado tuvieron mayor presencia de la proteína pmTOR ( $85,00 \pm 106,10$ ) que las localizadas en cavidad oral ( $59,41 \pm 34,73$ ), laringe ( $47,27 \pm 39,77$ ), hipofaringe ( $38,33 \pm 28,58$ ) u orofaringe ( $26,07 \pm 49,39$ ) en este orden, (**Tabla 3.3a**).

En cuanto a la incidencia de recidiva de la enfermedad tumoral tras el tratamiento primario con radioterapia en combinación con cetuximab o cisplatino, los porcentajes de recidiva de la enfermedad fueron de 52,94% y 57,89%, respectivamente (diferencias no estadísticamente significativas,  $p = 0,7652$ ).

No observamos diferencias en cuanto a la estratificación según la localización del tumor ( $p= 0,8704$ ) y el desarrollo de recidiva ( $p= 0,7652$ ), (**Tablas 4.1 y 4.2**). Para ambos grupos de tratamiento con radioterapia y cetuximab o cisplatino, la incidencia de recidiva fue mayor para las neoplasias localizadas en cavidad oral (35,29% vs. 36,84%) y orofaringe (35,29% vs. 36,84%) y menor para las localizadas en hipofaringe (11,76% vs. 10,53%).

No se apreciaron diferencias, estadísticamente significativas, en relación al beneficio clínico del tratamiento con uno u otro quimioterápico simultáneo con radioterapia. Para los pacientes de los grupos de cetuximab y cisplatino la tasa de respuesta completa fue del 52,94 y 52,63%, la respuesta parcial del 35,29 y 42,11% y la de enfermedad estable del 5,88 y 5,26%, respectivamente ( $p= 0,7456$ ). En el grupo de cetuximab no se pudo evaluar la respuesta de un paciente por fallecimiento (5,88%). Tampoco presentaron diferencias significativas la supervivencia global ( $p= 0,1449$ ) o libre de progresión ( $p= 0,7040$ ) con unas medianas para los pacientes del grupo de radioterapia con el agente anti-EGFR y radioterapia con cisplatino de 462 y 715 días, con rangos intercuartiles entre 237 y 638, y 399 y 979, respectivamente. En cuanto a la supervivencia libre de progresión las medianas fueron de 277 días con un rango entre 218 y 345 y 292 días con un rango entre 109 y 584 días, respectivamente, (**Tabla 4.1**).

Las tinciones inmunohistoquímicas de las proteínas en ambos grupos no mostraron diferencias salvo para pmTOR y p4EBP1 ( $p= 0,0200$  y  $0,0003$ , respectivamente), (**Tabla 4.2**).

**Análisis descriptivo y relación con variables inmunohistoquímicas de los pacientes tratados con radioterapia y cetuximab. Tablas 6.**

En los pacientes con un tumor de la esfera otorrinolaringológica localmente avanzado y tratados inicialmente con radioterapia y cetuximab concomitante, las neoplasias se localizaron en:

- Cavidad oral, 6 pacientes (35,29%).
- Orofaringe, 6 pacientes (35,29%).
- Laringe, 3 pacientes (17,65%).
- Hipofaringe, 2 pacientes (11,76%).

La media de edad fue la mayor de los tres grupos con 61,53 años, y una desviación estándar de 14,92 años.

La distribución según sexo correspondía con 88.24% de varones y 11.76% de mujeres (**Tabla 10**).

En el caso de los hombres, todos, en algún momento, habían sido fumadores; un 40% había dejado de fumar al menos un año antes del diagnóstico y el 60% continuaban fumando. Respecto al hábito enólico, el 13.33% negaba consumir alcohol diariamente mientras que el resto mantenía el consumo. En cuanto a las mujeres, el 100% negaba cualquiera de los hábitos tóxicos analizados.

En cuanto a la estadificación, todos los pacientes debutaron con enfermedad localmente avanzada; 12 pacientes en estadio IVA (79,59%) y 5 pacientes en estadio III (29,41%).

Al evaluar la tasa de respuesta inicial al tratamiento recibido con radioterapia y cetuximab, 9 pacientes presentaron respuesta completa (52,95%), 6 pacientes respuesta parcial (35,29%) y 1 paciente estabilización de la enfermedad (5,88%). Un paciente falleció a las tres semanas de finalizar el tratamiento con el diagnóstico de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica sin poder ser evaluado (5,88%).

La tasa de recidiva fue del 52,94% (9/17), fundamentalmente a nivel loco-regional, y sólo 2 pacientes presentaron enfermedad a distancia (1 enfermo a nivel óseo y pulmonar y otro sólo a nivel óseo).

La mediana de supervivencia global de este grupo fue de 462 días con un rango intercuartil entre 237 y 638 y la de libre de progresión de 277 días con un rango intercuartil entre 218 y 345.

Las medias más altas de los índices de tinción inmunohistoquímica fueron para las proteínas 4EBP1 con una media de 247,06 (d.e 57,96), eIF4E 214,41 (d.e 91,21) y su forma fosforilada pEIF4E 194,38 (d.e 99,40), y mTOR 170,00 (d.e 66,43). El resto de proteínas se distribuyeron en el siguiente orden: p4EBP1 154,71 (d.e 104,01), pMAPK 100,88 (d.e 72,07), pmTOR 27,94 (d.e 17,77) y PTEN 16,25 (d.e 30,96).

La presencia de p53, Ki67 y p16, cuantificada por el porcentaje total de expresión, tenía una media de 33,88 (d.e 36,92), 63,53 (d.e 25,48) y 7,35 (d.e 15,92), respectivamente (**Tabla 5**).

Como ocurría en el global de los pacientes, la presencia de p4EBP1 y pmTOR era menor en comparación con sus formas no fosforiladas para todas las variables estudiadas (**Tablas 6.2 y 6.3**). En cuanto a la distribución por sexo y hábito tabáquico, entre las mujeres y los pacientes no fumadores se observó una menor presencia de todas las proteínas salvo p4EBP1 y pmTOR. La presencia de p16 fue mayor en las neoplasias de localización laríngea y orofaríngea ( $16,67 \pm 15,28$  y  $10,00 \pm 24,49$  respectivamente), entre los no bebedores ( $8,75 \pm 14,36$  vs.  $6,92 \pm 16,90$ ) y fumadores ( $10,00 \pm 21,21$  vs.  $2,50 \pm 3,54$ ) y los pacientes que no recidivaron ( $13,13 \pm 21,37$  vs.  $2,22 \pm 6,67$ ), (**Tablas 6.8**).

Al igual que ocurría en el análisis global de los 50 pacientes, el índice de tinción de pmTOR resultaba estadísticamente significativo ( $p= 0,0160$ ) cuando se relacionaba con la localización, de tal manera que los tumores de laringe ( $40,00 \pm 17,32$ ) tenían una mayor presencia de la proteína frente a los del res-

to de localizaciones, siendo los orofaríngeos ( $10,83 \pm 8,01$ ) los que tenían menor presencia. Además, se observó una relación estadísticamente significativa con el tabaquismo ( $p= 0,0266$ ) encontrándose entre los pacientes no fumadores una mayor presencia de pmTOR ( $50,00 \pm 14,14$ ), seguidos de los exfumadores ( $35,00 \pm 13,78$ ) y los fumadores en activo ( $18,33 \pm 15,00$ ), (**Tabla 6.3a**).

Otra asociación con la localización se dio para la proteína pMAPK, siendo las muestras de laringe y orofaringe las de mayor y menor presencia de pMAPK, respectivamente ( $203,33 \pm 70,24$  vs.  $49,17 \pm 52,95$ ,  $p= 0,0466$ ), (**Tabla 6.4a**).

En este grupo de tratamiento con radioterapia y cetuximab, se observó una relación estadísticamente significativa entre la recidiva y las proteínas pmTOR ( $p= 0,0191$ ) de tal manera que los pacientes con una mayor presencia de la misma no presentaron recidiva ( $37,50 \pm 12,82$  vs.  $19,44 \pm 17,76$ ), y Ki67, ( $p= 0,0043$ ), con un menor índice de tinción en aquellos pacientes sin recidiva de la enfermedad ( $43,75 \pm 22,00$  vs.  $81,11 \pm 11,67$ ), (**Tabla 6.3b y 6.7b**).

Objetivamos una correlación positiva de la supervivencia libre de progresión con la tinción inmunohistoquímica de pmTOR (coeficiente de correlación de Pearson=  $0,8656$ ,  $p= 0,0026$ ) y pMAPK (coeficiente de correlación de Pearson=  $0,7994$ ,  $p= 0,0097$ ), de tal manera que cuanto mayor era la presencia de estas proteínas mejor fue la supervivencia (**Tabla 6.3b y 6.4b; Figuras 10 y 11**).

Encontramos una correlación positiva fuerte ( $>0.40$ ), no estadísticamente significativa, entre la supervivencia libre de progresión y las tinciones inmunohistoquímicas de mTOR (coeficiente de correlación de Pearson=  $0,4695$ ,  $p= 0,2023$ ) y p4EBP1 (coeficiente de correlación de Pearson=  $0,4687$ ,  $p= 0,2032$ ), de manera que cuanto mayor era la presencia de dichas proteínas mayor fue la supervivencia (**Tabla 6.3b y 6.2b**). Una tercera variable en la que la correlación resultó inversa fue PTEN, con una mayor presencia de la proteí-

na asociada a una menor supervivencia libre de progresión (-0,4118,  $p=0,3108$ ), aunque no estadísticamente significativa (**Tabla 6.5b**).

También se objetivó que en los pacientes con una mayor presencia de p16 se daba una mejor supervivencia (supervivencia libre de progresión y global,  $p=0,0008$  y  $p<0,0001$ , respectivamente). Esta presencia de la proteína era menor en los que tenían recidiva tumoral cuando se comparaban con los que no recidivaban ( $2,22 \pm 6,67$  vs.  $13,13 \pm 21,37$ ;  $p=0,0480$ ), (**Tabla 6.8b**). En nuestro estudio, esta proteína no se asoció a la respuesta al tratamiento ( $p=0,1113$ ) pero los pacientes con presencia de p16 presentaron más respuestas completas (83,33% p16+ vs. 40% p16-), (**Tabla 11**).

#### **Análisis descriptivo y relación con variables inmunohistoquímicas de los pacientes con enfermedad recidivada/metastática tratada con cetuximab). Tablas 7.**

Los pacientes de este grupo tratados de una recidiva en algún momento de la evolución de su enfermedad con cetuximab en combinación con quimioterapia, eran varones en un 88,24% y mujeres en el 11,76% de los casos (**Tabla 10**).

De entre las 2 mujeres con enfermedad tumoral, el 50% consumía alcohol y tabaco de manera habitual y el otro 50% negaba cualquier hábito tóxico. De los hombres, el 33.33% no eran bebedores y respecto al hábito tabáquico, todos habían sido fumadores, pero el 53.33% lo había dejado al menos un año antes del diagnóstico. La edad media era de 56.47 años (d.e 11,74).

La localización de la enfermedad neoplásica era la siguiente:

- Laringe, (41,18%).
- Cavidad oral, (35,29%).
- Hipofaringe, (11,76%).

- Orofaringe, (5,88%).
- Adenopatías cervicales sin primario filiado, (5,88%).

El estadio al inicio de la enfermedad se correspondía con 3 pacientes en EI y EII (11,76 y 5,88% respectivamente), 4 pacientes en EIII (23,53%) y 10 pacientes en EIV (IVA 52,94% y IVC 5,88%).

Al diagnóstico de la enfermedad 12 pacientes fueron intervenidos precisando 8 de ellos tratamiento adyuvante posterior con quimioterapia y radioterapia concomitante en relación a la presencia de factores de riesgo (más de un ganglio afecto y/o afectación extracapsular o borde quirúrgico afecto). Hubo 3 pacientes tratados con quimioterapia y radioterapia simultánea con intención radical (1 laringe y 2 cavidad oral). Sólo 1 paciente realizó quimioterapia con intención neoadyuvante seguido de quimioterapia y radioterapia y cirugía posterior. Otro paciente recibió únicamente quimioterapia con intención paliativa al ser metastático desde el diagnóstico.

La respuesta al primer tratamiento para la enfermedad al diagnóstico fue también variable dado que el grupo incluía pacientes con diferentes localizaciones, estadios y tratamientos:

- 2 de los 3 pacientes tratados con quimioterapia y radioterapia radical presentaron respuesta parcial; el tercero presentó respuesta completa.
- En el paciente tratado con quimioterapia neoadyuvante seguido de quimioterapia y radioterapia, se objetivó respuesta parcial siendo intervenido con posterioridad.
- El resto de pacientes fueron quirúrgicos inicialmente y, en todos ellos, las pruebas de imagen y exploración física tras la cirugía, determinaron ausencia de enfermedad.

Todos los pacientes de este grupo presentaron recidiva de su enfermedad de base con una mediana de seguimiento de 393 días (rango intercuartil entre 182 y 452):

- 3 recidivas locales.
- 2 recidivas loco-regionales.
- 4 recidivas únicamente regionales.
- 2 loco-regionales y con enfermedad a distancia.
- 3 sólo a distancia.
- y 3 con recidiva local y a distancia.

Las localizaciones de la enfermedad a distancia fueron fundamentalmente a expensas del pulmón y adenopatías. En un caso, las lesiones pulmonares se acompañaron de enfermedad ósea y en otro de enfermedad hepática.

En cuanto a los datos de eficacia del tratamiento citotóxico recibido en la enfermedad neoplásica recidivada, en 10 pacientes la primera línea se basó en quimioterapia con la combinación de cisplatino, 5-Fluoracilo y cetuximab, otros 2 pacientes recibieron otro esquema en este caso dentro de ensayo clínico (fármaco experimental AZD 2171); 4 pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente y recibieron además radioterapia +/- quimioterapia adyuvante, y otro paciente recibió únicamente radioterapia.

Los 7 pacientes que en el momento de la recidiva no fueron tratados inicialmente con cetuximab, lo recibieron en una segunda línea, en combinación con derivados del platino y 5-fluoracilo (4 pacientes) o bien con paclitaxel (3 pacientes).

Respecto a la supervivencia global de todos los pacientes, la mediana fue de 1089 días con rango intercuartil entre 741 y 1655, y la de la supervivencia libre de progresión de 393 días con rango intercuartil entre 182 y 452.

Los pacientes de este grupo que recibieron como tratamiento para la recidiva de su enfermedad cetuximab en primera línea, presentaron una mediana de supervivencia global de 768,5 días con rango intercuartil entre 624 y 1089 y de supervivencia libre de progresión de 290,5 días con rango intercuartil en-

tre 118 y 393. Para los pacientes tratados en segunda línea las medianas de supervivencia global y libre de progresión fueron 1732 y 439 días, con rangos intercuartiles entre 1246 y 2716, y 307 y 802 respectivamente (**Tabla 8**).

Los pacientes tratados con cetuximab en segunda línea presentaron mejores resultados en cuanto a supervivencia global y libre de progresión que los del tratamiento con el anti-EGFR en primera línea, siendo ambas asociaciones estadísticamente significativas ( $p= 0,0054$  y  $p= 0,0453$  respectivamente).

En relación a las proteínas analizadas, la mayor presencia fue para 4EBP1 con una media de 257,65 (d.e 48,93), p $\text{eIF4E}$  201,76 (d.e 95,28) y su forma no fosforilada  $\text{eIF4E}$  169,41 (d.e 92,50), y mTOR 152,94 (d.e 78,16). El resto se distribuyeron en el siguiente orden: p4EBP1 123,75 (d.e 85,08), pMAPK 65,59 (d.e 68,14), pmTOR 43,53 (d.e 43,72) y PTEN 41,76 (d.e 39,88).

Las tinciones de p53, Ki67 y p16 presentaban una media de 54,12 (d.e 39,22), 55,00 (d.e 27,57) y 5,88 (d.e 15,43), respectivamente (**Tabla 5**).

En este subgrupo de tratamiento se observó que las formas fosforiladas de las proteínas 4EBP1 y mTOR tenían una menor presencia respecto a las no fosforiladas para todas las variables estudiadas (**Tabla 7.2 y 7.3**). En los pacientes que recidivaron a distancia, se observó una mayor presencia de todas las proteínas salvo para p53, mTOR y pmTOR. Además, los pacientes bebedores y los hombres tuvieron mayor tinción de todas las proteínas salvo pmTOR y p16, respectivamente. En cuanto a esta última, también se observó una mayor presencia entre los estadios III avanzados ( $15,00 \pm 30,00$ ), la localización oral ( $13,33 \pm 24,22$ ) y los fumadores ( $12,50 \pm 21,21$ ).

Sólo la presencia de mTOR resultó estadísticamente significativa ( $p= 0,0450$ ) cuando se relacionaba con el estadio tumoral, de tal manera que entre los tumores metastáticos (IVC) (260,00) se observaba una mayor presencia de la proteína frente al resto: los tumores localizados EI ( $240 \pm 84,85$ ) y EII

(200,00), y los localmente avanzados EIII (185,00  $\pm$ 52,60) y EIVA (102,22  $\pm$ 57,18), (**Tabla 7.3b**).

No se observó ninguna otra asociación entre las proteínas estudiadas en este grupo, incluida p16 y la supervivencia global o libre de progresión o respuesta a la quimioterapia. Con respecto a la recidiva, la menor presencia de 4EBP1 se relacionó con la recidiva regional de manera estadísticamente significativa ( $p= 0,0080$ ), (**Tabla 7.2b**).

La respuesta al tratamiento con cetuximab en la enfermedad recidivada y su administración por primera vez o tras un tratamiento previo que no incluyera a este agente anti-EGFR, no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p= 0,9223$ ). En primera línea no hubo ninguna respuesta completa frente a 1 en segunda línea. Observamos 6 respuestas parciales vs. 4, 1 estabilización de la enfermedad en ambas situaciones y 2 progresiones tumorales vs. 1 durante el tratamiento en primera y en segunda línea de administración del cetuximab, respectivamente. Un paciente no pudo ser evaluado por fallecimiento. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las proteínas analizadas, (**Tabla 8**).

#### **Análisis descriptivo y relación con variables inmunohistoquímicas de los pacientes tratados con radioterapia y cisplatino. Tablas 9.**

Para los pacientes que recibieron radioterapia en concomitancia con cisplatino como tratamiento primario de la enfermedad neoplásica de base, la distribución respecto al sexo fue de 78,95% de varones y 21,05% de mujeres.

Nuevamente todos los hombres habían sido fumadores en algún momento, aunque un 46,66% lo había dejado al menos un año antes del diagnóstico. En cuanto al hábito enólico, un 26,66% no era consumidor habitual. Respecto a las mujeres, un 50% negaba hábitos tóxicos, un 25% había abandonado el tabaquismo un año antes del diagnóstico pero consumía alcohol de manera ha-

bitual y el otro 25% mantenía el tabaquismo y la ingesta de alcohol sin cambios.

La media de edad de los pacientes fue de 57,68 años con una desviación estándar de 10,45 años.

La distribución según la localización de la enfermedad fue la siguiente:

- Cavity oral, (36,84%).
- Orofaringe, (36,84%).
- Hipofaringe, (10,53%).
- Laringe, (10,53%).
- Adenopatías cervicales sin primario filiado, (5,26%).

En lo referente al estadio, sólo 1 paciente (5,26%) presentaba enfermedad localizada (EI) al diagnóstico. El resto mayoritariamente era estadio IVA (13 pacientes, 68,42%), mientras que 3 pacientes (15,79%) eran estadio IVB y 2 (10,53%) estadio III.

Al evaluar la tasa de respuesta inicial al tratamiento recibido con radioterapia y cisplatino concomitante:

- 10 (52,63%) pacientes presentaron respuesta completa.
- 8 (42,11%) pacientes respuesta parcial.
- 1 (5,26%) paciente estabilización de la enfermedad.
- Ninguno de los pacientes progresó durante la administración del tratamiento radical.

La tasa de recidiva fue del 57,89%, fundamentalmente a nivel loco-regional. Sólo el 27,27% de los pacientes desarrollaron enfermedad a distancia afectando en todos los casos al pulmón y al hueso.

Las medianas de supervivencia global y de la supervivencia libre de progresión fueron de 715 y 292 días, con rangos intercuartiles entre 399 y 799, y 109 y 584 respectivamente.

En relación a la presencia de las proteínas las más destacadas fueron pEIF4E con una media de 252,11 (d.e 57,11), 4EBP1 237,89 (d.e 57,89), EIF4E 193,68 (d.e 85,13) y mTOR 174,21 (d.e 66,86). El resto de proteínas se distribuyeron en el siguiente orden: pMAPK 115,79 (d.e 85,13), pmTOR 66,32 (d.e 50,79), p4EBP1 37,37 (d.e 40,80) y PTEN 24,21 (d.e 23,17).

La tinción de p53, Ki67 y p16 presentaba una media de 36,26 (d.e 40,72), 62,63 (d.e 28,64) y 25,26 (d.e 41,42), respectivamente (**Tabla 5**).

Aunque no significativamente, destacar que los hombres tenían una mayor presencia para todas las proteínas estudiadas salvo pEIF4E y p16, al igual que ocurría en la recidiva a distancia, en comparación con las otras localizaciones, excepto para pmTOR y p53. Además, en este grupo de tratamiento con radioterapia y cisplatino, al igual que en el resto, se objetivó que las proteínas p4EBP1 y pmTOR tenían una menor presencia respecto a sus formas no fosforiladas para todas las variables estudiadas (**Tablas 9.2 y 9.3**). La p16 tenía mayor presencia en las muestras de orofaringe ( $54,29 \pm 50,94$ ), entre los no consumidores de alcohol ( $31,67 \pm 50,94$  vs.  $22,31 \pm 39,19$ ) o tabaco ( $45,00 \pm 63,64$  vs.  $23,33 \pm 41,23$ ) y entre los que no recidivaron ( $46,25 \pm 49,84$  vs.  $10,00 \pm 27,20$ ), aunque sin significación estadística (**Tablas 9.8a y 9.8b**).

Encontramos una asociación inversa, estadísticamente significativa, de la edad con la proteína p4EBP1 ( $-0,4841$ ,  $p= 0,0357$ ), de tal forma que los pacientes de más edad tenían una menor presencia de esta proteína, (**Tabla 9.2a**).

Observamos una relación, estadísticamente significativa, aunque no por localizaciones, entre la presencia de recidiva de la enfermedad y la tinción inmunohistoquímica de p4EBP1 ( $p= 0,0230$ ) así como de pmTOR ( $p= 0,0219$ ),

siendo las de mayor presencia las muestras correspondientes a pacientes recidivados en ambos casos ( $55,45 \pm 43,67$  vs.  $12,50 \pm 18,32$  y  $90,00 \pm 48,58$  vs.  $33,75 \pm 34,20$ ), respectivamente (**Tabla 9.2b y 9.3b; Figuras 12 y 13**). El resto de variables no presentó ninguna otra asociación significativa.

Se objetivó una asociación inversa y estadísticamente significativa ( $p= 0,0468$ ) entre la supervivencia libre de progresión y la proteína eIF4E (C. Pearson – 0,6088) de tal manera que los pacientes con mejor supervivencia tenían una menor presencia de la proteína (**Tabla 9.1b y Figura 14**).

Comprobamos una fuerte correlación negativa, pero no estadísticamente significativa, entre la supervivencia global y la tinción de mTOR ( $-0,4158$ ,  $p= 0,0766$ ), y así los pacientes con mayor presencia de la proteína fueron los que menor supervivencia tenían (**Tabla 9.3b**).

Un hecho similar ocurrió con la supervivencia libre de progresión y las proteínas pmTOR ( $-0,4718$ ,  $p= 0,1429$ ), PTEN ( $-0,3994$ ,  $p= 0,2237$ ) y p53 ( $-0,4522$ ,  $p= 0,1625$ ) (**Tabla 9.3b, 9.5b, 9.6b**).

No observamos relación entre la proteína p16 con la supervivencia (supervivencia libre de progresión  $p= 0,7528$  y global  $p= 0,5430$ ), la recidiva tumoral ( $p= 0,1089$ ) o respuesta al tratamiento citotóxico ( $p= 0,1381$ ) (**Tablas 9.8**).

#### **Asociación entre p16 y respuesta al tratamiento en los pacientes tratados con Radioterapia y Cetuximab vs. Radioterapia y Cisplatino. Tablas 11 y 12.**

Entre los pacientes que recibieron radioterapia concomitante con cetuximab como tratamiento primario de su enfermedad neoplásica, la respuesta completa de los pacientes con tinción p16 positiva fue del 83,33% con un 16,67% de enfermedad estable. En lo que respecta a los que no teñían para p16, el 60% presentó respuesta parcial y el 40% respuesta completa ( $p= 0,0338$ ), (**Tabla 11**).

De los pacientes tratados inicialmente con radioterapia y cisplatino, aquellos con tinción positiva para p16, presentaron respuesta completa en el 83,33% frente al 38,46% de los pacientes sin tinción para p16 ( $p= 0,2028$ ); respuesta parcial en el 16,67% y 53,85%, respectivamente, y enfermedad estable en 7,69% de los casos con p16 negativa, (**Tabla 12**).

Se puede destacar la tasa de respuesta completa más elevada, un 83,33%, para los pacientes con tinción p16 positiva con ambos tratamientos quimioterápicos. En el global de pacientes, p16 positivos y negativos, el beneficio clínico en el grupo de radioterapia y cetuximab supuso un 56,25% de respuestas completas, 37,50% de respuestas parciales y 6,25% de enfermedad estable. En el grupo de radioterapia y cisplatino fueron de 52,63%, 42,11% y 5,26%, respectivamente (**Figura 15**).

#### **Análisis de recidiva entre los grupos de tratamiento de radioterapia-cetuximab y radioterapia-cisplatino (Tabla 13).**

En el análisis univariable de recidiva del grupo tratado con radioterapia y cetuximab y el grupo de tratamiento con radioterapia y cisplatino, no observamos diferencias para la recurrencia de la enfermedad ( $p= 0,3817$ ).

En cuanto a los que obtienen una respuesta parcial o enfermedad estable de la enfermedad tras el tratamiento, el riesgo de recidiva fue 5 ( $p=0,0047$ ) y 39 ( $p=0,0039$ ) veces mayor que los del grupo de respuesta completa, respectivamente.

Para la proteína pmTOR, se objetivó que por cada unidad de aumento de la tinción de la proteína, el riesgo de recaída de la enfermedad aumentaba en un 1,1% ( $p= 0,0440$ ) y para p16 disminuía en un 3% ( $p= 0,0346$ ). El resto de los datos relacionados con las características clínicas como los hábitos tóxicos, localización o estadio, no mostraron diferencias reseñables.

### **Análisis de mortalidad**

En el análisis univariable de mortalidad resultaron factores predictores de mortalidad el **grupo**, de tal manera que los miembros del grupo de tratamiento de radioterapia y cetuximab tenían 2,36 veces más riesgo de fallecer que los del grupo de pacientes con recidiva de la enfermedad y tratados en algún momento de su evolución con cetuximab ( $p= 0,0309$ ); y la **proteína p16**, que por cada unidad de aumento del índice de tinción, disminuía el riesgo de muerte 2,1%, (**Tabla 14**).

No se encontraron diferencias entre el sexo, la localización, los hábitos tóxicos, el estadio o la respuesta al tratamiento.

En el análisis multivariable se observaron los mismos dos factores predictores de mortalidad durante el seguimiento, (**Tabla 15**):

- El **grupo** de tratamiento con radioterapia y cetuximab presentaba 3,36 veces más riesgo de fallecer que el grupo de pacientes con recidiva de la enfermedad y tratados con el anticuerpo anti-EGFR ( $p= 0,0041$ ) y, aproximadamente, 2 veces más que el grupo de radioterapia y cisplatino aunque este resultado no fue estadísticamente significativo. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre el los grupos de tratamiento de radioterapia en combinación con cetuximab o cisplatino ( $p=0,2117$ ).
- La presencia de **p16** determinaba que por cada unidad de aumento de tinción disminuía un 3% el riesgo de fallecimiento.

La capacidad predictora del modelo se midió por el C index con un resultado de 0,732 con un intervalo de confianza del 95% entre 0,630 y 0,834.

En el análisis de supervivencia con curvas de Kaplan-Meier (**Figura 16**) se observó que el grupo que tuvo menor supervivencia durante el seguimiento fue el del tratamiento con radioterapia y cetuximab (supervivencia a 1 año 0,647, IC 95% 0,377-0,823;  $p= 0,0688$  y supervivencia a 2 años 0,235, IC 95% 0,073-

---

0,449), (**Tabla 16**). Sin embargo, no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo de pacientes tratados con radioterapia y cisplatino ( $p= 0,1075$ ). El grupo de pacientes tratados en algún momento durante la evolución de su enfermedad con cetuximab, mostraba al final del seguimiento completo, la probabilidad de supervivencia más baja de los tres (0,126, IC 95% 0,010 - 0,393).

## **5. DISCUSION.**

El cáncer de cabeza y cuello representa el 6% de todos los casos de cáncer en el mundo, con unos 650.000 nuevos diagnósticos y 350.000 fallecimientos anuales. En España se calculan unos 12.000 casos nuevos al año con casi la mitad de defunciones anuales por dicha causa<sup>382</sup>. Los varones, al igual que ocurre en nuestro estudio con una representación del 86%, tienen epidemiológicamente una mayor incidencia global de estos tumores en probable relación a su mayor consumo de tabaco y alcohol. Ambos están implicados en su patogénesis en el 80% de los casos, y con un efecto sinérgico entre ellos<sup>9</sup>. Incluso se ha considerado que puedan condicionar la eficacia del tratamiento y una peor evolución<sup>383</sup>. Sin embargo, entre nuestros pacientes no se objetivan diferencias en este sentido entre los consumidores habituales y aquellos sin dichos hábitos. Paradójicamente, son los fumadores los que obtienen mejores resultados de supervivencia global y libre de progresión aunque sin significación estadística ( $p= 0,1644$  y  $p= 0,0854$  respectivamente) en contra de lo habitual en estas neoplasias. Probablemente, esto se deba a la pequeña muestra y la escasa representación de pacientes no consumidores de tabaco (10%) y alcohol (29%).

Estos tóxicos, favorecen además el desarrollo de alteraciones moleculares en las mucosas y en consecuencia la aparición de segundos tumores en el tracto aéreo-digestivo con una incidencia de hasta un 5% anualmente<sup>84</sup>. En nuestro estudio, el 12% de los pacientes (6/50) presentó un segundo tumor y los órganos afectados fueron pulmón (1 paciente), laringe (1 paciente), orofaringe (2 pacientes) y esófago (2 pacientes). Esto coincide con los datos publicados en la literatura sobre la localización de los segundos tumores (pulmón, cavidad oral y faringelaringe)<sup>117</sup>. Resaltar que 3 pacientes presentaron además carcinoma de vejiga, en probable relación al hábito tabáquico también relacionado con el desarrollo de estas neoplasias.<sup>384</sup>

Los pacientes de nuestro estudio presentaron al diagnóstico neoplasias localizadas, en estadio I y II, en un 8%, en estadio III un 22%, IVA 62%, IVB 6% y IVC 2%. Este menor porcentaje de enfermedad localizada al diagnóstico (estadios I y II) y metastática a distancia (estadio IVC) difiere con el escenario real (en torno al

30 y 10%, respectivamente) y que, probablemente, tenga relación con la selección de los pacientes para el estudio. Sin embargo, en lo que se refiere a la evolución de la enfermedad, el porcentaje de recidiva (> 50%) y patrón de diseminación (pulmón, adenopatías, hueso e hígado), se corresponde con la historia habitual del cáncer de cabeza y cuello.<sup>84</sup>

El factor pronóstico tradicional más relevante ha sido el estadio del tumor recogido en las guías TNM y que sigue estando vigente como predictor de resultados en las neoplasias, aunque su precisión sea limitada para determinar el pronóstico individual de cada paciente. Surge así el interés por nuevos marcadores y, en los últimos años, han sido varios los factores histo-biológicos estudiados en el carcinoma de cabeza y cuello, aunque sólo han cobrado una especial relevancia el EGFR y la infección por el VPH. De hecho, a finales de 2016 se ha publicado la 8ª edición del TNM que contempla aspectos no recogidos en la previa, que fue la utilizada en nuestro estudio, como la influencia del virus en las neoplasias de orofaringe lo que condiciona una clasificación diferente y pronóstica más precisa. Además de este importante cambio, se destaca la presencia de la afectación extracapsular de las adenopatías tumorales o la profundidad en la invasión de los tumores de la cavidad oral independientemente de su tamaño y que les confiere también un valor pronóstico<sup>385</sup>. El estudio y combinación de todos estos factores, refleja el interés y esfuerzo para conseguir la mayor y mejor información sobre la evolución de la enfermedad y sus posibles implicaciones terapéuticas.

En cuanto al EGFR y los efectores relacionados con esta vía de señalización en el análisis por subgrupos, objetivamos que entre los pacientes tratados con radioterapia en combinación con cetuximab, cuanto mayor es la presencia de proteína pmTOR mayor es la supervivencia libre de progresión para el paciente (0,8656,  $p=0,0026$ ). Sin embargo, en el grupo de tratamiento del tumor primario con radioterapia y cisplatino concomitante, la correlación fue inversa; a menor presencia de pmTOR, mayor supervivencia libre de progresión (-0,4718,  $p=0,1429$ ). La misma asociación se observaba para la supervivencia global y la proteína mTOR, pero al igual que la previa, sin significación estadística (-0,4158,  $p=$

0,0766); y entre la supervivencia libre de progresión y la proteína efectora de mTOR, eIF4E (C. Pearson -0,6088) con significación estadística ( $p= 0,0468$ ), de tal manera que una menor presencia de la proteína se correspondió con una mayor supervivencia libre de progresión. Así mismo, se objetivó una relación estadísticamente significativa (aunque no por localizaciones), entre una mayor presencia de p4EBP1 ( $p= 0,0230$ ) así como de pmTOR ( $p= 0,0219$ ) y la recidiva de la enfermedad. En el grupo de tratamiento con radioterapia y cetuximab, la asociación de la recidiva era similar a la de la supervivencia, es decir, aquellos pacientes con mayor presencia de pmTOR no recayeron de la enfermedad ( $p= 0,0191$ ).

Ha sido descrita la fuerte asociación entre la actividad elevada del eIF4E con la expresión aumentada de proteínas implicadas en la transducción de señales de la vía mTOR (p-4EBP, S6, p-mTOR) así como de los niveles de expresión de AKT, lo que sugiere la activación de la vía AKT/mTOR. Además, el aumento de la síntesis de proteínas resulta necesario en las células malignizadas para mantener su rápida proliferación, de ahí que la detección de proteínas implicadas en este proceso como 4EBP, eIF4E o mTOR nos pueda informar sobre la transformación celular. En el carcinoma de cabeza y cuello es frecuente la elevación de eIF4E, incluso en algunas series hasta en el 100% de los casos<sup>386</sup>, mientras que es baja en tejidos sanos<sup>387</sup>. Diferentes estudios<sup>293,295</sup> han demostrado la asociación entre la presencia aumentada de eIF4E y el riesgo de recidiva como un factor independiente. Por lo tanto, la menor presencia por inmunohistoquímica de las proteínas mTOR, 4EBP, eIF4E o de sus formas fosforiladas anteriormente indicadas en nuestro análisis, podría relacionarse con una menor activación de la vía y por lo tanto coincidir con estos estudios en cuanto a mejores resultados de supervivencia y ausencia de recidivas, apoyando su valor pronóstico. De hecho, en el análisis univariable de recidiva de todos los pacientes, para la proteína pmTOR se objetivó que por cada unidad de aumento de la tinción el riesgo de recaída de la enfermedad aumentaba en un 1,1% ( $p= 0,0440$ ), lo que podría reforzar la hipótesis de su valor pronóstico si la muestra de pacientes hubiese sido mayor y más homogénea.

En nuestro estudio también observamos que en el grupo de pacientes tratados con radioterapia y cetuximab, cuanto mayor era la presencia de pMAPK, mayor era la supervivencia libre de progresión de manera estadísticamente significativa (C. Pearson 0,7994,  $p=0,0097$ ). Sin embargo esta asociación fue inversa en el grupo de tratamiento de radioterapia y cisplatino, aunque sin significación estadística (C. Pearson -0,2818,  $p=0,4011$ ). En el global de los pacientes, la menor presencia de pMAPK se asoció con la recidiva de la enfermedad ( $p=0,0379$ ). Estos datos contradictorios, ponen de manifiesto la controversia existente también en la literatura publicada al respecto y que impide que se considere a MAPK como un factor pronóstico establecido.<sup>388</sup>

Otra alteración molecular detectada hasta en el 30% de los casos de carcinoma de cabeza y cuello es la pérdida de expresión de PTEN aunque con conclusiones dispares en cuanto a su valor pronóstico<sup>340</sup> y su capacidad predictiva de respuesta al cetuximab<sup>325,329,334</sup>. En nuestro estudio, tanto en el grupo de tratamiento de radioterapia en combinación con cetuximab como con cisplatino, se observó que la mayor presencia de la proteína PTEN se asociaba a una menor supervivencia libre de progresión, aunque sin significación estadística ( $-0,4118$ ,  $p=0,3108$  y  $-0,3994$ ,  $p=0,2237$  respectivamente). Estos datos no apoyarían la hipótesis de que los niveles bajos de PTEN, proteína que bloquea a AKT, implicada a su vez en la proliferación celular, podrían favorecer el desarrollo de la neoplasia y por lo tanto conferirle un peor pronóstico. Sin embargo, la diversidad de expresión de PTEN en los tejidos normales y neoplásicos, así como las variaciones de concentración de esta proteína según el fenotipo del tumor o los diferentes métodos inmunohistoquímicos empleados, dificultan extraer conclusiones definitivas al respecto.<sup>335</sup>

Aunque la literatura no sea concluyente en cuanto al valor pronóstico de la expresión aberrante de p53 y Ki67, la mayoría de los datos coinciden en relacionarlas con el aumento de la proliferación celular característica de las neoplasias<sup>375</sup>. En nuestro estudio observamos una asociación en el grupo tratado con radioterapia y cetuximab con la recidiva y la mayor presencia de Ki67

( $p= 0,0043$ ) y en el grupo de radioterapia y cisplatino con la peor supervivencia libre de progresión asociada a una mayor presencia de p53 ( $-0,4522$ ,  $p= 0,1625$ ), datos que sugieren su posible relación con una peor evolución de la enfermedad. Sin embargo, al igual que ocurría con la proteína PTEN, la selección y el número de pacientes incluidos así como el carácter retrospectivo del análisis, limitan las conclusiones sobre su potencial como biomarcadores.

En relación a los pacientes de nuestro estudio que no habían recibido un tratamiento homogéneo al diagnóstico del tumor primario pero tenían en común la administración de cetuximab en algún momento de la recidiva de la enfermedad, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las variables analizadas y las proteínas estudiadas. Al comparar los resultados entre los pacientes que recibieron cetuximab como primera línea para el tratamiento de enfermedad recurrente irresecable o metastática, frente a aquellos pacientes que lo hicieron tras otra opción inicial de tratamiento, tanto la supervivencia global ( $p= 0,0054$ ) como la supervivencia libre de progresión ( $p= 0,0453$ ) fueron mejores en este segundo grupo. Resulta evidente que la supervivencia mejoró cuando se sucedieron varias líneas de tratamiento. En relación a la respuesta al cetuximab en combinación con quimioterapia como primera o segunda línea, no se observaron diferencias ( $p= 0,9223$ ). Esta ausencia de resultados significativos probablemente esté en relación al limitado tamaño de la muestra disponible, así como de la heterogeneidad de las características clínicas de los pacientes incluidos y los diferentes tratamientos recibidos. Así mismo, el no disponer de una biopsia a la progresión de la enfermedad, dificulta profundizar en la determinación de posibles cambios inmunohistoquímicos y su implicación en los resultados clínicos que permitan conocer mejor la evolución de la neoplasia.

La prevalencia de carcinomas escamosos VPH positivos para todas las localizaciones del área otorrinolaringológica es aproximadamente del 28%<sup>389</sup>, aunque los orofaríngeos oscilan entre el 12 y 63%. En nuestro estudio, el porcentaje de pacientes con tinción inmunohistoquímica positiva para p16 fue del 30%.

Al analizar el tipo de respuesta entre los grupos de radioterapia y cetuximab y radioterapia y cisplatino, comprobamos que fue prácticamente igual para ambos grupos, con una asociación entre la presencia de p16 y el mayor índice de respuestas completas que alcanzó el 83,33%. Estos datos coincidirían con los sugeridos por otros estudios en cuanto a que los tumores p16 positivos, por sus características moleculares, pueden mostrar una mejor respuesta a la radioterapia por la ausencia de mutaciones de p53 y pRb, y en general, un mejor pronóstico<sup>390</sup> concordando con los datos pronósticos favorables obtenidos en múltiples estudios en las neoplasias de cabeza y cuello consideradas VPH positivas.<sup>391</sup>

En el grupo de tratamiento con radioterapia y el agente anti-EGFR, con un porcentaje de pacientes con tinción inmunohistoquímica positiva para p16 del 37,50%, se objetivó que la presencia de p16 se asociaba a un beneficio en la supervivencia con una menor tasa de recaída de manera estadísticamente significativa. Sin embargo, en el grupo que combinaba la radioterapia con el cisplatino, con un 31,25% de positividad para p16, no se observó dicha relación.

En el análisis univariable de recidiva de nuestro estudio, entre el grupo de pacientes tratados con radioterapia y cetuximab y los tratados con radioterapia y cisplatino, no observamos diferencias para la recurrencia de la enfermedad ( $p=0,3817$ ) así como tampoco en el análisis univariable ( $p=0,1527$ ) y multivariable ( $p=0,2117$ ) de mortalidad. Tampoco se encontraron diferencias entre el sexo, la localización, los hábitos tóxicos, el estadio o la respuesta al tratamiento en relación a estos resultados. Destacar que ninguna de estas variables, alguna de ellas considerada factor pronóstico como el estadio, la localización<sup>84</sup> o el tabaquismo asociado en otros estudios a un peor pronóstico<sup>392</sup>, resulten significativos. Probablemente como hemos mencionado con anterioridad tenga relación con el pequeño tamaño y la heterogeneidad de la muestra. Sin embargo, tanto en el análisis univariable de recidiva como en el análisis de mortalidad se observó que la proteína 16 resultaba un factor predictor ( $p=0,0440$  y  $p=0,0346$  respectivamente), apoyando su valor pronóstico.

En cuanto a la respuesta al cisplatino o a los anticuerpos anti-EGFR en función del estado del VPH, los datos de la literatura tampoco son concluyentes<sup>102,104,109,277</sup>. El VPH parece tener relación con el desarrollo del tumor al favorecer la expresión del EGFR en la membrana celular. Este planteamiento apoyaría una posible mayor susceptibilidad de los carcinomas de cabeza y cuello VPH positivos al tratamiento con cetuximab. Por otro lado, no se conoce por completo el impacto del bloqueo del virus sobre las proteínas p53 y pRb, que a su vez influyen en la generación del fenotipo neoplásico así como en la respuesta terapéutica, aunque su influencia sobre los anti-EGFR permanece desconocida<sup>277</sup>. Nuestro estudio coincide en la ausencia de diferencias destacables entre ambos agentes, si bien es verdad que los datos de beneficio clínico parecen corresponder a los pacientes tratados con la combinación de radioterapia y cetuximab en presencia de p16, sin poder determinar las causas de estos hallazgos, al menos con los datos disponibles de las proteínas efectoras analizadas de la vía del EGFR.

A pesar de que el cetuximab en la última década ha conseguido posicionarse favorablemente en la terapéutica de las neoplasias de cabeza y cuello, existe un porcentaje importante de pacientes que no responde a este tratamiento. Esto pone de manifiesto la necesidad de biomarcadores predictivos que seleccionen a los pacientes que puedan responder a este agente, así como otros aspectos que influyan en su actividad, como los mecanismos inmunológicos<sup>393-395</sup> o las resistencias primarias o adquiridas.<sup>119</sup>

Sólo el 50% de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello conseguirán la curación con los actuales tratamientos disponibles por lo que se hacen necesarias nuevas estrategias para combatir la enfermedad más eficazmente y con un mejor perfil de toxicidad. Para rentabilizar al máximo los esfuerzos llevados a cabo, será necesario continuar con la caracterización de los tumores a nivel molecular para profundizar en la heterogeneidad del cáncer así como en la variabilidad interpersonal. Igualmente importante seguirá siendo no desatender a los factores ambientales y epigenéticos.

Resulta imprescindible continuar apoyando los esfuerzos realizados en este campo para obtener unos resultados más esperanzadores que nos permitan llegar a la curación de esta patología a medio largo plazo.

## **6. CONCLUSIONES**

---

En nuestro estudio podemos concluir:

1. No se han encontrado diferencias a nivel molecular en relación con los datos de eficacia entre los pacientes con neoplasias localmente avanzadas de cabeza y cuello tratados con radioterapia en combinación con cetuximab o radioterapia y cisplatino.
2. El tratamiento del carcinoma escamoso de cabeza y cuello localmente avanzado con radioterapia en combinación con el anticuerpo anti-EGFR vs. radioterapia y cisplatino no ha mostrado diferencias en los resultados clínicos.
3. La presencia de las proteínas efectoras de la vía del EGFR, mTOR, eIF4E, p4EBP1 y pMAPK muestra datos discordantes de eficacia en los dos grupos de tratamiento de radioterapia con cetuximab y radioterapia con cisplatino. Sólo la proteína pmTOR en el análisis univariable de recidiva se asoció con la recaída tumoral.
4. Tanto en el grupo de pacientes tratados con radioterapia en combinación con cetuximab como con radioterapia y cisplatino se relacionó la mayor presencia de PTEN con una peor supervivencia libre de progresión.
5. La mayor presencia de las proteínas Ki67 y p53 se relacionó con la recidiva y una peor supervivencia libre de progresión en los grupos de tratamiento de radioterapia concomitante con cetuximab y radioterapia con cisplatino respectivamente.
6. En nuestro estudio, la presencia de p16 ha resultado un factor predictor de recidiva y mortalidad.

## **7. BIBLIOGRAFIA**

1. **Laramore G**, Coltrera M, Hunt K. Tumores de la Cabeza y el Cuello. En: Philip Rubin MD, editor. Oncología Clínica. 8ª edición. Madrid: Editorial Saunders; 2003. Pag. 405-425.
2. **Braakhuis BJ**, Tabor MP, Kummer JA, *et al.* A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003;63:1727-30.
3. **Jin C**, Jin Y, Wennerberg J, Akervall J, *et al.* Karyotypic heterogeneity and clonal evolution in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Genet Cytogenet* 2002;132:85-96.
4. **Copper MP**, Jovanovic A, Nauta JJ, *et al.* Role of genetic factors in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121:157-60.
5. **Jin YT**, Myers J, Tsai ST, *et al.* Genetic alterations in oral squamous cell carcinoma of young adults. *Oral Oncol* 1999;35:251-6.
6. **Pomerantz RG**, Grandis JR. The epidermal growth factor receptor signaling network in head and neck carcinogenesis and implications for targeted therapy. *Semin Oncol* 2004;31:734-43.
7. **Bonner JA**, Harari PM, Giralt J, *et al.* Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2006;354:567-78.
8. **Vermorken JB**, Mesia R, Rivera F, *et al.* Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1116-27.
9. **Vineis P**, Alavanja M, Buffler P, *et al.* Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:99-106.
10. **Blot WJ**, McLaughlin JK, Winn DM, *et al.* Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988;48:3282-7.
11. **Tuyns AJ**, Esteve J, Raymond L, *et al.* Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). *Int J Cancer* 1988;41:483-91.

12. **Bonomi M**, Patsias A, Posner M, *et al.* The role of inflammation in head and neck cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014;816:107-27.
13. **Zhang ZF**, Morgenstern H, Spitz MR, *et al.* Marijuana use and increased risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:1071-8.
14. **Hashibe M**, Brennan P, Benhamou S, *et al.* Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:777-89.
15. **Reidy J**, McHugh E, Stassen LF. A review of the relationship between alcohol and oral cancer. *Surgeon* 2011;9:278-83.
16. **Balkwill F**, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539-45.
17. **Coussens LM**, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860-7.
18. **Irani S**, Esfahani AM, Ghorbani A. Dysplastic change rate in cases of oral lichen planus: A retrospective study of 112 cases in an Iranian population. *J Oral Maxillofac Pathol* 2016;20:395-9.
19. **Kreimer AR**, Clifford GM, Boyle P, *et al.* Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:467-75.
20. **Ndiaye C**, Mena M, Alemany L, *et al.* HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2014;15:1319-31.
21. **Castellsague X**, Alemany L, Quer M, *et al.* HPV Involvement in Head and Neck Cancers: Comprehensive Assessment of Biomarkers in 3680 Patients. *J Natl Cancer Inst* 2016;108:djv403.
22. **Schwartz SM**, Daling JR, Doody DR, *et al.* Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1626-36.

23. **Annertz K**, Anderson H, Biorklund A, *et al.* Incidence and survival of squamous cell carcinoma of the tongue in Scandinavia, with special reference to young adults. *Int J Cancer* 2002;101:95-9.
24. **Shiboski CH**, Schmidt BL, Jordan RC. Tongue and tonsil carcinoma: increasing trends in the U.S. population ages 20-44 years. *Cancer* 2005;103:1843-9.
25. **Licitra L**, Perrone F, Bossi P, *et al.* High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2006;24:5630-6.
26. **Gillison ML**. Human papillomavirus-associated head and neck cancer is a distinct epidemiologic, clinical, and molecular entity. *Semin Oncol* 2004;31:744-54.
27. **Worden F.P**, Hooton J, Lee J, *et al.* Association of tobacco (T) use with risk of distant metastases (DM), tumor recurrence, and death in patients (pts) with HPV-positive (+) squamous cell cancer of the oropharynx (SCCOP). *J Clin Oncol* 2009; 27:15s (suppl; abstract 6001).
28. **Liebowitz D**. Nasopharyngeal carcinoma: the Epstein-Barr virus association. *Semin Oncol* 1994;21:376-81.
29. **Shillitoe EJ**, Greenspan D, Greenspan JS, *et al.* Five-year survival of patients with oral cancer and its association with antibody to herpes simplex virus. *Cancer* 1986;58:2256-9.
30. **Langford A**, Langer R, Lobeck H, *et al.* Human immunodeficiency virus-associated squamous cell carcinomas of the head and neck presenting as oral and primary intraosseous squamous cell carcinomas. *Quintessence international* 1995;26:635-54.
31. **Farrow DC**, Vaughan TL, Berwick M, *e.* Diet and nasopharyngeal cancer in a low-risk population. *Int J Cancer* 1998;78:675-9.
32. **Trivedy CR**, Craig G, Warnakulasuriya S. The oral health consequences of chewing areca nut. *Addiction biology* 2002;7:115-25.
33. **Sale KA**, Wallace DI, Girod DA, *et al.* Radiation-induced malignancy of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:643-5.

34. **Shangina O**, Brennan P, Szeszenia-Dabrowska N, *et al.* Occupational exposure and laryngeal and hypopharyngeal cancer risk in central and eastern Europe. *American journal of epidemiology* 2006;164:367-75.
35. **Foulkes WD**, Brunet JS, Sieh W, *et al.* Familial risks of squamous cell carcinoma of the head and neck: retrospective case-control study. *BMJ* 1996;313:716-21.
36. **Trizna Z**, Schantz SP. Hereditary and environmental factors associated with risk and progression of head and neck cancer. *Otolaryngol Clin North Am* 1992;25:1089-103.
37. **Gillison ML**. Current topics in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Head Neck* 2007;29:779-92.
38. **Harris JP**, Penn I. Immunosuppression and the development of malignancies of the upper airway and related structures. *Laryngoscope* 1981;91:520-8.
39. **Do KA**, Johnson MM, Doherty DA, *et al.* Second primary tumors in patients with upper aerodigestive tract cancers: joint effects of smoking and alcohol (United States). *Cancer Causes Control* 2003;14:131-8.
40. **Choi HR**, Sturgis EM, Rosenthal DI, *et al.* Sarcomatoid carcinoma of the head and neck: molecular evidence for evolution and progression from conventional squamous cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2003;27:1216-20.
41. **Janot F**, Klijanienko J, Russo A, *et al.* Prognostic value of clinicopathological parameters in head and neck squamous cell carcinoma: a prospective analysis. *Br J Cancer* 1996;73:531-8.
42. **Diwakar N**, Sperandio M, Sherriff M, *et al.* Heterogeneity, histological features and DNA ploidy in oral carcinoma by image-based analysis. *Oral Oncol* 2005;41:416-22.
43. **Wang X**, Fan M, Chen X, *et al.* Intratumor genomic heterogeneity correlates with histological grade of advanced oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2006;42:740-4.
44. **Califano J**, van der Riet P, Westra W, *et al.* Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 1996;56:2488-92.

45. **Perez-Ordóñez B**, Beauchemin M, Jordan RC. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pathol* 2006;59:445-53.
46. **Ha PK**, Califano JA. Promoter methylation and inactivation of tumour-suppressor genes in oral squamous-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2006;7:77-82.
47. **Mao L**, Lee JS, Fan YH, *et al.* Frequent microsatellite alterations at chromosomes 9p21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their value in cancer risk assessment. *Nat Med* 1996;2:682-5.
48. **Balz V**, Scheckenbach K, Gotte K, *et al.* Is the p53 inactivation frequency in squamous cell carcinomas of the head and neck underestimated? Analysis of p53 exons 2-11 and human papillomavirus 16/18 E6 transcripts in 123 unselected tumor specimens. *Cancer Res* 2003;63:1188-91.
49. **Poeta ML**, Manola J, Goldwasser MA, *et al.* TP53 mutations and survival in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2007;357:2552-61.
50. **Pignataro L**, Pruneri G, Carboni N, *et al.* Clinical relevance of cyclin D1 protein overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1998;16:3069-77.
51. **Capaccio P**, Pruneri G, Carboni N, *et al.* Cyclin D1 expression is predictive of occult metastases in head and neck cancer patients with clinically negative cervical lymph nodes. *Head Neck* 2000;22:234-40.
52. **Higuchi E**, Oridate N, Homma A, *et al.* Prognostic significance of cyclin D1 and p16 in patients with intermediate-risk head and neck squamous cell carcinoma treated with docetaxel and concurrent radiotherapy. *Head Neck* 2007;29:940-7.
53. **Stransky N**, Egloff AM, Tward AD, *et al.* The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science* 2011;333:1157-60.
54. **Loyo M**, Li RJ, Bettgowda C, *et al.* Lessons learned from next-generation sequencing in head and neck cancer. *Head Neck* 2013;35:454-63.
55. Cancer Genome Atlas N. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature* 2015;517:576-82.

56. **Bouvard V**, Baan R, Straif K, *et al.* A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10:321-2.
57. **Mehanna H**, Beech T, Nicholson T, *et al.* Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer--systematic review and meta-analysis of trends by time and region. *Head Neck* 2013;35:747-55.
58. **Mirghani H**, Amen F, Moreau F, *et al.* Human papilloma virus testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma: what the clinician should know. *Oral Oncol* 2014;50:1-9.
59. **Bertotti A**, Sassi F. Molecular Pathways: Sensitivity and Resistance to Anti-EGFR Antibodies. *Clin Cancer Res* 2015;21:3377-83.
60. **Sato JD**, Kawamoto T, Le AD, *et al.* Biological effects in vitro of monoclonal antibodies to human epidermal growth factor receptors. *Molecular biology & medicine* 1983;1:511-29.
61. **Huang SM**, Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition in cancer therapy: biology, rationale and preliminary clinical results. *Investigational new drugs* 1999;17:259-69.
62. **Rubin Grandis J**, 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;90:824-32.
63. **Ang KK**, Berkey BA, Tu X, *et al.* Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:7350-6.
64. **Gupta AK**, McKenna WG, Weber CN, *et al.* Local recurrence in head and neck cancer: relationship to radiation resistance and signal transduction. *Clin Cancer Res* 2002;8:885-92.
65. **Calasanz MJ**. Review of conventional and molecular cytogenetic techniques and their use in the diagnosis and prognosis of cancer. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, Vol 24, supl 1. Factores Pronósticos en Oncología.

- 
66. **Takes RP**, Rinaldo A, Silver CE, *et al.* Future of the TNM classification and staging system in head and neck cancer. *Head Neck* 2010;32:1693-711.
  67. **Sobin L. H**, Gospodarowicz M. K, Wittekind C. (edits). *TNM Classification of Malignant Tumours*, 7th Edition. UICC (International Union Against Cancer); New York, Wiley & Sons, Inc., Publication; 2009.
  68. **Chung CH**, Parker JS, Karaca G, *et al.* Molecular classification of head and neck squamous cell carcinomas using patterns of gene expression. *Cancer Cell* 2004;5:489-500.
  69. **Leemans CR**, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011;11:9-22.
  70. **Haddad RI**, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1143-54.
  71. **Shah JP**. Patterns of cervical lymph node metastasis from squamous carcinomas of the upper aerodigestive tract. *Am J Surg* 1990;160:405-9.
  72. **van der Velden LA**, Schaafsma HE, Manni JJ, *et al.* Cytokeratin expression in normal and (pre)malignant head and neck epithelia: an overview. *Head Neck* 1993;15:133-46.
  73. **Weidner N**. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast cancer research and treatment* 1995;36:169-80.
  74. **Merkel DE**, McGuire WL. Ploidy, proliferative activity and prognosis. DNA flow cytometry of solid tumors. *Cancer* 1990;65:1194-205.
  75. **Gregg CM**, Beals TE, McClatchy KM, *et al.* DNA content and tumor response to induction chemotherapy in patients with advanced laryngeal squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;108:731-7.
  76. **Walter MA**, Peters GE, Peiper SC. Predicting radioresistance in early glottic squamous cell carcinoma by DNA content. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991;100:523-6.

77. **Skinner HD**, Sandulache VC, Ow TJ, *et al.* TP53 disruptive mutations lead to head and neck cancer treatment failure through inhibition of radiation-induced senescence. *Clin Cancer Res* 2012;18:290-300.
78. **Perou CM**, Sorlie T, Eisen MB, *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747-52.
79. **De Cecco L**, Nicolau M, Giannoccaro M, *et al.* Head and neck cancer subtypes with biological and clinical relevance: Meta-analysis of gene-expression data. *Oncotarget* 2015;6:9627-42.
80. **Hermesen M**, Guervos MA, Meijer G, *et al.* New chromosomal regions with high-level amplifications in squamous cell carcinomas of the larynx and pharynx, identified by comparative genomic hybridization. *J Pathol* 2001;194:177-82.
81. **Jin C**, Jin Y, Wennerberg J, *et al.* Cytogenetic abnormalities in 106 oral squamous cell carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2006;164:44-53.
82. **Smeets SJ**, Brakenhoff RH, Ylstra B, *et al.* Genetic classification of oral and oropharyngeal carcinomas identifies subgroups with a different prognosis. *Cell Oncol* 2009;31:291-300.
83. **Psyrri A**, Gouveris P, Vermorken JB. Human papillomavirus-related head and neck tumors: clinical and research implication. *Curr Opin Oncol* 2009;21:201-5.
84. **Argiris A**, Karamouzis MV, Raben D, *et al.* Head and neck cancer. *Lancet* 2008;371:1695-709.
85. **Sacco AG**, Cohen EE. Current Treatment Options for Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 2015;33:3305-13.
86. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Head and Neck Cancers. Version 2.2013.
87. **Seiwert TY**, Fayette J, Cupissol D, *et al.* A randomized, phase II study of afatinib versus cetuximab in metastatic or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 2014;25:1813-20.
88. **Machiels JP**, Haddad RI, Fayette J, *et al.* Afatinib versus methotrexate as second-line treatment in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head

- and neck progressing on or after platinum-based therapy (LUX-Head & Neck 1): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:583-94.
89. **Mendelsohn J.** Growth factor receptors as targets for antitumor therapy with monoclonal antibodies. *Prog Allergy* 1988;45:147-60.
  90. **Vermorken JB,** Trigo J, Hitt R, *et al.* Open-label, uncontrolled, multicenter phase II study to evaluate the efficacy and toxicity of cetuximab as a single agent in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck who failed to respond to platinum-based therapy. *J Clin Oncol* 2007;25:2171-7.
  91. **Baselga J.** The EGFR as a target for anticancer therapy--focus on cetuximab. *Eur J Cancer* 2001;37 Suppl 4:S16-22.
  92. **Capdevila J,** Elez E, Macarulla T, *et al.* Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 2009;35:354-63.
  93. **Robert F,** Ezekiel MP, 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;19:3234-43.
  94. **Bonner JA,** Harari PM, Giralt J, *et al.* Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol* 2010;11:21-8.
  95. **Burtneß B,** Goldwasser MA, Flood W, *et al.* Phase III randomized trial of cisplatin plus placebo compared with cisplatin plus cetuximab in metastatic/recurrent head and neck cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2005;23:8646-54.
  96. **Hitt R,** Irigoyen A, Cortes-Funes H, *et al.* Phase II study of the combination of cetuximab and weekly paclitaxel in the first-line treatment of patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of head and neck. *Ann Oncol* 2012;23:1016-22.
  97. **Kuhnt T,** Sandner A, Wendt T, *et al.* Phase I trial of dose-escalated cisplatin with concomitant cetuximab and hyperfractionated-accelerated radiotherapy in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 2010;21:2284-9.

98. **Pfister DG**, Su YB, Kraus DH, *et al.* Concurrent cetuximab, cisplatin, and concomitant boost radiotherapy for locoregionally advanced, squamous cell head and neck cancer: a pilot phase II study of a new combined-modality paradigm. *J Clin Oncol* 2006;24:1072-8.
99. **Merlano M**, Russi E, Benasso M, *et al.* Cisplatin-based chemoradiation plus cetuximab in locally advanced head and neck cancer: a phase II clinical study. *Ann Oncol* 2011;22:712-7.
100. **Koukourakis MI**, Tsoutsou PG, Karpouzis A, *et al.* Radiochemotherapy with cetuximab, cisplatin, and amifostine for locally advanced head and neck cancer: a feasibility study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010;77:9-15.
101. **Egloff AM**, Lee JW, Langer CJ, *et al.* Phase II study of cetuximab in combination with cisplatin and radiation in unresectable, locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: Eastern cooperative oncology group trial E3303. *Clin Cancer Res* 2014;20:5041-51.
102. **Ang KK**, Zhang Q, Rosenthal DI, *et al.* Randomized phase III trial of concurrent accelerated radiation plus cisplatin with or without cetuximab for stage III to IV head and neck carcinoma: RTOG 0522. *J Clin Oncol* 2014;32:2940-50.
103. **Ghi MG**, Paccagnella A, Ferrari D, *et al.* A phase II-III study comparing concomitant chemoradiotherapy (CRT) versus cetuximab/RT (CET/RT) with or without induction docetaxel/cisplatin/5-fluorouracil (TPF) in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma (LASCCHN): Efficacy results (NCT01086826). *J Clin Oncol* 2013;31 (suppl; abstract 6003).
104. **Argiris A**, Heron DE, Smith RP, *et al.* Induction docetaxel, cisplatin, and cetuximab followed by concurrent radiotherapy, cisplatin, and cetuximab and maintenance cetuximab in patients with locally advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:5294-300.
105. **Kies MS**, Holsinger FC, Lee JJ, *et al.* Induction chemotherapy and cetuximab for locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: results from a phase II prospective trial. *J Clin Oncol* 2010;28:8-14.

106. **Alorabi M**, Shonka NA, Ganti AK. EGFR monoclonal antibodies in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: What is their current role? *Crit Rev Oncol Hematol* 2016;99:170-9.
107. **Mesia R**, Henke M, Fortin A, *et al.* Chemoradiotherapy with or without panitumumab in patients with unresected, locally advanced squamous-cell carcinoma of the head and neck (CONCERT-1): a randomised, controlled, open-label phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:208-20.
108. **Giralt J**, Trigo J, Nuyts S, *et al.* Panitumumab plus radiotherapy versus chemoradiotherapy in patients with unresected, locally advanced squamous-cell carcinoma of the head and neck (CONCERT-2): a randomised, controlled, open-label phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:221-32.
109. **Vermorken JB**, Stohlmacher-Williams J, Davidenko I, *et al.* Cisplatin and fluorouracil with or without panitumumab in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck (SPECTRUM): an open-label phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol* 2013;14:697-710.
110. **Crombet T**, Torres L, Neningen E, *et al.* Pharmacological evaluation of humanized anti-epidermal growth factor receptor, monoclonal antibody h-R3, in patients with advanced epithelial-derived cancer. *J Immunother* 2003;26:139-48.
111. **Crombet T**, Osorio M, Cruz T, *et al.* Use of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody h-R3 in combination with radiotherapy in the treatment of locally advanced head and neck cancer patients. *J Clin Oncol* 2004;22:1646-54.
112. **Reddy BK**, Lokesh V, Vidyasagar MS, *et al.* Nimotuzumab provides survival benefit to patients with inoperable advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomized, open-label, phase IIb, 5-year study in Indian patients. *Oral Oncol* 2014;50:498-505.
113. **Rodriguez MO**, Rivero TC, del Castillo Bahi R, *et al.* Nimotuzumab plus radiotherapy for unresectable squamous-cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Biol Ther* 2010;9:343-9.

114. **Eriksen J.G**, Maare C, Johansen, J, *et al.* Evaluation of the EGFR-inhibitor zalutumumab given with primary curative (Chemo) radiation therapy to patients with squamous cell carcinoma of the head and neck: results of the DAHANCA 19 randomized phase 3 trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 88 (2),465.
115. **Machiels JP**, Subramanian S, Ruzsa A, *et al.* Zalutumumab plus best supportive care versus best supportive care alone in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck after failure of platinum-based chemotherapy: an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2011;12:333-43.
116. **Argiris A**, Brockstein BE, Haraf DJ, *et al.* Competing causes of death and second primary tumors in patients with locoregionally advanced head and neck cancer treated with chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res* 2004;10:1956-62.
117. **Khuri FR**, Lee JJ, Lippman SM, *et al.* Randomized phase III trial of low-dose isotretinoin for prevention of second primary tumors in stage I and II head and neck cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:441-50.
118. **Kawamoto T**, Sato JD, Le A, *et al.* Growth stimulation of A431 cells by epidermal growth factor: identification of high-affinity receptors for epidermal growth factor by an anti-receptor monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983;80:1337-41.
119. **Wheeler DL**, Dunn EF, Harari PM. Understanding resistance to EGFR inhibitors-impact on future treatment strategies. *Nat Rev Clin Oncol* 2010;7:493-507.
120. **Bogdan S**, Klambt C. Epidermal growth factor receptor signaling. *Curr Biol* 2001;11:R292-5.
121. **Yarden Y**, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:127-37.
122. **Hynes NE**, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2005;5:341-54.
123. **Siegfried JM**, Krishnamachary N, Gaither Davis A, *et al.* Evidence for autocrine actions of neuromedin B and gastrin-releasing peptide in non-small cell lung cancer. *Pulm Pharmacol Ther* 1999;12:291-302.

124. **Chung CH**, Ely K, McGavran L, *et al.* Increased epidermal growth factor receptor gene copy number is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Oncol* 2006;24:4170-6.
125. **Temam S**, Kawaguchi H, El-Naggar AK, *et al.* Epidermal growth factor receptor copy number alterations correlate with poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:2164-70.
126. **Weinstein IB**, Joe A. Oncogene addiction. *Cancer Res* 2008;68:3077-80; discussion 80.
127. **Sheridan MT**, O'Dwyer T, Seymour CB, *et al.* Potential indicators of radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiat Oncol Investig* 1997;5:180-6.
128. **Akimoto T**, Hunter NR, Buchmiller L, *et al.* Inverse relationship between epidermal growth factor receptor expression and radiocurability of murine carcinomas. *Clin Cancer Res* 1999;5:2884-90.
129. **Sok JC**, Coppelli FM, Thomas SM, *et al.* Mutant epidermal growth factor receptor (EGFRvIII) contributes to head and neck cancer growth and resistance to EGFR targeting. *Clin Cancer Res* 2006;12:5064-73.
130. **Sachidanandam R**, Weissman D, Schmidt SC, *et al.* A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409:928-33.
131. **Goustin AS**, Leof EB, Shipley GD, *et al.* Growth factors and cancer. *Cancer Res* 1986;46:1015-29.
132. **Tinhofer I**, Klinghammer K, Weichert W, *et al.* Expression of amphiregulin and EGFRvIII affect outcome of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck receiving cetuximab-docetaxel treatment. *Clin Cancer Res* 2011;17:5197-204.
133. **Marmor MD**, Skaria KB, Yarden Y. Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58:903-13.
134. **Kalyankrishna S**, Grandis JR. Epidermal growth factor receptor biology in head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:2666-72.

135. **Weihua Z**, Tsan R, Huang WC, *et al.* Survival of cancer cells is maintained by EGFR independent of its kinase activity. *Cancer Cell* 2008;13:385-93.
136. **Wang SC**, Nakajima Y, Yu YL, *et al.* Tyrosine phosphorylation controls PCNA function through protein stability. *Nat Cell Biol* 2006;8:1359-68.
137. **Lauffenburger DA**, Horwitz AF. Cell migration: a physically integrated molecular process. *Cell* 1996;84:359-69.
138. **Manske M**, Bade EG. Growth factor-induced cell migration: biology and methods of analysis. *Int Rev Cytol* 1994;155:49-96.
139. **Lu Z**, Jiang G, Blume-Jensen P, *et al.* Epidermal growth factor-induced tumor cell invasion and metastasis initiated by dephosphorylation and downregulation of focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol* 2001;21:4016-31.
140. **Kim SJ**, Uehara H, Karashima T, *et al.* Blockade of epidermal growth factor receptor signaling in tumor cells and tumor-associated endothelial cells for therapy of androgen-independent human prostate cancer growing in the bone of nude mice. *Clin Cancer Res* 2003;9:1200-10.
141. **Kuo PL**, Huang MS, Cheng DE, *et al.* Lung cancer-derived galectin-1 enhances tumorigenic potentiation of tumor-associated dendritic cells by expressing heparin-binding EGF-like growth factor. *J Biol Chem* 2012;287:9753-64.
142. **Goh LK**, Sorkin A. Endocytosis of receptor tyrosine kinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013;5:a017459.
143. **Lo HW**, Hsu SC, Ali-Seyed M, *et al.* Nuclear interaction of EGFR and STAT3 in the activation of the iNOS/NO pathway. *Cancer Cell* 2005;7:575-89.
144. **Daub H**, Weiss FU, Wallasch C, *et al.* Role of transactivation of the EGF receptor in signalling by G-protein-coupled receptors. *Nature* 1996;379:557-60.
145. **Yamauchi T**, Ueki K, Tobe K, *et al.* Tyrosine phosphorylation of the EGF receptor by the kinase Jak2 is induced by growth hormone. *Nature* 1997;390:91-6.

146. **Biscardi JS**, Maa MC, Tice DA, *et al.* c-Src-mediated phosphorylation of the epidermal growth factor receptor on Tyr845 and Tyr1101 is associated with modulation of receptor function. *J Biol Chem* 1999;274:8335-43.
147. **Huang HS**, Nagane M, Klingbeil CK, *et al.* The enhanced tumorigenic activity of a mutant epidermal growth factor receptor common in human cancers is mediated by threshold levels of constitutive tyrosine phosphorylation and unattenuated signaling. *J Biol Chem* 1997;272:2927-35.
148. **Whitson KB**, Whitson SR, Red-Brewer ML, *et al.* Functional effects of glycosylation at Asn-579 of the epidermal growth factor receptor. *Biochemistry* 2005;44:14920-31.
149. **Liu W**, Fan LX, Zhou X, *et al.* HDAC6 regulates epidermal growth factor receptor (EGFR) endocytic trafficking and degradation in renal epithelial cells. *PLoS One* 2012;7:e49418.
150. **Cieslik M**, Hoang SA, Baranova N, *et al.* Epigenetic coordination of signaling pathways during the epithelial-mesenchymal transition. *Epigenetics Chromatin* 2013;6:28.
151. **DeVita VT**, Lawrence TS, Rosenberg SA. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 10<sup>a</sup> edición. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
152. **Vermorken JB**, Herbst RS, Leon X, *et al.* Overview of the efficacy of cetuximab in recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck in patients who previously failed platinum-based therapies. *Cancer* 2008;112:2710-9.
153. **Rodrigo JP**, Ramos S, Lazo PS, *et al.* Amplification of ERBB oncogenes in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Eur J Cancer* 1996;32A:2004-10.
154. **Custodio A**, Feliu J. Prognostic and predictive biomarkers for epidermal growth factor receptor-targeted therapy in colorectal cancer: beyond KRAS mutations. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013;85:45-81.
155. **Boeckx C**, Baay M, Wouters A, *et al.* Anti-epidermal growth factor receptor therapy in head and neck squamous cell carcinoma: focus on potential molecular mechanisms of drug resistance. *Oncologist* 2013;18:850-64.
156. **Ratushny V**, Astsaturov I, Burtness BA, *et al.* Targeting EGFR resistance networks in head and neck cancer. *Cell Signal* 2009;21:1255-68.

157. **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;11:1873-8.
158. **Sahin U**, Weskamp G, Kelly K, *et al.* Distinct roles for ADAM10 and ADAM17 in ectodomain shedding of six EGFR ligands. *J Cell Biol* 2004;164:769-79.
159. **Wang F**, Liu R, Lee SW, *et al.* Heparin-binding EGF-like growth factor is an early response gene to chemotherapy and contributes to chemotherapy resistance. *Oncogene* 2007;26:2006-16.
160. **Castillo J**, Erroba E, Perugorria MJ, *et al.* Amphiregulin contributes to the transformed phenotype of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2006;66:6129-38.
161. **Bedi A**, Chang X, Noonan K, *et al.* Inhibition of TGF-beta enhances the in vivo antitumor efficacy of EGF receptor-targeted therapy. *Mol Cancer Ther* 2012;11:2429-39.
162. **Yonesaka K**, Zejnullahu K, Lindeman N, *et al.* Autocrine production of amphiregulin predicts sensitivity to both gefitinib and cetuximab in EGFR wild-type cancers. *Clin Cancer Res* 2008;14:6963-73.
163. **Tsai ST**, Yang KY, Jin YT, *et al.* Amphiregulin as a tumor promoter for oral squamous cell carcinoma: involvement of cyclooxygenase 2. *Oral Oncol* 2006;42:381-90.
164. **Loeffler-Ragg J**, Witsch-Baumgartner M, Tzankov A, *et al.* Low incidence of mutations in EGFR kinase domain in Caucasian patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2006;42:109-11.
165. **Cohen EE**, Lingen MW, Martin LE, *et al.* Response of some head and neck cancers to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors may be linked to mutation of ERBB2 rather than EGFR. *Clin Cancer Res* 2005;11:8105-8.
166. **Sheikh Ali MA**, Gunduz M, Nagatsuka H, *et al.* Expression and mutation analysis of epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2008;99:1589-94.
167. **Lee JW**, Soung YH, Kim SY, *et al.* Somatic mutations of EGFR gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2005;11:2879-82.

168. **Sugawa N**, Ekstrand AJ, James CD, *et al.* Identical splicing of aberrant epidermal growth factor receptor transcripts from amplified rearranged genes in human glioblastomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:8602-6.
169. **Wheeler SE**, Suzuki S, Thomas SM, *et al.* Epidermal growth factor receptor variant III mediates head and neck cancer cell invasion via STAT3 activation. *Oncogene* 2010;29:5135-45.
170. **McIntyre JB**, Bose P, Klimowicz AC, *et al.* Specific and sensitive hydrolysis probe-based real-time PCR detection of epidermal growth factor receptor variant III in oral squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2012;7:e31723.
171. **Zhang J**, Saba NF, Chen GZ, *et al.* Targeting HER (ERBB) signaling in head and neck cancer: An essential update. *Mol Aspects Med* 2015;45:74-86.
172. **Lin SY**, Makino K, Xia W, *et al.* Nuclear localization of EGF receptor and its potential new role as a transcription factor. *Nat Cell Biol* 2001;3:802-8.
173. **Marti U**, Wells A. The nuclear accumulation of a variant epidermal growth factor receptor (EGFR) lacking the transmembrane domain requires coexpression of a full-length EGFR. *Mol Cell Biol Res Commun* 2000;3:8-14.
174. **Lo HW**, Xia W, Wei Y, *et al.* Novel prognostic value of nuclear epidermal growth factor receptor in breast cancer. *Cancer Res* 2005;65:338-48.
175. **Xia W**, Wei Y, Du Y, *et al.* Nuclear expression of epidermal growth factor receptor is a novel prognostic value in patients with ovarian cancer. *Mol Carcinog* 2009;48:610-7.
176. **Liccardi G**, Hartley JA, Hochhauser D. EGFR nuclear translocation modulates DNA repair following cisplatin and ionizing radiation treatment. *Cancer Res* 2011;71:1103-14.
177. **Li C**, Iida M, Dunn EF, *et al.* Nuclear EGFR contributes to acquired resistance to cetuximab. *Oncogene* 2009;28:3801-13.
178. **Dittmann K**, Mayer C, Kehlbach R, *et al.* Radiation-induced caveolin-1 associated EGFR internalization is linked with nuclear EGFR transport and activation of DNA-PK. *Mol Cancer* 2008;7:69.

179. **Wheeler DL**, Huang S, Kruser TJ, *et al.* Mechanisms of acquired resistance to cetuximab: role of HER (ErbB) family members. *Oncogene* 2008;27:3944-56.
180. **Yonesaka K**, Zejnullahu K, Okamoto I, *et al.* Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab. *Sci Transl Med* 2011;3:99ra86.
181. **Sergina NV**, Rausch M, Wang D, *et al.* Escape from HER-family tyrosine kinase inhibitor therapy by the kinase-inactive HER3. *Nature* 2007;445:437-41.
182. **Shames DS**, Carbon J, Walter K, *et al.* High heregulin expression is associated with activated HER3 and may define an actionable biomarker in patients with squamous cell carcinomas of the head and neck. *PLoS One* 2013;8:e56765.
183. **Bahr C**, Groner B. The IGF-1 receptor and its contributions to metastatic tumor growth- novel approaches to the inhibition of IGF-1R function. *Growth Factors* 2005;23:1-14.
184. **Morgillo F**, Bareschino MA, Bianco R, *et al.* Primary and acquired resistance to anti-EGFR targeted drugs in cancer therapy. *Differentiation* 2007;75:788-99.
185. **Barnes CJ**, Ohshiro K, Rayala SK, *et al.* Insulin-like growth factor receptor as a therapeutic target in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:4291-9.
186. **Jones HE**, Goddard L, Gee JM, *et al.* Insulin-like growth factor-I receptor signalling and acquired resistance to gefitinib (ZD1839; Iressa) in human breast and prostate cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2004;11:793-814.
187. **Morgillo F**, Woo JK, Kim ES, *et al.* Heterodimerization of insulin-like growth factor receptor/epidermal growth factor receptor and induction of survivin expression counteract the antitumor action of erlotinib. *Cancer Res* 2006;66:10100-11.
188. **Ahmad T**, Farnie G, Bundred NJ, *et al.* The mitogenic action of insulin-like growth factor I in normal human mammary epithelial cells requires the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem* 2004;279:1713-9.
189. **Rabinowits G**, Haddad RI. Overcoming resistance to EGFR inhibitor in head and neck cancer: a review of the literature. *Oral Oncol* 2012;48:1085-9.

190. **Seiwert TY**, Jagadeeswaran R, Faoro L, *et al.* The MET receptor tyrosine kinase is a potential novel therapeutic target for head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2009;69:3021-31.
191. **Knowles LM**, Stabile LP, Egloff AM, *et al.* HGF and c-Met participate in paracrine tumorigenic pathways in head and neck squamous cell cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:3740-50.
192. **Chau NG**, Perez-Ordóñez B, Zhang K, *et al.* The association between EGFR variant III, HPV, p16, c-MET, EGFR gene copy number and response to EGFR inhibitors in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck Oncol* 2011;3:11.
193. **Yano S**, Wang W, Li Q, *et al.* Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. *Cancer Res* 2008;68:9479-87.
194. **Goldman CK**, Kim J, Wong WL, *et al.* Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells: a model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Mol Biol Cell* 1993;4:121-33.
195. **Viloria-Petit A**, Crombet T, Jothy S, *et al.* Acquired resistance to the antitumor effect of epidermal growth factor receptor-blocking antibodies in vivo: a role for altered tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2001;61:5090-101.
196. **Ciardello F**, Bianco R, Caputo R, *et al.* Antitumor activity of ZD6474, a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in human cancer cells with acquired resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy. *Clin Cancer Res* 2004;10:784-93.
197. **Bianco R**, Rosa R, Damiano V, *et al.* Vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to resistance to anti-epidermal growth factor receptor drugs in human cancer cells. *Clin Cancer Res* 2008;14:5069-80.
198. **Kyzas PA**, Cunha IW, Ioannidis JP. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunohistochemical expression in head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2005;11:1434-40.

199. **Guarino M.** Epithelial-mesenchymal transition and tumour invasion. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:2153-60.
200. **Lindsey S,** Langhans SA. Epidermal growth factor signaling in transformed cells. *Int Rev Cell Mol Biol* 2015;314:1-41.
201. **Holz C,** Niehr F, Boyko M, *et al.* Epithelial-mesenchymal-transition induced by EGFR activation interferes with cell migration and response to irradiation and cetuximab in head and neck cancer cells. *Radiother Oncol* 2011;101:158-64.
202. **Kelly KR,** Ecsedy J, Mahalingam D, *et al.* Targeting aurora kinases in cancer treatment. *Curr Drug Targets* 2011;12:2067-78.
203. **Reiter R,** Gais P, Jutting U, *et al.* Aurora kinase A messenger RNA overexpression is correlated with tumor progression and shortened survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006;12:5136-41.
204. **Bredell MG,** Ernst J, El-Kochairi I, *et al.* Current relevance of hypoxia in head and neck cancer. *Oncotarget* 2016.
205. **Chan N,** Bristow RG. "Contextual" synthetic lethality and/or loss of heterozygosity: tumor hypoxia and modification of DNA repair. *Clin Cancer Res* 2010;16:4553-60.
206. **Lu H,** Liang K, Lu Y, *et al.* The anti-EGFR antibody cetuximab sensitizes human head and neck squamous cell carcinoma cells to radiation in part through inhibiting radiation-induced upregulation of HIF-1alpha. *Cancer Lett* 2012;322:78-85.
207. **Aebersold DM,** Burri P, Beer KT, *et al.* Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001;61:2911-6.
208. **Qiu W,** Schonleben F, Li X, *et al.* PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006;12:1441-6.
209. **Woenckhaus J,** Steger K, Werner E, *et al.* Genomic gain of PIK3CA and increased expression of p110alpha are associated with progression of dysplasia into invasive squamous cell carcinoma. *J Pathol* 2002;198:335-42.

210. **Or YY**, Hui AB, Tam KY, *et al.* Characterization of chromosome 3q and 12q amplicons in nasopharyngeal carcinoma cell lines. *Int J Oncol* 2005;26:49-56.
211. **Pedrero JM**, Carracedo DG, Pinto CM, *et al.* Frequent genetic and biochemical alterations of the PI 3-K/AKT/PTEN pathway in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2005;114:242-8.
212. **Radu A**, Neubauer V, Akagi T, *et al.* PTEN induces cell cycle arrest by decreasing the level and nuclear localization of cyclin D1. *Mol Cell Biol* 2003;23:6139-49.
213. **Jiang BH**, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in tumorigenesis and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2008;1784:150-8.
214. **Khavari TA**, Rinn J. Ras/Erk MAPK signaling in epidermal homeostasis and neoplasia. *Cell Cycle* 2007;6:2928-31.
215. **Deschoolmeester V**, Boeckx C, Baay M, *et al.* KRAS mutation detection and prognostic potential in sporadic colorectal cancer using high-resolution melting analysis. *Br J Cancer* 2010;103:1627-36.
216. **Lievre A**, Bachet JB, Le Corre D, *et al.* KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006;66:3992-5.
217. **Amado RG**, Wolf M, Peeters M, *et al.* Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1626-34.
218. **Yarbrough WG**, Shores C, Witsell DL, *et al.* ras mutations and expression in head and neck squamous cell carcinomas. *Laryngoscope* 1994;104:1337-47.
219. **Kalish LH**, Kwong RA, Cole IE, *et al.* Deregulated cyclin D1 expression is associated with decreased efficacy of the selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor gefitinib in head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Clin Cancer Res* 2004;10:7764-74.
220. **Huang S**, Benavente S, Armstrong EA, *et al.* p53 modulates acquired resistance to EGFR inhibitors and radiation. *Cancer Res* 2011;71:7071-9.

- 
221. **Ogino S**, Meyerhardt JA, Cantor M, *et al.* Molecular alterations in tumors and response to combination chemotherapy with gefitinib for advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:6650-6.
222. **Huether A**, Hopfner M, Baradari V, *et al.* EGFR blockade by cetuximab alone or as combination therapy for growth control of hepatocellular cancer. *Biochem Pharmacol* 2005;70:1568-78.
223. **Lavecchia A**, Di Giovanni C, Novellino E. STAT-3 inhibitors: state of the art and new horizons for cancer treatment. *Curr Med Chem* 2011;18:2359-75.
224. **Leong PL**, Xi S, Drenning SD, *et al.* Differential function of STAT5 isoforms in head and neck cancer growth control. *Oncogene* 2002;21:2846-53.
225. **Tan SH**, Nevalainen MT. Signal transducer and activator of transcription 5A/B in prostate and breast cancers. *Endocr Relat Cancer* 2008;15:367-90.
226. **Quesnelle KM**, Boehm AL, Grandis JR. STAT-mediated EGFR signaling in cancer. *J Cell Biochem* 2007;102:311-9.
227. **Bromberg JF**, Wrzeszczynska MH, Devgan G, *et al.* Stat3 as an oncogene. *Cell* 1999;98:295-303.
228. **Sriuranpong V**, Park JI, Amornphimoltham P, *et al.* Epidermal growth factor receptor-independent constitutive activation of STAT3 in head and neck squamous cell carcinoma is mediated by the autocrine/paracrine stimulation of the interleukin 6/gp130 cytokine system. *Cancer Res* 2003;63:2948-56.
229. **Grandis JR**, Drenning SD, Chakraborty A, *et al.* Requirement of Stat3 but not Stat1 activation for epidermal growth factor receptor-mediated cell growth In vitro. *J Clin Invest* 1998;102:1385-92.
230. **Grandis JR**, Drenning SD, Zeng Q, *et al.* Constitutive activation of Stat3 signaling abrogates apoptosis in squamous cell carcinogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:4227-32.
231. Masuda M, Suzui M, Yasumatu R, *et al.* Constitutive activation of signal transducers and activators of transcription 3 correlates with cyclin D1 overexpression and may provide a

- novel prognostic marker in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:3351-5.
232. **Kijima T**, Niwa H, Steinman RA, *et al.* STAT3 activation abrogates growth factor dependence and contributes to head and neck squamous cell carcinoma tumor growth in vivo. *Cell Growth Differ* 2002;13:355-62.
233. **Lo HW**, Cao X, Zhu H, *et al.* Constitutively activated STAT3 frequently coexpresses with epidermal growth factor receptor in high-grade gliomas and targeting STAT3 sensitizes them to Iressa and alkylators. *Clin Cancer Res* 2008;14:6042-54.
234. **Vlaeminck-Guillem V**, Gillet G, Rimokh R. SRC: marker or actor in prostate cancer aggressiveness. *Front Oncol* 2014;4:222.
235. **Puente XS**, Pinyol M, Quesada V, *et al.* Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011;475:101-5.
236. **Weng AP**, Ferrando AA, Lee W, *et al.* Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2004;306:269-71.
237. **Wang NJ**, Sanborn Z, Arnett KL, *et al.* Loss-of-function mutations in Notch receptors in cutaneous and lung squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:17761-6.
238. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature* 2012;489:519-25.
239. **Seki T**, Yun J, Oh SP. Arterial endothelium-specific activin receptor-like kinase 1 expression suggests its role in arterialization and vascular remodeling. *Circulation research* 2003;93:682-9.
240. **Bendell JC**, Gordon MS, Hurwitz HI, *et al.* Safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumor activity of dalantercept, an activin receptor-like kinase-1 ligand trap, in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20:480-9.
241. **Psyrrri A**, Seiwert TY, Jimeno A. Molecular pathways in head and neck cancer: EGFR, PI3K, and more. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013:246-55.

- 
242. **Muenst S**, Laubli H, Soysal SD, *et al.* The immune system and cancer evasion strategies: therapeutic concepts. *Journal of internal medicine* 2016;279:541-62.
243. **Lalami Y**, Awada A. Innovative perspectives of immunotherapy in head and neck cancer. From relevant scientific rationale to effective clinical practice. *Cancer Treat Rev* 2016;43:113-23.
244. **Fuereder T**. Immunotherapy for head and neck squamous cell carcinoma. *Memo* 2016;9:66-9.
245. **Parikh F**, Duluc D, Imai N, *et al.* Chemoradiotherapy-induced upregulation of PD-1 antagonizes immunity to HPV-related oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2014;74:7205-16.
246. **Chow LQ**, Haddad R, Gupta S, *et al.* Antitumor Activity of Pembrolizumab in Biomarker-Unselected Patients With Recurrent and/or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Results From the Phase Ib KEYNOTE-012 Expansion Cohort. *J Clin Oncol* 2016.
247. **Ferris RL**, Blumenschein G, Jr., Fayette J, *et al.* Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med* 2016.
248. **Nicholson RI**, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2001;37 Suppl 4:S9-15.
249. **Salomon DS**, Brandt R, Ciardiello F, *et al.* Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19:183-232.
250. **Maurizi M**, Almadori G, Ferrandina G, *et al.* Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1996;74:1253-7.
251. **Chung CH**, Zhang Q, Hammond EM, *et al.* Integrating epidermal growth factor receptor assay with clinical parameters improves risk classification for relapse and survival in head-and-neck squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011;81:331-8.
252. **Licitra L**, Mesia R, Rivera F, *et al.* Evaluation of EGFR gene copy number as a predictive biomarker for the efficacy of cetuximab in combination with chemotherapy in the first-

- line treatment of recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: EXTREME study. *Ann Oncol* 2011;22:1078-87.
253. **Fountzilas G**, Kalogera-Fountzila A, Lambaki S, *et al.* MMP9 but Not EGFR, MET, ERCC1, P16, and P-53 Is Associated with Response to Concomitant Radiotherapy, Cetuximab, and Weekly Cisplatin in Patients with Locally Advanced Head and Neck Cancer. *J Oncol* 2009;2009:305908.
254. **Olshan AF**, Weissler MC, Pei H, *et al.* Alterations of the p16 gene in head and neck cancer: frequency and association with p53, PRAD-1 and HPV. *Oncogene* 1997;14:811-8.
255. **Shintani S**, Nakahara Y, Mihara M, *et al.* Inactivation of the p14(ARF), p15(INK4B) and p16(INK4A) genes is a frequent event in human oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2001;37:498-504.
256. **Nakao Y**, Yang X, Yokoyama M, *et al.* Induction of p16 during immortalization by HPV 16 and 18 and not during malignant transformation. *Br J Cancer* 1997;75:1410-6.
257. **Mellin H**, Dahlgren L, Munck-Wikland E, *et al.* Human papillomavirus type 16 is episomal and a high viral load may be correlated to better prognosis in tonsillar cancer. *Int J Cancer* 2002;102:152-8.
258. **Syrjanen K**, Syrjanen S, Lamberg M, *et al.* Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg* 1983;12:418-24.
259. **Weinberger PM**, Yu Z, Haffty BG, *et al.* Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus--associated oropharyngeal cancers with favorable prognosis. *J Clin Oncol* 2006;24:736-47.
260. **Gillison ML**, Koch WM, Capone RB, *et al.* Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:709-20.
261. **Schwartz SR**, Yueh B, McDougall JK, *et al.* Human papillomavirus infection and survival in oral squamous cell cancer: a population-based study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125:1-9.

- 
262. **Wiest T**, Schwarz E, Enders C, *et al.* Involvement of intact HPV16 E6/E7 gene expression in head and neck cancers with unaltered p53 status and perturbed pRb cell cycle control. *Oncogene* 2002;21:1510-7.
263. **Hafkamp HC**, Speel EJ, Haesevoets A, *et al.* A subset of head and neck squamous cell carcinomas exhibits integration of HPV 16/18 DNA and overexpression of p16INK4A and p53 in the absence of mutations in p53 exons 5-8. *Int J Cancer* 2003;107:394-400.
264. **Haraf DJ**, Nodzinski E, Brachman D, *et al.* Human papilloma virus and p53 in head and neck cancer: clinical correlates and survival. *Clin Cancer Res* 1996;2:755-62.
265. **Lindel K**, Beer KT, Laissue J, *et al.* Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer* 2001;92:805-13.
266. **Brachman DG**, Graves D, Vokes E, *et al.* Occurrence of p53 gene deletions and human papilloma virus infection in human head and neck cancer. *Cancer Res* 1992;52:4832-6.
267. **Chiba I**, Shindoh M, Yasuda M, *et al.* Mutations in the p53 gene and human papillomavirus infection as significant prognostic factors in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *Oncogene* 1996;12:1663-8.
268. **Andl T**, Kahn T, Pfuhl A, *et al.* Etiological involvement of oncogenic human papillomavirus in tonsillar squamous cell carcinomas lacking retinoblastoma cell cycle control. *Cancer Res* 1998;58:5-13.
269. **Wilczynski SP**, Lin BT, Xie Y, *et al.* Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 1998;152:145-56.
270. **Klussmann JP**, Gultekin E, Weissenborn SJ, *et al.* Expression of p16 protein identifies a distinct entity of tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus. *Am J Pathol* 2003;162:747-53.
271. **Begum S**, Gillison ML, Ansari-Lari MA, *et al.* Detection of human papillomavirus in cervical lymph nodes: a highly effective strategy for localizing site of tumor origin. *Clin Cancer Res* 2003;9:6469-75.

- 
272. **Paz IB**, Cook N, Odom-Maryon T, *et al.* Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. An association of HPV 16 with squamous cell carcinoma of Waldeyer's tonsillar ring. *Cancer* 1997;79:595-604.
273. **Ritchie JM**, Smith EM, Summersgill KF, *et al.* Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 2003;104:336-44.
274. **Li W**, Thompson CH, O'Brien CJ, *et al.* Human papillomavirus positivity predicts favourable outcome for squamous carcinoma of the tonsil. *Int J Cancer* 2003;106:553-8.
275. **Fakhry C**, Zhang Q, Nguyen-Tan PF, *et al.* Human papillomavirus and overall survival after progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2014;32:3365-73.
276. **Argiris A**, Li S, Ghebremichael M, *et al.* Prognostic significance of human papillomavirus in recurrent or metastatic head and neck cancer: an analysis of Eastern Cooperative Oncology Group trials. *Ann Oncol* 2014;25:1410-6.
277. **Pogorzelski M**, Ting S, Gauler TC, *et al.* Impact of human papilloma virus infection on the response of head and neck cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapy. *Cell death & disease* 2014;5:e1091.
278. **Pajares B**, Trigo Perez JM, Toledo MD, *et al.* Human papillomavirus (HPV)-related head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and outcome after treatment with epidermal growth factor receptor inhibitors (EGFR inhib) plus radiotherapy (RT) versus conventional chemotherapy (CT) plus RT. *J Clin Oncol* 2011; 29 (suppl; abstr 5528).
279. **Lefebvre JL**, Pointreau Y, Rolland F, *et al.* Induction chemotherapy followed by either chemoradiotherapy or bioradiotherapy for larynx preservation: the TREMPIN randomized phase II study. *J Clin Oncol* 2013;31:853-9.
280. **Wu M**, Liu Y, Di X, *et al.* EIF4E over-expresses and enhances cell proliferation and cell cycle progression in nasopharyngeal carcinoma. *Medical oncology* 2013;30:400.
281. **Hanahan D**, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.

- 
282. **De Benedetti A**, Harris AL. eIF4E expression in tumors: its possible role in progression of malignancies. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31:59-72.
283. **Kevil C**, Carter P, Hu B, *et al.* Translational enhancement of FGF-2 by eIF-4 factors, and alternate utilization of CUG and AUG codons for translation initiation. *Oncogene* 1995;11:2339-48.
284. **Koromilas AE**, Lazaris-Karatzas A, Sonenberg N. mRNAs containing extensive secondary structure in their 5' non-coding region translate efficiently in cells overexpressing initiation factor eIF-4E. *EMBO J* 1992;11:4153-8.
285. **De Benedetti A**, Rhoads RE. Overexpression of eukaryotic protein synthesis initiation factor 4E in HeLa cells results in aberrant growth and morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:8212-6.
286. **Lazaris-Karatzas A**, Montine KS, Sonenberg N. Malignant transformation by a eukaryotic initiation factor subunit that binds to mRNA 5' cap. *Nature* 1990;345:544-7.
287. **Frederickson RM**, Mushynski WE, Sonenberg N. Phosphorylation of translation initiation factor eIF-4E is induced in a ras-dependent manner during nerve growth factor-mediated PC12 cell differentiation. *Mol Cell Biol* 1992;12:1239-47.
288. **Aloni R**, Peleg D, Meyuhas O. Selective translational control and nonspecific posttranscriptional regulation of ribosomal protein gene expression during development and regeneration of rat liver. *Mol Cell Biol* 1992;12:2203-12.
289. **Klein PS**, Melton DA. Induction of mesoderm in *Xenopus laevis* embryos by translation initiation factor 4E. *Science* 1994;265:803-6.
290. **De Benedetti A**, Graff JR. eIF-4E expression and its role in malignancies and metastases. *Oncogene* 2004;23:3189-99.
291. **Rinker-Schaeffer CW**, Graff JR, De Benedetti A, *et al.* Decreasing the level of translation initiation factor 4E with antisense RNA causes reversal of ras-mediated transformation and tumorigenesis of cloned rat embryo fibroblasts. *Int J Cancer* 1993;55:841-7.

292. **Graff JR**, Boghaert ER, De Benedetti A, *et al.* Reduction of translation initiation factor 4E decreases the malignancy of ras-transformed cloned rat embryo fibroblasts. *Int J Cancer* 1995;60:255-63.
293. **Nathan CO**, Franklin S, Abreo FW, *et al.* Analysis of surgical margins with the molecular marker eIF4E: a prognostic factor in patients with head and neck cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:2909-14.
294. **Nathan CO**, Sanders K, Abreo FW, *et al.* Correlation of p53 and the proto-oncogene eIF4E in larynx cancers: prognostic implications. *Cancer Res* 2000;60:3599-604.
295. **Nathan CO**, Amirghahari N, Abreo F, *et al.* Overexpressed eIF4E is functionally active in surgical margins of head and neck cancer patients via activation of the Akt/mammalian target of rapamycin pathway. *Clin Cancer Res* 2004;10:5820-7.
296. **Nathan CO**, Franklin S, Abreo FW, *et al.* Expression of eIF4E during head and neck tumorigenesis: possible role in angiogenesis. *Laryngoscope* 1999;109:1253-8.
297. **Nathan CO**, Liu L, Li BD, *et al.* Detection of the proto-oncogene eIF4E in surgical margins may predict recurrence in head and neck cancer. *Oncogene* 1997;15:579-84.
298. **Franklin S**, Pho T, Abreo FW, *et al.* Detection of the proto-oncogene eIF4E in larynx and hypopharynx cancers. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125:177-82.
299. **Li S**, Takasu T, Perlman DM, *et al.* Translation factor eIF4E rescues cells from Myc-dependent apoptosis by inhibiting cytochrome c release. *J Biol Chem* 2003;278:3015-22.
300. **Sillje HH**, Nigg EA. Identification of human Asf1 chromatin assembly factors as substrates of Tousled-like kinases. *Curr Biol* 2001;11:1068-73.
301. **Liu P**, Cheng H, Roberts TM, *et al.* Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2009;8:627-44.
302. **Cully M**, You H, Levine AJ, *et al.* Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6:184-92.
303. **Carnero A**, Blanco-Aparicio C, Renner O, *et al.* The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8:187-98.

- 
304. **Inoki K**, Corradetti MN, Guan KL. Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease. *Nat Genet* 2005;37:19-24.
  305. **Domin J**, Waterfield MD. Using structure to define the function of phosphoinositide 3-kinase family members. *FEBS Lett* 1997;410:91-5.
  306. **Murugan AK**, Hong NT, Fukui Y, *et al.* Oncogenic mutations of the PIK3CA gene in head and neck squamous cell carcinomas. *Int J Oncol* 2008;32:101-11.
  307. **Martin CL**, Reshmi SC, Ried T, *et al.* Chromosomal imbalances in oral squamous cell carcinoma: examination of 31 cell lines and review of the literature. *Oral Oncol* 2008;44:369-82.
  308. **Fenic I**, Steger K, Gruber C, *et al.* Analysis of PIK3CA and Akt/protein kinase B in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2007;18:253-9.
  309. **Estilo CL**, P OC, Ngai I, *et al.* The role of novel oncogenes squamous cell carcinoma-related oncogene and phosphatidylinositol 3-kinase p110alpha in squamous cell carcinoma of the oral tongue. *Clin Cancer Res* 2003;9:2300-6.
  310. **Vivanco I**, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2:489-501.
  311. **Amornphimoltham P**, Sriuranpong V, Patel V, *et al.* Persistent activation of the Akt pathway in head and neck squamous cell carcinoma: a potential target for UCN-01. *Clin Cancer Res* 2004;10:4029-37.
  312. **Mandal M**, Younes M, Swan EA, *et al.* The Akt inhibitor KP372-1 inhibits proliferation and induces apoptosis and anoikis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol* 2006;42:430-9.
  313. **Segrelles C**, Moral M, Lara MF, *et al.* Molecular determinants of Akt-induced keratinocyte transformation. *Oncogene* 2006;25:1174-85.
  314. **Shamji AF**, Nghiem P, Schreiber SL. Integration of growth factor and nutrient signaling: implications for cancer biology. *Mol Cell* 2003;12:271-80.
  315. **Hay N**, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004;18:1926-45.

316. **Sarbassov DD**, Guertin DA, Ali SM, *et al.* Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 2005;307:1098-101.
317. **Clark C**, Shah S, Herman-Ferdinandez L, *et al.* Teasing out the best molecular marker in the AKT/mTOR pathway in head and neck squamous cell cancer patients. *Laryngoscope* 2010;120:1159-65.
318. **Amornphimoltham P**, Patel V, Sodhi A, *et al.* Mammalian target of rapamycin, a molecular target in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 2005;65:9953-61.
319. **Gao W**, Li JZ, Chan JY, *et al.* mTOR Pathway and mTOR Inhibitors in Head and Neck Cancer. *ISRN Otolaryngol* 2012;2012:953089.
320. **Lionello M**, Blandamura S, Loreggian L, *et al.* High mTOR expression is associated with a worse oncological outcome in laryngeal carcinoma treated with postoperative radiotherapy: a pilot study. *J Oral Pathol Med* 2012;41:136-40.
321. **Chen J**, Hu CF, Hou JH, *et al.* Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 regulates mTOR signaling pathway genes which predict poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Journal of translational medicine* 2010;8:30.
322. **Molinolo AA**, Hewitt SM, Amornphimoltham P, *et al.* Dissecting the Akt/mammalian target of rapamycin signaling network: emerging results from the head and neck cancer tissue array initiative. *Clin Cancer Res* 2007;13:4964-73.
323. **Courtney KD**, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:1075-83.
324. **Carracedo A**, Alimonti A, Pandolfi PP. PTEN level in tumor suppression: how much is too little? *Cancer Res* 2011;71:629-33.
325. **Lee JI**, Soria JC, Hassan KA, *et al.* Loss of PTEN expression as a prognostic marker for tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;127:1441-5.
326. **Gasparotto D**, Vukosavljevic T, Piccinin S, *et al.* Loss of heterozygosity at 10q in tumors of the upper respiratory tract is associated with poor prognosis. *Int J Cancer* 1999;84:432-6.

327. **Freudlsperger C**, Burnett JR, Friedman JA, *et al.* EGFR-PI3K-AKT-mTOR signaling in head and neck squamous cell carcinomas: attractive targets for molecular-oriented therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2011;15:63-74.
328. **Liu J**, Lei DP, Jin T, *et al.* Altered expression of miR-21 and PTEN in human laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12:2653-7.
329. **Snietura M**, Jaworska M, Mlynarczyk-Liszka J, *et al.* PTEN as a prognostic and predictive marker in postoperative radiotherapy for squamous cell cancer of the head and neck. *PLoS One* 2012;7:e33396.
330. **Lee JS**, Choi YD, Lee JH, *et al.* Expression of PTEN in the progression of cervical neoplasia and its relation to tumor behavior and angiogenesis in invasive squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2006;93:233-40.
331. **Bedolla R**, Prihoda TJ, Kreisberg JI, *et al.* Determining risk of biochemical recurrence in prostate cancer by immunohistochemical detection of PTEN expression and Akt activation. *Clin Cancer Res* 2007;13:3860-7.
332. **Sawai H**, Yasuda A, Ochi N, *et al.* Loss of PTEN expression is associated with colorectal cancer liver metastasis and poor patient survival. *BMC Gastroenterol* 2008;8:56.
333. **Ermoian RP**, Furniss CS, Lamborn KR, *et al.* Dysregulation of PTEN and protein kinase B is associated with glioma histology and patient survival. *Clin Cancer Res* 2002;8:1100-6.
334. **Pattje WJ**, Schuurin E, Mastik MF, *et al.* The phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 mediates radiosensitivity in head and neck cancer. *Br J Cancer* 2010;102:1778-85.
335. **Hollander MC**, Blumenthal GM, Dennis PA. PTEN loss in the continuum of common cancers, rare syndromes and mouse models. *Nat Rev Cancer* 2011;11:289-301.
336. **Alimonti A**, Carracedo A, Clohessy JG, *et al.* Subtle variations in Pten dose determine cancer susceptibility. *Nat Genet* 2010;42:454-8.
337. **Esteva FJ**, Guo H, Zhang S, *et al.* PTEN, PIK3CA, p-AKT, and p-p70S6K status: association with trastuzumab response and survival in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Am J Pathol* 2010;177:1647-56.

338. **Frattini M**, Saletti P, Romagnani E, *et al.* PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2007;97:1139-45.
339. **Kokubo Y**, Gemma A, Noro R, *et al.* Reduction of PTEN protein and loss of epidermal growth factor receptor gene mutation in lung cancer with natural resistance to gefitinib (IRESSA). *Br J Cancer* 2005;92:1711-9.
340. **da Costa AA**, D'Almeida Costa F, Ribeiro AR, *et al.* Low PTEN expression is associated with worse overall survival in head and neck squamous cell carcinoma patients treated with chemotherapy and cetuximab. *International journal of clinical oncology* 2015;20:282-9.
341. **Leelahavanichkul K**, Amornphimoltham P, Molinolo AA, *et al.* A role for p38 MAPK in head and neck cancer cell growth and tumor-induced angiogenesis and lymphangiogenesis. *Mol Oncol* 2014;8:105-18.
342. **Widegren U**, Wretman C, Lionikas A, *et al.* Influence of exercise intensity on ERK/MAP kinase signalling in human skeletal muscle. *Pflugers Arch* 2000;441:317-22.
343. **Davis RJ**. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* 2000;103:239-52.
344. **Mishima K**, Inoue K, Hayashi Y. Overexpression of extracellular-signal regulated kinases on oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2002;38:468-74.
345. **Cowan KJ**, Storey KB. Mitogen-activated protein kinases: new signaling pathways functioning in cellular responses to environmental stress. *J Exp Biol* 2003;206:1107-15.
346. **New L**, Han J. The p38 MAP kinase pathway and its biological function. *Trends Cardiovasc Med* 1998;8:220-8.
347. **Kyriakis JM**, Avruch J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol Rev* 2001;81:807-69.
348. **Aguzzi A**, Maggioni D, Nicolini G, *et al.* MAP kinase modulation in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Anticancer Res* 2009;29:303-8.
349. **Albanell J**, Codony-Servat J, Rojo F, *et al.* Activated extracellular signal-regulated kinases: association with epidermal growth factor receptor/transforming growth factor alpha

- expression in head and neck squamous carcinoma and inhibition by anti-epidermal growth factor receptor treatments. *Cancer Res* 2001;61:6500-10.
350. **Wang L**, Liu T, Nishioka M, *et al.* Activation of ERK1/2 and cyclin D1 expression in oral tongue squamous cell carcinomas: relationship between clinicopathological appearances and cell proliferation. *Oral Oncol* 2006;42:625-31.
351. **Garavello W**, Nicolini G, Aguzzi A, *et al.* Selective reduction of extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) phosphorylation in squamous cell carcinoma of the larynx. *Oncol Rep* 2006;16:479-84.
352. **Fang JY**, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2005;6:322-7.
353. **Liang B**, Wang S, Zhu XG, *et al.* Increased expression of mitogen-activated protein kinase and its upstream regulating signal in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:623-8.
354. **Lopez-Bergami P**, Huang C, Goydos JS, *et al.* Rewired ERK-JNK signaling pathways in melanoma. *Cancer Cell* 2007;11:447-60.
355. **Tosi L**, Rinaldi E, Carinci F, *et al.* Akt, protein kinase C, and mitogen-activated protein kinase phosphorylation status in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2005;27:130-7.
356. **Engelbrecht AM**, Gebhardt S, Louw L. Ex vivo study of MAPK profiles correlated with parameters of apoptosis during cervical carcinogenesis. *Cancer Lett* 2006;235:93-9.
357. **Uzgare AR**, Kaplan PJ, Greenberg NM. Differential expression and/or activation of P38MAPK, erk1/2, and jnk during the initiation and progression of prostate cancer. *Prostate* 2003;55:128-39.
358. **Chambard JC**, Lefloch R, Pouyssegur J, *et al.* ERK implication in cell cycle regulation. *Biochim Biophys Acta* 2007;1773:1299-310.
359. **York RD**, Yao H, Dillon T, *et al.* Rap1 mediates sustained MAP kinase activation induced by nerve growth factor. *Nature* 1998;392:622-6.

360. **Frey RS**, Mulder KM. Involvement of extracellular signal-regulated kinase 2 and stress-activated protein kinase/Jun N-terminal kinase activation by transforming growth factor beta in the negative growth control of breast cancer cells. *Cancer Res* 1997;57:628-33.
361. **Pawelitz CP**, Charboneau L, Bichsel VE, *et al.* Reverse phase protein microarrays which capture disease progression show activation of pro-survival pathways at the cancer invasion front. *Oncogene* 2001;20:1981-9.
362. **Janmaat ML**, Kruyt FA, Rodriguez JA, *et al.* Response to epidermal growth factor receptor inhibitors in non-small cell lung cancer cells: limited antiproliferative effects and absence of apoptosis associated with persistent activity of extracellular signal-regulated kinase or Akt kinase pathways. *Clin Cancer Res* 2003;9:2316-26.
363. **Yamatodani T**, Ekblad L, Kjellen E, *et al.* Epidermal growth factor receptor status and persistent activation of Akt and p44/42 MAPK pathways correlate with the effect of cetuximab in head and neck and colon cancer cell lines. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009;135:395-402.
364. **Sen M**, Pollock NI, Black J, *et al.* JAK kinase inhibition abrogates STAT3 activation and head and neck squamous cell carcinoma tumor growth. *Neoplasia* 2015;17:256-64.
365. **You Z**, Xu D, Ji J, *et al.* JAK/STAT signal pathway activation promotes progression and survival of human oesophageal squamous cell carcinoma. *Clin Transl Oncol* 2012;14:143-9.
366. **Fletcher S**, Drewry JA, Shahani VM, *et al.* Molecular disruption of oncogenic signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) protein. *Biochem Cell Biol* 2009;87:825-33.
367. **Arany I**, Chen SH, Megyesi JK, *et al.* Differentiation-dependent expression of signal transducers and activators of transcription (STATs) might modify responses to growth factors in the cancers of the head and neck. *Cancer Lett* 2003;199:83-9.
368. **Leeman RJ**, Lui VW, Grandis JR. STAT3 as a therapeutic target in head and neck cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2006;6:231-41.
369. **Seethala RR**, Gooding WE, Handler PN, *et al.* Immunohistochemical analysis of phosphotyrosine signal transducer and activator of transcription 3 and epidermal

- growth factor receptor autocrine signaling pathways in head and neck cancers and metastatic lymph nodes. *Clin Cancer Res* 2008;14:1303-9.
370. **Pectasides E**, Egloff AM, Sasaki C, *et al.* Nuclear localization of signal transducer and activator of transcription 3 in head and neck squamous cell carcinoma is associated with a better prognosis. *Clin Cancer Res* 2010;16:2427-34.
371. **Junttila MR**, Evan GI. p53--a Jack of all trades but master of none. *Nat Rev Cancer* 2009;9:821-9.
372. **Kato K**, Kawashiri S, Tanaka A, *et al.* Predictive value of measuring p53 labeling index at the invasive front of oral squamous cell carcinomas. *Pathol Oncol Res* 2008;14:57-61.
373. **Carlos de Vicente J**, Junquera Gutierrez LM, Zapatero AH, *et al.* Prognostic significance of p53 expression in oral squamous cell carcinoma without neck node metastases. *Head Neck* 2004;26:22-30.
374. **Dragomir LP**, Simionescu C, Margaritescu C, *et al.* P53, p16 and Ki67 immunoexpression in oral squamous carcinomas. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53:89-93.
375. **Perisanidis C**, Perisanidis B, Wrba F, *et al.* Evaluation of immunohistochemical expression of p53, p21, p27, cyclin D1, and Ki67 in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2012;41:40-6.
376. **Kovesi G**, Szende B. Changes in apoptosis and mitotic index, p53 and Ki67 expression in various types of oral leukoplakia. *Oncology* 2003;65:331-6.
377. **Liu M**, Lawson G, Delos M, *et al.* Prognostic value of cell proliferation markers, tumour suppressor proteins and cell adhesion molecules in primary squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies* 2003;260:28-34.
378. **Roland NJ**, Caslin AW, Bowie GL, *et al.* Has the cellular proliferation marker Ki67 any clinical relevance in squamous cell carcinoma of the head and neck? *Clinical otolaryngology and allied sciences* 1994;19:13-8.
379. **Mielcarek-Kuchta D**, Olofsson J, Golusinski W. p53, Ki67 and cyclin D1 as prognosticators of lymph node metastases in laryngeal carcinoma. *European archives of oto-rhino-*

- laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies 2003;260:549-54.
380. **Ashraf MJ**, Maghbul M, Azarpira N, *et al.* Expression of Ki67 and P53 in primary squamous cell carcinoma of the larynx. *Indian J Pathol Microbiol* 2010;53:661-5.
381. **Therasse P**, Arbutk SG, Eisenhauer EA, *et al.* New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205-16.
382. **Gatta G**, Botta L, Sanchez MJ, *et al.* Prognoses and improvement for head and neck cancers diagnosed in Europe in early 2000s: The EURO CARE-5 population-based study. *Eur J Cancer* 2015.
383. **Browman GP**, Wong G, Hodson I, *et al.* Influence of cigarette smoking on the efficacy of radiation therapy in head and neck cancer. *N Engl J Med* 1993;328:159-63.
384. **Zeegers MP**, Kellen E, Buntinx F, *et al.* The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review. *World journal of urology* 2004;21:392-401.
385. **Amin MB**, Greene FL, Edge SB, *et al.* The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* 2017;67:93-9.
386. **Culjkovic B**, Borden KL. Understanding and Targeting the Eukaryotic Translation Initiation Factor eIF4E in Head and Neck Cancer. *J Oncol* 2009;2009:981679.
387. **Han M**, Wang W, Wang L, *et al.* Expression of eukaryotic initiation factor 4 E in hypopharyngeal carcinoma. *The Journal of international medical research* 2014;42:976-83.
388. **Patel V**, Ramesh A, Traicoff JL, *et al.* Profiling EGFR activity in head and neck squamous cell carcinoma by using a novel layered membrane Western blot technology. *Oral Oncol* 2005;41:503-8.

- 
389. **Adelstein DJ**, Ridge JA, Gillison ML, *et al.* Head and neck squamous cell cancer and the human papillomavirus: summary of a National Cancer Institute State of the Science Meeting, November 9-10, 2008, Washington, D.C. *Head Neck* 2009;31:1393-422.
390. **Peltenburg LT**. Radiosensitivity of tumor cells. Oncogenes and apoptosis. *The quarterly journal of nuclear medicine : official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine* 2000;44:355-64.
391. **Ragin CC**, Taioli E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2007;121:1813-20.
392. **Peterson LA**, Bellile EL, Wolf GT, *et al.* Cigarette use, comorbidities, and prognosis in a prospective head and neck squamous cell carcinoma population. *Head Neck* 2016;38:1810-20.
393. **Namboodiri AM**, Pandey JP. Differential inhibition of trastuzumab- and cetuximab-induced cytotoxicity of cancer cells by immunoglobulin G1 expressing different GM allotypes. *Clin Exp Immunol* 2011;166:361-5.
394. **Ferris RL**, Jaffee EM, Ferrone S. Tumor antigen-targeted, monoclonal antibody-based immunotherapy: clinical response, cellular immunity, and immunoescape. *J Clin Oncol* 2010;28:4390-9.
395. **Lee SC**, Srivastava RM, Lopez-Albaitero A, *et al.* Natural killer (NK): dendritic cell (DC) cross talk induced by therapeutic monoclonal antibody triggers tumor antigen-specific T cell immunity. *Immunol Res* 2011;50:248-54.

## **8. ACRONIMOS.**

**4EBP:** Eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 3-2; Proteína 3-2 ligada al factor eucariótico de traducción 4E.

**ADAM:** A Disintegrin And Metalloproteases; desintegrina y metaloproteasas.

**ADCC:** Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

**ADN:** Acido desoxirribonucleico.

**ARN:** Acido ribonucleico.

**ARNm:** ARN mensajero.

**AJCC:** American Joint Committee on Cancer Staging; comité conjunto estadounidense sobre el cáncer.

**ALK1:** Activin receptor-like kinase 1; quinasa homóloga del receptor de activina 1.

**APM:** Antigen-processing machinery; maquinaria de procesamiento de los antígenos.

**ARNm:** ARN mensajero.

**Cdk:** Cyclin-dependent kinase; quinasa dependiente de ciclina.

**CTC:** Criterios comunes de toxicidad.

**ECOG:** Eastern Cooperative Oncology Group; Grupo cooperativo de oncología del Este.

**EGF:** Epidermal growth factors; factores de crecimiento epidérmico.

**EGFR:** Epidermic Growth Factor Receptor; Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico.

**eIF4E:** Eukaryotic translation initiation factor 4E; Factor eucariótico de inicio de traducción 4E.

**eIF4F:** Eukaryotic initiation factor 4F; complejo de iniciación de traducción eucariótico 4F.

**eIF4G:** Eukaryotic translation initiation factor 4G; factor eucariótico de inicio de traducción 4G.

- EMT:** Epithelial mesenchymal transition; transición epitelio mesenquimal.
- EORTC:** European Organization for Radiation Therapy in Cancer; organización europea para el tratamiento radioterápico en cáncer.
- ERK:** Extracellular signal-regulated kinases; quinasas reguladas por señales extracelulares.
- FAK:** Focal adhesion kinase; quinasa de adhesión focal.
- FDA:** Food and Drug Administration; administración de los alimentos y medicamentos.
- FISH:** Fluorescence in situ hybridization; hibridación in situ con fluorescencia.
- GLI1:** Glioma associated oncogene family zinc finger 1; familia del oncogen dedo de zinc asociado a glioma.
- GPCR:** G protein-coupled receptor; receptor acoplado a proteínas G.
- Grb2:** Growth factor receptor bound 2; proteína ligada al receptor del factor de crecimiento 2.
- HB-EGF:** Heparin-binding EGF-like growth factor; factor de crecimiento homólogo al factor de crecimiento epidérmico ligado a la heparina.
- HGF:** Hepatocyte growth factor; factor de crecimiento hepatocitario.
- HGFR:** Hepatocyte growth factor receptor; receptor del factor de crecimiento hepatocitario.
- Hh:** Hedgehog.
- HIF-1:** Hypoxia-inducible factor 1; factor inducible por la hipoxia.
- HLA:** Human leukocyte antigen; antígenos leucocitarios humanos.
- HR:** Hazard ratio.
- IGF-1R:** Insulin like growth factor type 1 receptor; receptor del factor de crecimiento insulínico tipo 1.
- ILK:** Integrin-linked kinase; quinasa ligada a integrinas.

- iNOS:** Inducible nitric oxide synthase; sintasa inducible por óxido nítrico.
- JAK:** Janus kinases; janus quinasas.
- JNK:** Jun N-terminal kinase; quinasa c-Jun N-terminal.
- LENT:** Late Effects Normal Tissue; efectos tardíos en tejidos sanos.
- MALT:** Mucosa-associated lymphoid tissues; tejidos linfoides asociados a mucosas.
- MAPK:** Mitogen activated protein kinases; proteínas quinasas activadas por mitógenos.
- mTOR:** Mammalian target of rapamycin; diana de la rapamicina en mamíferos.
- NK:** Natural killers cells ; células *natural killers*.
- NRG:** Neuregulins; neuregulinas.
- PCR :** Polymerase chain reaction, Reacción en cadena de la polimerasa.
- PD-1:** Programmed death 1 receptor; receptor de muerte programada.
- PDK1:** 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1; proteína quinasa dependiente de 3-fosfoinositol 1.
- PD-L1:** Programmed death ligand 1; ligando de muerte programada 1.
- PI3K:** Phosphatidylinositol-3-kinase; fosfatidilinositol-3-quinasa.
- PIP3:** Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate; fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato.
- PKB (AKT):**Protein Kinase B; proteína quinasa B.
- PKC:** Protein kinase C; proteína quinasa C.
- PLC $\gamma$ :** Phospholipase C- $\gamma$ ; fosfolipasa C  $\gamma$ .
- pRb:** Retinoblastoma protein; proteína del retinoblastoma.
- PtdIns(4,5)P2:**Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; fosfatidilinositol 4,5-bifosfato.

**PTEN:** Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10; homólogo de la tensina y fosfatasa delecionado en el cromosoma 10.

**RECIST:** Response evaluation criteria in solid tumors; criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos.

**RTOG:** Radiation Therapy Oncology Group; grupo de oncología de tratamiento radioterápico.

**S6K1:** Ribosomal protein S6 kinase beta-1; proteína quinasa ribosomal S6 beta-1.

**SFK:** Src family of kinases; familia de quinasas Src.

**SGLT1:** Sodium-Glucose Linked Transporter; proteína transportadora de sodio/glucosa.

**Shc:** Src homology 2 domain containing; Src que contiene dominio de homología 2.

**SHh:** Sonic hedgehog.

**STAT:** Signal transducers and activators of transcription; transductores de señales y activadores de la transcripción.

**TCGA:** The Cancer Genoma Atlas; atlas del genoma del cáncer.

**TGF:** Transforming growth factor; factor de crecimiento transformante.

**TNF:** Tumoral Necrosis Factor; factor de necrosis tumoral.

**UICC:** Unión internacional contra el cáncer.

**uPAR:** Urokinase-type plasminogen activator receptor; receptor del plasminógeno activador tipo uroquinasa.

**VEGFR:** Vascular endothelial growth factor receptor; receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.

**VEGF:** Vascular endothelial growth factor; factor de crecimiento endotelial vascular.

**VPH:** Virus del Papiloma Humano.

## **9. TABLAS Y FIGURAS**

**Tabla 1. Diferencias entre las neoplasias de cabeza y cuello VPH (+) y VPH (-).**

<b>VPH (+)</b>	<b>VPH (-)</b>
Jóvenes	Adultos
Raza blanca	Otras razas
Nivel social alto	Nivel social bajo
Hábito sexual	Tabaco-alcohol
No diferencias entre sexos	Mayor incidencia en hombres
Orofaringe	Otras localizaciones
Estadios más avanzados	Estadios menos avanzados
Ausencia de mutaciones (p53, PTEN)	Mutaciones (p53, PTEN)
Incidencia en aumento	Disminución de incidencia
Mejor pronóstico	Peor pronóstico

**Tabla 2. Supervivencia a 5 años en el cáncer de cabeza y cuello según localización y estadio tumoral.<sup>1</sup>**

LOCALIZACIÓN	Supervivencia a 5 años				
	Global	E I	E II	E III	E IV
<b>CAVIDAD ORAL</b>					
-Porción móvil de la lengua	45%	80%	60%	30%	15%
-Suelo de la boca	50%	80%	70%	60%	30%
-Mucosa oral	45%	75%	65%	30	15%
-Trígono retromolar	60%	75%	70%	60	30%
-Encía inferior	65%	75%	60%	50	30%
-Labio	85%	90%	85%	70	60%
<b>OROFARINGE</b>					
-Amígdala	45%	90%	60%	40%	15%
-Base de la lengua	30%	60%	40%	20%	10%
-Pared faríngea	20%	50%	30%	20%	10%
-Paladar blando	50%	85%	60%	30%	15%
-Nasofarínge	45%	60%	40%	30%	15%
<b>LARINGE</b>					
-Glótica	85%	95	85	60	35
-Supraglótica	55%	65	65	55	40
<b>HIPOFARINGE</b>					
-Seno piriforme	25%	30%	20%	15%	5%
-Postcricoides	20%	DI	DI	DI	DI
<b>SENO MAXILAR</b>					
-Seno maxilar	25%	25%	-	15%	-

\*DI: Datos insuficientes.

**Tabla 3.1a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (global).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		193,70 (90,38)		213,88 (88,22)	
Edad*	59,16 (11,98)	-0,2408	0,0922	-0,137	0,3479
Sexo			0,2738		0,8291
- Hombre	43 (86,00)	200,81 (86,97)		214,05 (89,53)	
- Mujer	7 (14,00)	150,00 (105,7)		212,86 (86,55)	
Localización			0,9356		0,3641
- Cavidad oral	17 (34,00)	195,29 (100,1)		235,88 (68,20)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	188,33 (74,94)		180,00 (102,2)	
- Laringe	11 (22,00)	207,27 (95,93)		221,82 (79,35)	
- Orofaringe	14 (28,00)	186,07 (86,78)		212,31 (107,9)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	175,00 (134,4)		95,00 (7,07)	
Tabaquismo			0,4241		0,881
- No fumador	5 (10,00)	150,00 (119,6)		196,00 (99,40)	
- Fumador	25 (50,00)	213,40 (75,29)		217,08 (88,34)	
- Ex fumador	20 (40,00)	180,00 (98,41)		214,50 (89,65)	
Hábito enólico			0,4663		0,5815
- No bebedor	14 (29,17)	178,57 (101,7)		224,29 (86,71)	
- Bebedor	34 (70,83)	199,26 (89,0)		211,21 (89,78)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.1b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (global).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,1626		0,7037
- I	3 (6,00)	130,00 (147,3)		206,67 (127,0)	
- II	1 (2,00)	300,00 (-)		210,00 (-)	
- III	11 (22,00)	230,00 (79,37)		225,45 (90,92)	
- IVA	31 (62,00)	177,58 (86,07)		209,00 (89,34)	
- IVB	3 (6,00)	233,33 (90,74)		200,00 (91,65)	
- IVC	1 (2,00)	260,00 (-)		300,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	-0,0744	0,6079	0,0799	0,5854
SLP**	301,5 [176-483]	-0,0754	0,6718	0,1234	0,4938
Respuesta QTC			0,941		0,4908
- RC	19 (38,00)	204,47 (88,52)		215,00 (87,67)	
- RP	22 (44,00)	184,09 (104,3)		226,82 (88,23)	
- EE	4 (8,00)	207,50 (65,00)		202,50 (74,11)	
- PT	3 (6,00)	200,00 (52,92)		190,0 (138,9)	
- No evaluada	2 (4,00)	160,00 (70,71)		120,00 (28,28)	
Recidiva			0,4277		0,3962
- No	16 (32,00)	206,88 (85,61)		234,38 (66,93)	
- Sí	34 (68,00)	187,50 (93,13)		203,94 (96,24)	
Recidiva local			1		0,8547
- No	15 (44,12)	186,0 (107,02)		202,14 (90,40)	
- Sí	19 (55,88)	188,68 (83,60)		205,26 (102,8)	
Recidiva regional			0,8221		0,9131
- No	16 (47,06)	199,06 (77,12)		207,33 (97,94)	
- Sí	18 (52,94)	177,22 (106,5)		201,11 (97,55)	
Recidiva distancia			0,5234		0,5627
- No	21 (63,64)	173,81 (101,5)		202,86 (95,77)	
- Sí	12 (36,36)	203,33 (76,20)		224,55 (81,65)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.2a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (global).**

<b>Variab</b> les	<b>N (%)</b>	<b>4EBP1 <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>	<b>p4EBP1 <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		244,40 (55,11)		102,04 (96,28)	
Edad*	59,16 (11,98)	-0,1952	0,1744	-0,0435	0,7666
Sexo			0,3516		0,7853
- Hombre	43 (86,00)	248,37 (50,89)		103,81 (96,52)	
- Mujer	7 (14,00)	220,00 (76,59)		91,43 (101,72)	
Localización			0,8141		0,9746
- Cavidad oral	17 (34,00)	250,59 (46,97)		107,06 (94,13)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	231,67 (73,33)		76,00 (63,48)	
- Laringe	11 (22,00)	235,45 (56,28)		103,64 (102,10)	
- Orofaringe	14 (28,00)	243,57 (61,22)		102,14 (111,20)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	285,00 (21,21)		115,00 (134,40)	
Tabaquismo			0,1563		0,5629
- No fumador	5 (10,00)	232,00 (64,19)		110,00 (114,0)	
- Fumador	25 (50,00)	258,80 (52,31)		117,08 (102,4)	
- Ex fumador	20 (40,00)	229,50 (54,43)		82,00 (85,26)	
Hábito enólico			0,2388		0,2828
- No bebedor	14 (29,17)	229,29 (51,81)		80,00 (89,27)	
- Bebedor	34 (70,83)	249,12 (57,33)		108,79 (97,30)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.2b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (global).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,4779		0,0915
- I	3 (6,00)	210,00 (17,32)		53,33 (58,59)	
- II	1 (2,00)	300,00 (-)		20,00 (-)	
- III	11 (22,00)	240,91 (59,07)		114,55 (109,9)	
- IVA	31 (62,00)	244,19 (57,08)		114,19 (94,83)	
- IVB	3 (6,00)	256,67 (51,32)		6,67 (11,55)	
- IVC	1 (2,00)	300,00 (-)		---	
SG**	697,5 [399-1116]	0,0042	0,9770	0,006	0,9672
SLP**	301,5 [176-483]	-0,0679	0,7030	0,1657	0,3569
Respuesta QTC			0,6343		0,2304
- RC	19 (38,00)	247,89 (66,46)		105,3 (103,7)	
- RP	22 (44,00)	239,09 (41,74)		75,71 (73,86)	
- EE	4 (8,00)	252,50 (70,89)		110,00 (130,4)	
- PT	3 (6,00)	266,67 (57,74)		210,00 (88,88)	
- No evaluada	2 (4,00)	220,00 (84,85)		170,00 (127,3)	
Recidiva			0,1626		0,2392
- No	16 (32,00)	225,63 (66,23)		86,88 (101,31)	
- Sí	34 (68,00)	253,24 (47,59)		109,39 (94,47)	
Recidiva local			0,9713		0,6239
- No	15 (44,12)	252,00 (47,39)		94,00 (83,31)	
- Sí	19 (55,88)	254,21 (49,03)		122,22 (103,4)	
Recidiva regional			0,0158		0,1636
- No	16 (47,06)	273,75 (38,62)		135,00 (98,12)	
- Sí	18 (52,94)	235,00 (48,29)		85,29 (86,90)	
Recidiva distancia			0,1129		0,2092
- No	21 (63,64)	244,29 (44,34)		90,00 (92,36)	
- Sí	12 (36,36)	265,00 (52,14)		129,09 (81,54)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.3a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (global).**

Variables	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		168,80 (69,42)		45,90 (43,84)	
Edad*	59,16 (11,98)	0,0380	0,7932	0,0271	0,8518
Sexo			0,7678		0,8881
- Hombre	43 (86,00)	170,23 (71,33)		45,93 (44,72)	
- Mujer	7 (14,00)	160,00 (60,28)		45,71 (41,17)	
Localización			0,8004		<b>0,0204</b>
- Cavidad oral	17 (34,00)	180,59 (77,66)		59,41 (34,73)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	181,67 (64,32)		38,33 (28,58)	
- Laringe	11 (22,00)	152,73 (76,43)		47,27 (39,77)	
- Orofaringe	14 (28,00)	165,71 (63,09)		26,07 (49,39)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	140,00 (28,28)		85,00 (106,10)	
Tabaquismo			0,4948		0,7714
- No fumador	5 (10,00)	174,00 (49,80)		44,00 (49,80)	
- Fumador	25 (50,00)	159,20 (60,82)		45,00 (48,39)	
- Ex fumador	20 (40,00)	179,50 (83,57)		47,50 (38,37)	
Hábito enólico			1,0000		0,9545
- No bebedor	14 (29,17)	169,29 (85,44)		48,57 (46,22)	
- Bebedor	34 (70,83)	169,71 (65,20)		45,15 (44,53)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.3b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (global).**

Variables	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,2598		0,9572
- I	3 (6,00)	220,00 (69,28)		66,67 (61,10)	
- II	1 (2,00)	200,00 (-)		20,00 (-)	
- III	11 (22,00)	178,18 (52,69)		43,64 (40,56)	
- IVA	31 (62,00)	162,58 (73,66)		43,39 (41,82)	
- IVB	3 (6,00)	106,67 (50,33)		73,33 (80,83)	
- IVC	1 (2,00)	260,00 (-)		30,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	-0,0362	0,8030	-0,0233	0,8724
SLP**	301,5 [176-483]	-0,0608	0,7327	-0,1052	0,5537
Respuesta QTC			0,5513		0,3516
- RC	19 (38,00)	184,21 (62,92)		37,89 (33,43)	
- RP	22 (44,00)	164,09 (82,85)		52,95 (50,30)	
- EE	4 (8,00)	157,50 (46,46)		72,50 (59,65)	
- PT	3 (6,00)	150,00 (26,46)		13,33 (23,09)	
- No evaluada	2 (4,00)	125,00 (49,50)		40,00 (28,28)	
Recidiva			0,2631		0,6756
- No	16 (32,00)	180,00 (62,50)		35,63 (25,02)	
- Sí	34 (68,00)	163,53 (72,73)		50,74 (49,94)	
Recidiva local			0,5305		0,9861
- No	15 (44,12)	154,67 (82,36)		49,33 (47,13)	
- Sí	19 (55,88)	170,53 (65,61)		51,84 (53,31)	
Recidiva regional			0,7030		0,3229
- No	16 (47,06)	153,13 (73,91)		41,88 (46,94)	
- Sí	18 (52,94)	172,78 (72,50)		58,61 (52,52)	
Recidiva distancia			0,9551		0,2435
- No	21 (63,64)	164,76 (71,11)		61,67 (55,26)	
- Sí	12 (36,36)	160,00 (81,46)		35,00 (35,80)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.4a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (global).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>pMAPK <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		92,80 (76,78)	
Edad*	59,16 (11,98)	0,0526	0,7166
Sexo			0,5558
- Hombre	43 (86,00)	92,09 (79,49)	
- Mujer	7 (14,00)	97,14 (62,37)	
Localización			0,2333
- Cavidad oral	17 (34,00)	82,35 (52,15)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	108,33 (63,38)	
- Laringe	11 (22,00)	105,45 (102,5)	
- Orofaringe	14 (28,00)	101,07 (87,49)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	7,50 (10,61)	
Tabaquismo			0,6290
- No fumador	5 (10,00)	94,00 (75,37)	
- Fumador	25 (50,00)	79,60 (65,49)	
- Ex fumador	20 (40,00)	109,00 (89,91)	
Hábito enólico			0,2600
- No bebedor	14 (29,17)	118,57 (84,02)	
- Bebedor	34 (70,83)	86,76 (72,61)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.4b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (global).**

Variables	N (%)	pMAPK $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,1477
- I	3 (6,00)	46,67 (37,86)	
- II	1 (2,00)	30,00 (-)	
- III	11 (22,00)	103,18 (98,50)	
- IVA	31 (62,00)	98,55 (69,22)	
- IVB	3 (6,00)	20,00 (17,32)	
- IVC	1 (2,00)	220,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	-0,1469	0,3087
SLP**	301,5 [176-483]	-0,0435	0,8072
Respuesta QTC			0,1396
- RC	19 (38,00)	115,00 (83,85)	
- RP	22 (44,00)	95,68 (75,06)	
- EE	4 (8,00)	32,50 (34,03)	
- PT	3 (6,00)	53,33 (32,15)	
- No evaluada	2 (4,00)	30,00 (42,43)	
Recidiva			<b>0,0379</b>
- No	16 (32,00)	124,06 (76,75)	
- Sí	34 (68,00)	78,09 (73,34)	
Recidiva local			0,9029
- No	15 (44,12)	81,00 (80,00)	
- Sí	19 (55,88)	75,79 (69,79)	
Recidiva regional			0,5672
- No	16 (47,06)	80,00 (66,63)	
- Sí	18 (52,94)	76,39 (80,73)	
Recidiva distancia			0,7924
- No	21 (63,64)	78,33 (72,69)	
- Sí	12 (36,36)	79,17 (80,62)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.5a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (global).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>PTEN <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		27,14 (33,10)	
Edad*	59,16 (11,98)	-0,2055	0,1566
Sexo			0,0850
- Hombre	43 (86,00)	30,24 (34,32)	
- Mujer	7 (14,00)	8,57 (15,74)	
Localización			0,5706
- Cavidad oral	17 (34,00)	16,47 (24,48)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	26,67 (34,45)	
- Laringe	11 (22,00)	32,73 (39,52)	
- Orofaringe	14 (28,00)	33,85 (34,04)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	45,00 (63,64)	
Tabaquismo			0,1446
- No fumador	5 (10,00)	4,00 (8,94)	
- Fumador	25 (50,00)	30,00 (34,26)	
- Ex fumador	20 (40,00)	29,50 (34,26)	
Hábito enólico			0,4585
- No bebedor	14 (29,17)	21,43 (31,34)	
- Bebedor	34 (70,83)	25,45 (30,63)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.5b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (global).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>PTEN <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Estadio			0,5147
- I	3 (6,00)	16,67 (28,87)	
- II	1 (2,00)	0 (-)	
- III	11 (22,00)	32,73 (35,24)	
- IVA	31 (62,00)	26,00 (33,38)	
- IVB	3 (6,00)	16,67 (15,28)	
- IVC	1 (2,00)	90,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	0,1388	0,3415
SLP**	301,5 [176-483]	-0,2161	0,2272
Respuesta QTC			0,7617
- RC	19 (38,00)	20,56 (21,27)	
- RP	22 (44,00)	33,18 (37,97)	
- EE	4 (8,00)	30,00 (47,61)	
- PT	3 (6,00)	6,67 (11,55)	
- No evaluada	2 (4,00)	45,00 (63,64)	
Recidiva			0,2587
- No	16 (32,00)	16,88 (21,52)	
- Sí	34 (68,00)	32,12 (36,72)	
Recidiva local			0,5591
- No	15 (44,12)	30,71 (40,09)	
- Sí	19 (55,88)	33,16 (35,13)	
Recidiva regional			0,8079
- No	16 (47,06)	30,00 (30,71)	
- Sí	18 (52,94)	33,89 (41,89)	
Recidiva distancia			0,2325
- No	21 (63,64)	27,62 (37,54)	
- Sí	12 (36,36)	40,91 (37,00)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.6a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (global).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>p53 <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		42,70 (39,61)	
Edad*	59,16 (11,98)	-0,2254	0,1156
Sexo			0,3789
- Hombre	43 (86,00)	45,70 (40,23)	
- Mujer	7 (14,00)	24,29 (32,07)	
Localización			0,3704
- Cavity oral	17 (34,00)	46,53 (41,61)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	65,00 (24,29)	
- Laringe	11 (22,00)	44,09 (43,41)	
- Orofaringe	14 (28,00)	22,79 (35,59)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	75,00 (7,07)	
Tabaquismo			0,7827
- No fumador	5 (10,00)	30,00 (36,74)	
- Fumador	25 (50,00)	48,64 (38,50)	
- Ex fumador	20 (40,00)	38,45 (42,22)	
Hábito enólico			0,5416
- No bebedor	14 (29,17)	43,07 (38,46)	
- Bebedor	34 (70,83)	39,47 (39,61)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.6b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (global).**

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,2858
- I	3 (6,00)	63,33 (46,19)	
- II	1 (2,00)	0 (-)	
- III	11 (22,00)	50,45 (44,86)	
- IVA	31 (62,00)	37,26 (37,63)	
- IVB	3 (6,00)	58,33 (46,46)	
- IVC	1 (2,00)	60,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	0,1189	0,4108
SLP**	301,5 [176-483]	-0,1615	0,3615
Respuesta QTC			0,5195
- RC	19 (38,00)	33,79 (36,71)	
- RP	22 (44,00)	41,95 (42,70)	
- EE	4 (8,00)	57,50 (40,31)	
- PT	3 (6,00)	66,67 (32,15)	
- No evaluada	2 (4,00)	70,00 (42,43)	
Recidiva			0,2413
- No	16 (32,00)	28,69 (34,02)	
- Sí	34 (68,00)	49,29 (40,79)	
Recidiva local			0,1456
- No	15 (44,12)	38,33 (40,96)	
- Sí	19 (55,88)	57,95 (39,58)	
Recidiva regional			0,1335
- No	16 (47,06)	37,56 (41,97)	
- Sí	18 (52,94)	59,72 (37,83)	
Recidiva distancia			0,2195
- No	21 (63,64)	53,62 (40,28)	
- Sí	12 (36,36)	39,17 (42,52)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.7a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (global).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>Ki67 <math>\bar{x}</math> (<i>sd</i>)</b>	<b>p-valor</b>
Total		61,84 (26,82)	
Edad*	59,16 (11,98)	-0,1841	0,2055
Sexo			0,6002
- Hombre	43 (86,00)	63,02 (26,05)	
- Mujer	7 (14,00)	53,33 (33,27)	
Localización			0,3587
- Cavity oral	17 (34,00)	54,38 (23,37)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	68,33 (24,83)	
- Laringe	11 (22,00)	58,18 (26,39)	
- Orofaringe	14 (28,00)	67,86 (32,62)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	80,00 (0)	
Tabaquismo			0,5826
- No fumador	5 (10,00)	52,50 (32,02)	
- Fumador	25 (50,00)	67,20 (23,72)	
- Ex fumador	20 (40,00)	57,00 (29,40)	
Hábito enólico			0,5890
- No bebedor	14 (29,17)	55,38 (34,55)	
- Bebedor	34 (70,83)	63,53 (24,11)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (*sd*): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

**Tabla 3.7b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (global).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,4724
- I	3 (6,00)	45,00 (21,21)	
- II	1 (2,00)	80,00 (-)	
- III	11 (22,00)	59,09 (27,37)	
- IVA	31 (62,00)	60,97 (28,33)	
- IVB	3 (6,00)	83,33 (5,77)	
- IVC	1 (2,00)	70,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	-0,1691	0,2455
SLP**	301,5 [176-483]	-0,3434	0,0504
Respuesta QTC			0,5672
- RC	19 (38,00)	64,21 (27,55)	
- RP	22 (44,00)	63,33 (27,81)	
- EE	4 (8,00)	62,50 (17,08)	
- PT	3 (6,00)	36,67 (28,87)	
- No evaluada	2 (4,00)	60,00 (28,28)	
Recidiva			0,6901
- No	16 (32,00)	57,50 (30,88)	
- Sí	34 (68,00)	63,94 (24,87)	
Recidiva local			0,1073
- No	15 (44,12)	70,71 (24,01)	
- Sí	19 (55,88)	58,95 (24,92)	
Recidiva regional			0,8548
- No	16 (47,06)	62,50 (27,20)	
- Sí	18 (52,94)	65,29 (23,22)	
Recidiva distancia			0,2132
- No	21 (63,64)	59,00 (26,34)	
- Sí	12 (36,36)	71,67 (22,09)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 3.8a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (global).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>p16 <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		13,70 (29,48)	
Edad*	59,16 (11,98)	-0,0254	0,8610
Sexo			0,0834
- Hombre	43 (86,00)	11,40 (27,37)	
- Mujer	7 (14,00)	27,86 (39,78)	
Localización			0,4097
- Cavidad oral	17 (34,00)	5,29 (14,94)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	17,50 (31,58)	
- Laringe	11 (22,00)	4,55 (10,36)	
- Orofaringe	14 (28,00)	31,43 (44,70)	
- Ad. cervicales	2 (4,00)	0 (0)	
Tabaquismo			0,8038
- No fumador	5 (10,00)	19,00 (39,75)	
- Fumador	25 (50,00)	15,20 (29,74)	
- Ex fumador	20 (40,00)	10,50 (27,76)	
Hábito enólico			0,9662
- No bebedor	14 (29,17)	16,07 (34,43)	
- Bebedor	34 (70,83)	13,53 (28,46)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Tabla 3.8b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (global).

Variables	N (%)	p16 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,3186
- I	3 (6,00)	0 (0)	
- II	1 (2,00)	0 (0)	
- III	11 (22,00)	23,64 (32,33)	
- IVA	31 (62,00)	9,84 (27,06)	
- IVB	3 (6,00)	33,33 (57,74)	
- IVC	1 (2,00)	20,00 (-)	
SG**	697,5 [399-1116]	0,0889	0,5391
SLP**	301,5 [176-483]	0,0086	0,9616
Respuesta QTC			0,0232
- RC	19 (38,00)	30,53 (40,72)	
- RP	22 (44,00)	1,82 (5,88)	
- EE	4 (8,00)	1,25 (2,50)	
- PT	3 (6,00)	20,00 (34,64)	
- No evaluada	2 (4,00)	0 (0)	
Recidiva			<b>0,0025</b>
- No	16 (32,00)	29,69 (40,80)	
- Sí	34 (68,00)	6,18 (18,75)	
Recidiva local			0,9103
- No	15 (44,12)	7,33 (23,44)	
- Sí	19 (55,88)	5,26 (14,67)	
Recidiva regional			0,4836
- No	16 (47,06)	10,63 (26,20)	
- Sí	18 (52,94)	2,22 (6,47)	
Recidiva distancia			0,2075
- No	21 (63,64)	1,90 (6,02)	
- Sí	12 (36,36)	14,17 (29,68)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral.

**Tabla 4.1. Comparación entre pacientes con tumores ORL localmente avanzados tratados con RT-cetuximab vs. RT-cisplatino.**

Variable	RT-cetuximab	RT-cisplatino	p-valor
	N (%)	N (%)	
Localización			0,8704
- Cavidad oral	6 (35,29)	7 (36,84)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	2 (10,53)	
- Laringe	3 (17,66)	2 (10,53)	
- Orofaringe	6 (35,29)	7 (36,84)	
- Ad. cervicales	0 (0)	1 (5,26)	
Estadio			0,1557
- I	0 (0)	1 (5,26)	
- III	5 (29,41)	2 (10,53)	
- IVA	12 (70,59)	13 (68,42)	
- IVB	0 (0)	3 (15,79)	
Respuesta QTC			0,7456
- RC	9 (52,94)	10 (52,63)	
- RP	6 (35,29)	8 (42,11)	
- EE	1 (5,88)	1 (5,26)	
- No evaluada	1 (5,88)	0 (0)	
SG**	462 [237 - 638]	715 [399 - 979]	0,1449
SLP**	277 [218 - 345]	292 [109 - 584]	0,7040

N: Frecuencia, %: Porcentaje. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [Rango intercuartil = p<sub>25</sub>-p<sub>75</sub>]. RT: Radioterapia.

**Tabla 4.2. Comparación entre pacientes con tumores ORL localmente avanzados tratados con RT-cetuximab vs. RT-cisplatino.**

Variable	RT-cetuximab	RT-cisplatino	p-valor
	N (%)	N (%)	
Recidiva			0,7652
- No	8 (47,06)	8 (42,11)	
- Sí	9 (52,94)	11 (57,89)	
Recidiva local			1,0000
- No	4 (44,44)	5 (45,45)	
- Sí	5 (55,56)	6 (54,55)	
Recidiva regional			1,0000
- No	4 (44,44)	6 (54,55)	
- Sí	5 (55,56)	5 (45,45)	
Recidiva a distancia			1,0000
- No	6 (75,00)	8 (72,73)	
- Sí	2 (25,00)	3 (27,27)	
IHQ			
- 4EBP1*	247,06 (57,96)	237,89 (57,89)	0,6614
- eIF4E*	214,41 (91,21)	193,68 (85,13)	0,4164
- mTOR*	170,00 (66,43)	174,21 (66,86)	0,9872
- pmTOR*	27,94 (17,77)	66,32 (50,79)	<b>0,0200</b>
- p4EBP1*	154,71 (104,05)	37,37 (40,80)	<b>0,0003</b>
- p53*	33,88 (36,92)	36,26 (40,72)	0,6167
- Ki67*	63,53 (25,48)	62,63 (28,64)	0,9362
- p16*	7,35 (15,92)	25,26 (41,42)	0,7338
- peIF4E*	194,38 (99,40)	252,11 (57,11)	0,0870
- pMAPK*	100,88 (72,07)	115,79 (85,13)	0,7626
- PTEN*	16,25 (30,96)	24,21 (23,17)	0,0959

N: Frecuencia, %: Porcentaje. \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. ORL: otorrinolaringológicos. RT: Radioterapia.

**Tabla 5. Descriptivo de variables inmunohistoquímicas en el total de pacientes y por subgrupos.**

<b>Variables</b>	<b>Total <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>A (RT-CTX) <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>B (CTX) <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>C (RT-CDDP) <math>\bar{x}</math> (sd)</b>
<b>eIF4E</b>	193,70 (d,e 90,38)	214,41 (d,e 91,21)	169,41 (d,e 92,50)	193,68 (d,e 85,13)
<b>peIF4E</b>	213,88 (d,e 88,22)	194,38 (d,e 99,40)	201,76 (d,e 95,28)	252,11 (d,e 57,11)
<b>4EBP1</b>	244,40 (d,e 55,11)	247,06 (d,e 57,96)	257,65 (d,e 48,93)	237,89 (d,e 57,89)
<b>p4EBP1</b>	102,04 (d,e 96,28)	154,71 (d,e 104,1)	123,75 (d,e 85,08)	37,37 (d,e 40,80)
<b>mTOR</b>	168,80 (d,e 69,42)	170,00 (d,e 66,43)	152,94 (d,e 78,16)	174,21 (d,e 66,86)
<b>pmTOR</b>	45,90 (d,e 43,84)	27,94 (d,e 17,77)	43,53 (d,e 43,72)	66,32 (d,e 50,79)
<b>pMAPK</b>	92,80 (d,e 76,78)	100,88 (d,e 72,07)	65,59 (d,e 68,14)	115,79 (d,e 85,13)
<b>PTEN</b>	27,14 (d,e 33,10)	16,25 (d,e 30,96)	41,76 (d,e 39,88)	24,21 (d,e 23,17)
<b>p53</b>	42,70 (d,e 39,61)	33,88 (d,e 36,92)	54,12 (d,e 39,22)	36,26 (d,e 40,72)
<b>Ki67</b>	61,84 (d,e 26,82)	63,53 (d,e 25,48)	55,00 (d,e 27,57)	62,63 (d,e 28,64)
<b>p16</b>	13,70 (d,e 29,48)	7,35 (d,e 15,92)	5,88 (d,e 15,43)	25,26 (d,e 41,42)

RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab. CDDP: Cisplatino. Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar).

**Tabla 6.1a. Análisis descriptivo y relación con las variables eIF4E y pEIF4E, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		214,41 (91,21)		194,38 (99,40)	
Edad*	61,53 (14,92)	-0,2634	0,3071	-0,0479	0,8601
Sexo			0,4541		0,5217
- Hombre	15 (88,24)	219,67 (93,01)		197,86 (105,6)	
- Mujer	2 (11,76)	175,00 (91,92)		170,00 (42,43)	
Localización			0,4476		0,3282
- Cavityad oral	6 (35,29)	240,00 (71,27)		238,33 (61,45)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	150,00 (127,3)		135,00 (63,64)	
- Laringe	3 (17,65)	260,00 (52,92)		246,67 (50,33)	
- Orofaringe	6 (35,29)	187,50 (112,3)		134,00 (137,0)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--		--	
Tabaquismo			0,2541		0,5373
- No fumador	2 (11,76)	175,00 (91,92)		170,00 (42,43)	
- Fumador	9 (52,94)	247,22 (70,32)		203,75 (125,3)	
- Ex fumador	6 (35,30)	178,33 (113,6)		190,00 (82,95)	
Hábito enólico			0,5696		1,0000
- No bebedor	4 (23,53)	207,50 (72,74)		210,00 (66,33)	
- Bebedor	13 (76,47)	216,54 (98,73)		189,17 (110,2)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.1b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,2663		0,7751
- I/II	0	0		0	
- III	5 (29,41)	240,00 (92,74)		202,00 (109,6)	
- IVA	12 (70,59)	203,75 (92,47)		190,91 (99,85)	
SG**	462 [237-638]	0,0233	0,9294	-0,0423	0,8763
SLP**	277 [218-345]	0,3683	0,3295	0,0083	0,9844
Respuesta QTC			0,7241		0,6543
- RC	9 (52,95)	225,00 (91,92)		178,75 (111,2)	
- RP	6 (35,29)	211,67 (102,8)		223,33 (101,7)	
- EE	1 (5,88)	240,00 (-)		200,00 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	110,00 (-)		140,00 (-)	
Recidiva			0,4686		0,7911
- No	8 (47,06)	195,00 (96,51)		211,25 (76,99)	
- Sí	9 (52,94)	231,67 (88,18)		177,50 (120,8)	
Recidiva local			0,3231		0,4534
- No	4 (44,44)	265,00 (47,26)		246,67 (50,33)	
- Sí	5 (55,56)	205,00 (108,9)		136,00 (136,1)	
Recidiva regional			0,8049		0,3683
- No	4 (44,44)	246,25 (35,91)		116,67 (132,0)	
- Sí	5 (55,56)	220,00 (119,2)		214,00 (111,3)	
Recidiva distancia			0,7358		0,8008
- No	6 (75,00)	223,33 (106,9)		193,33 (111,7)	
- Sí	2 (25,00)	230,00 (42,43)		260,00 (-)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.2a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		247,06 (57,96)		154,71 (104,1)	
Edad*	61,53 (14,92)	0,0128	0,9613	0,1183	0,6512
Sexo			0,8784		0,5991
- Hombre	15 (88,24)	249,33 (55,61)		150,0 (102,19)	
- Mujer	2 (11,76)	230,00 (98,99)		190,0 (155,56)	
Localización			0,9740		0,8393
- Cavity oral	6 (35,29)	250,00 (60,33)		156,67 (111,5)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	275,00 (7,07)		95,00 (91,92)	
- Laringe	3 (17,65)	236,67 (65,06)		170,00 (141,1)	
- Orofaringe	6 (35,29)	240,00 (70,43)		165,00 (104,3)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--		--	
Tabaquismo			0,9541		0,7106
- No fumador	2 (11,76)	230,00 (98,99)		190,0 (155,56)	
- Fumador	9 (52,94)	245,56 (61,87)		162,22 (108,1)	
- Ex fumador	6 (35,30)	255,00 (49,70)		131,67 (99,28)	
Hábito enólico			0,2957		0,8641
- No bebedor	4 (23,53)	217,50 (65,51)		147,50 (123,7)	
- Bebedor	13 (76,47)	256,15 (55,01)		156,92 (102,9)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.2b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,3579		0,3667
- I/II	0	0		0	
- III	5 (29,41)	226,00 (69,86)		116,00 (124,0)	
- IVA	12 (70,59)	255,83 (53,16)		170,83 (95,87)	
SG**	462 [237-638]	-0,2131	0,4116	-0,0159	0,9518
SLP**	277 [218-345]	0,2955	0,4401	0,4687	0,2032
Respuesta QTC			0,0708		0,2853
- RC	9 (52,95)	267,78 (59,11)		178,89 (103,1)	
- RP	6 (35,29)	221,67 (39,20)		106,67 (92,01)	
- EE	1 (5,88)	300,00 (-)		300,00 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	160,00 (-)		80,00 (-)	
Recidiva			0,9606		0,8085
- No	8 (47,06)	242,50 (68,82)		161,25 (94,93)	
- Sí	9 (52,94)	251,11 (50,36)		148,89 (116,9)	
Recidiva local			1,0000		0,5369
- No	4 (44,44)	242,50 (67,52)		127,50 (131,5)	
- Sí	5 (55,56)	258,00 (38,99)		166,00 (116,5)	
Recidiva regional			0,4529		0,7110
- No	4 (44,44)	267,50 (47,17)		172,50 (111,7)	
- Sí	5 (55,56)	238,00 (54,04)		130,00 (130,4)	
Recidiva distancia			0,866		0,6150
- No	6 (75,00)	243,33 (50,07)		113,33 (123,6)	
- Sí	2 (25,00)	250,00 (70,71)		180,00 (28,28)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.3a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		170,00 (66,43)		27,94 (17,77)	
Edad*	61,53 (14,92)	0,1539	0,5555	0,5265	0,0299
Sexo			1,0000		0,0820
- Hombre	15 (88,24)	172,00 (66,35)		25,00 (16,37)	
- Mujer	2 (11,76)	155,00 (91,92)		50,00 (14,14)	
Localización			0,3922		<b>0,0160</b>
- Cavityad oral	6 (35,29)	201,67 (67,06)		38,33 (14,72)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	165,00 (106,1)		30,00 (14,14)	
- Laringe	3 (17,65)	163,33 (76,38)		40,00 (17,32)	
- Orofaringe	6 (35,29)	143,33 (54,28)		10,83 (8,01)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--		--	
Tabaquismo			0,6804		<b>0,0266</b>
- No fumador	2 (11,76)	155,00 (91,92)		50,00 (14,14)	
- Fumador	9 (52,94)	163,33 (43,01)		18,33 (15,00)	
- Ex fumador	6 (35,30)	185,00 (95,03)		35,00 (13,78)	
Hábito enólico			0,3606		0,0958
- No bebedor	4 (23,53)	142,50 (68,50)		40,00 (14,14)	
- Bebedor	13 (76,47)	178,46 (66,19)		24,23 (17,54)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.3b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,8732		0,9148
- I/II	0	0		0	
- III	5 (29,41)	160,00 (62,05)		30,00 (17,32)	
- IVA	12 (70,59)	174,17 (70,38)		27,08 (18,64)	
SG**	462 [237-638]	-0,0682	0,7947	0,0823	0,7535
SLP**	277 [218-345]	0,4695	0,2023	0,8656	<b>0,0026</b>
Respuesta QTC			0,3236		0,2097
- RC	9 (52,95)	188,89 (65,85)		28,89 (19,00)	
- RP	6 (35,29)	146,67 (64,08)		19,17 (10,21)	
- EE	1 (5,88)	220,00 (-)		40,00 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	90,00 (-)		60,00 (-)	
Recidiva			0,1739		<b>0,0191</b>
- No	8 (47,06)	191,25 (69,58)		37,50 (12,82)	
- Sí	9 (52,94)	151,11 (61,12)		19,44 (17,76)	
Recidiva local			0,3873		0,3812
- No	4 (44,44)	172,50 (65,00)		27,50 (25,00)	
- Sí	5 (55,56)	134,00 (58,99)		13,00 (6,71)	
Recidiva regional			0,8049		0,1688
- No	4 (44,44)	162,50 (49,24)		10,00 (8,16)	
- Sí	5 (55,56)	142,00 (73,62)		27,00 (20,49)	
Recidiva distancia			0,5024		0,1243
- No	6 (75,00)	133,33 (69,19)		25,83 (18,55)	
- Sí	2 (25,00)	190,00 (14,14)		5,00 (7,07)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.4a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (RT-CTX).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>pMAPK <math>\bar{x}</math> (<i>sd</i>)</b>	<b>p-valor</b>
Total		100,88 (72,07)	
Edad*	61,53 (14,92)	0,1591	0,5420
Sexo			0,5495
- Hombre	15 (88,24)	105,00 (75,95)	
- Mujer	2 (11,76)	70,00 (14,14)	
Localización			<b>0,0466</b>
- Cavidad oral	6 (35,29)	105,00 (43,70)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	90,00 (42,43)	
- Laringe	3 (17,65)	203,33 (70,24)	
- Orofaringe	6 (35,29)	49,17 (52,95)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--	
Tabaquismo			0,6231
- No fumador	2 (11,76)	70,00 (14,14)	
- Fumador	9 (52,94)	93,89 (70,08)	
- Ex fumador	6 (35,30)	121,67 (87,96)	
Hábito enólico			0,5319
- No bebedor	4 (23,53)	120,00 (66,83)	
- Bebedor	13 (76,47)	95,00 (75,17)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (*sd*): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.4b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (RT-CTX).**

VARIABLES	N (%)	pMAPK $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,6340
- I/II	0	0	
- III	5 (29,41)	129,00 (108,9)	
- IVA	12 (70,59)	89,17 (52,30)	
SG**	462 [237-638]	0,3398	0,1820
SLP**	277 [218-345]	0,7994	<b>0,0097</b>
Respuesta QTC			0,8539
- RC	9 (52,95)	117,22 (89,90)	
- RP	6 (35,29)	86,67 (50,46)	
- EE	1 (5,88)	80,00 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	60,00 (-)	
Recidiva			0,5623
- No	8 (47,06)	108,13 (66,22)	
- Sí	9 (52,94)	94,44 (80,33)	
Recidiva local			0,3893
- No	4 (44,44)	130,00 (104,2)	
- Sí	5 (55,56)	66,00 (49,80)	
Recidiva regional			0,5386
- No	4 (44,44)	70,00 (50,33)	
- Sí	5 (55,56)	114,00 (99,65)	
Recidiva distancia			1,0000
- No	6 (75,00)	105,00 (91,82)	
- Sí	2 (25,00)	80,00 (84,85)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.5a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	PTEN $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		16,25 (30,96)	
Edad*	61,53 (14,92)	-0,4772	0,0616
Sexo			0,3147
- Hombre	15 (88,24)	18,57 (32,55)	
- Mujer	2 (11,76)	0 (0)	
Localización			0,0432
- Cavity oral	6 (35,29)	3,33 (8,16)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	10,00 (14,14)	
- Laringe	3 (17,65)	0 (0)	
- Orofaringe	6 (35,29)	44,00 (45,06)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--	
Tabaquismo			0,0896
- No fumador	2 (11,76)	0 (0)	
- Fumador	9 (52,94)	30,00 (39,64)	
- Ex fumador	6 (35,30)	3,33 (8,16)	
Hábito enólico			0,1084
- No bebedor	4 (23,53)	0 (0)	
- Bebedor	13 (76,47)	21,67 (34,33)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.5b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	PTEN $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,9480
- I/II	0	0	
- III	5 (29,41)	10,00 (14,14)	
- IVA	12 (70,59)	19,09 (36,46)	
SG**	462 [237-638]	0,0284	0,9169
SLP**	277 [218-345]	-0,4118	0,3108
Respuesta QTC			0,6357
- RC	9 (52,95)	10,10 (14,14)	
- RP	6 (35,29)	30,00 (46,90)	
- EE	1 (5,88)	0 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	0 (-)	
Recidiva			0,2507
- No	8 (47,06)	6,25 (11,88)	
- Sí	9 (52,94)	26,25 (41,04)	
Recidiva local			0,0806
- No	4 (44,44)	0 (0)	
- Sí	5 (55,56)	42,00 (46,04)	
Recidiva regional			0,2039
- No	4 (44,44)	30,00 (10,00)	
- Sí	5 (55,56)	24,00 (53,67)	
Recidiva distancia			0,4079
- No	6 (75,00)	23,33 (48,03)	
- Sí	2 (25,00)	40,00 (-)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.6a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		33,88 (36,92)	
Edad*	61,53 (14,92)	-0,4652	0,0599
Sexo			0,5414
- Hombre	15 (88,24)	35,73 (38,33)	
- Mujer	2 (11,76)	20,00 (28,28)	
Localización			0,1675
- Cavidad oral	6 (35,29)	16,83 (26,46)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	80,00 (14,14)	
- Laringe	3 (17,65)	45,00 (35,00)	
- Orofaringe	6 (35,29)	30,00 (42,90)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--	
Tabaquismo			0,6064
- No fumador	2 (11,76)	20,00 (28,28)	
- Fumador	9 (52,94)	43,33 (40,31)	
- Ex fumador	6 (35,30)	24,33 (35,42)	
Hábito enólico			0,8166
- No bebedor	4 (23,53)	42,50 (30,96)	
- Bebedor	13 (76,47)	31,23 (39,31)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.6b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,7460
- I/II	0	0	
- III	5 (29,41)	33,00 (39,94)	
- IVA	12 (70,59)	34,25 (37,45)	
SG**	462 [237-638]	0,0514	0,8446
SLP**	277 [218-345]	-0,1063	0,7855
Respuesta QTC			0,4023
- RC	9 (52,95)	41,78 (37,11)	
- RP	6 (35,29)	26,67 (41,79)	
- EE	1 (5,88)	0 (0)	
- No evaluada	1 (5,88)	40,00 (-)	
Recidiva			0,8438
- No	8 (47,06)	30,13 (30,57)	
- Sí	9 (52,94)	37,22 (43,38)	
Recidiva local			0,3684
- No	4 (44,44)	18,75 (34,25)	
- Sí	5 (55,56)	52,00 (47,64)	
Recidiva regional			1,0000
- No	4 (44,44)	42,50 (49,24)	
- Sí	5 (55,56)	33,00 (43,53)	
Recidiva distancia			0,2108
- No	6 (75,00)	42,50 (45,36)	
- Sí	2 (25,00)	0 (0)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.7a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		63,53 (25,48)	
Edad*	61,53 (14,92)	-0,3126	0,2218
Sexo			0,1953
- Hombre	15 (88,24)	66,67 (25,54)	
- Mujer	2 (11,76)	40,00 (0)	
Localización			0,3166
- Cavity oral	6 (35,29)	50,00 (15,49)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	75,00 (7,07)	
- Laringe	3 (17,65)	66,67 (32,15)	
- Orofaringe	6 (35,29)	71,67 (32,51)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--	
Tabaquismo			0,3093
- No fumador	2 (11,76)	40,00 (0)	
- Fumador	9 (52,94)	64,44 (27,89)	
- Ex fumador	6 (35,30)	70,00 (23,66)	
Hábito enólico			0,2715
- No bebedor	4 (23,53)	50,00 (27,08)	
- Bebedor	13 (76,47)	67,69 (24,54)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.7b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ ( <i>sd</i> )	p-valor
Estadio			0,2359
- I/II	0	0	
- III	5 (29,41)	52,00 (30,33)	
- IVA	12 (70,59)	68,33 (22,90)	
SG**	462 [237-638]	-0,2297	0,3752
SLP**	277 [218-345]	-0,2639	0,4926
Respuesta QTC			0,3218
- RC	9 (52,95)	60,00 (26,93)	
- RP	6 (35,29)	76,67 (21,60)	
- EE	1 (5,88)	40,00 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	40,00 (-)	
Recidiva			<b>0,0043</b>
- No	8 (47,06)	43,75 (22,00)	
- Sí	9 (52,94)	81,11 (11,67)	
Recidiva local			0,7944
- No	4 (44,44)	82,50 (9,57)	
- Sí	5 (55,56)	80,00 (14,14)	
Recidiva regional			0,1925
- No	4 (44,44)	75,00 (10,00)	
- Sí	5 (55,56)	86,00 (11,40)	
Recidiva distancia			0,8609
- No	6 (75,00)	83,33 (12,11)	
- Sí	2 (25,00)	80,00 (14,14)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (*sd*): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.8a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	p16 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		7,35 (15,92)	
Edad*	61,53 (14,92)	0,2167	0,4034
Sexo			0,9303
- Hombre	15 (88,24)	8,00 (16,88)	
- Mujer	2 (11,76)	2,50 (3,54)	
Localización			0,4910
- Cavidad oral	6 (35,29)	1,67 (2,58)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	2,50 (3,54)	
- Laringe	3 (17,65)	16,67 (15,28)	
- Orofaringe	6 (35,29)	10,00 (24,49)	
- Ad. cervicales	0 (0)	--	
Tabaquismo			0,7912
- No fumador	2 (11,76)	2,50 (3,54)	
- Fumador	9 (52,94)	10,00 (21,21)	
- Ex fumador	6 (35,30)	5,00 (7,75)	
Hábito enólico			0,5497
- No bebedor	4 (23,53)	8,75 (14,36)	
- Bebedor	13 (76,47)	6,92 (16,90)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 6.8b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (RT-CTX).**

Variables	N (%)	p16 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,0727
- I/II	0	0	
- III	5 (29,41)	22,00 (24,90)	
- IVA	12 (70,59)	1,25 (2,26)	
SG**	462 [237-638]	0,8149	<b>&lt;0,0001</b>
SLP**	277 [218-345]	0,9041	<b>0,0008</b>
Respuesta QTC			0,1113
- RC	9 (52,95)	13,33 (20,46)	
- RP	6 (35,29)	0 (0)	
- EE	1 (5,88)	5,00 (-)	
- No evaluada	1 (5,88)	0 (-)	
Recidiva			<b>0,0480</b>
- No	8 (47,06)	13,13 (21,37)	
- Sí	9 (52,94)	2,22 (6,67)	
Recidiva local			0,3711
- No	4 (44,44)	5,00 (10,00)	
- Sí	5 (55,56)	0 (0)	
Recidiva regional			0,5023
- No	4 (44,44)	0 (0)	
- Sí	5 (55,56)	4,00 (8,94)	
Recidiva distancia			0,7728
- No	6 (75,00)	3,33 (8,16)	
- Sí	2 (25,00)	0 (0)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.1a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (CTX).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		169,41 (92,50)		201,76 (95,28)	
Edad*	56,47 (11,74)	-0,1765	0,4981	-0,2143	0,4089
Sexo			0,0523		0,6003
- Hombre	15 (88,24)	186,67 (82,69)		206,67 (92,63)	
- Mujer	2 (11,76)	40,00 (56,57)		165,0 (148,49)	
Localización			0,6941		0,8223
- Cavityad oral	6 (35,29)	160,0 (103,73)		225,00 (89,83)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	200,00 (84,85)		165,00 (190,9)	
- Laringe	7 (41,18)	171,43 (100,4)		200,00 (88,13)	
- Orofaringe	1 (5,88)	240,00 (-)		260,00 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	80,00 (-)		90,00 (-)	
Tabaquismo			0,2548		0,3964
- No fumador	1 (5,88)	0 (-)		60 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	186,25 (84,00)		228,75 (68,13)	
- Ex fumador	8 (47,06)	173,75 (89,75)		192,50 (110,9)	
Hábito enólico			0,4998		0,4982
- No bebedor	5 (33,33)	134,0 (125,42)		172,00 (110,1)	
- Bebedor	10 (66,67)	180,00 (84,33)		220,00 (90,68)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.1b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (CTX).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,3215		0,6136
- I	2 (11,76)	145,00 (205,1)		170,00 (155,6)	
- II	1 (5,88)	300,00 (-)		210,00 (-)	
- III	4 (23,53)	182,50 (55,60)		217,50 (82,61)	
- IVA	9 (52,94)	144,44 (81,26)		190,00 (104,0)	
- IVC	1 (5,88)	260,00 (-)		300,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	0,1643	0,5286	0,3285	0,1980
SLP**	393 [182-452]	0,2280	0,3788	0,237	0,3598
Respuesta QTC			0,9555		0,7712
- RC	1 (5,88)	180,00 (-)		280,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	153,00 (113,0)		195,00 (94,07)	
- EE	2 (11,76)	160,00 (56,57)		255,00 (21,21)	
- PT	3 (17,66)	213,33 (64,29)		196,67 (145,7)	
- No evaluada	1 (5,88)	210,00 (-)		100,00 (-)	
Recidiva			NA		NA
- No	0 (0)	NA		NA	
- Sí	17 (100)	NA		NA	
Recidiva local			0,5254		0,5898
- No	7 (41,18)	147,14 (117,4)		177,14 (107,5)	
- Sí	10 (58,82)	185,00 (73,22)		219,00 (87,36)	
Recidiva regional			0,4128		0,6290
- No	9 (52,94)	187,78 (90,38)		215,56 (86,04)	
- Sí	8 (47,06)	148,75 (96,43)		186,25 (108,5)	
Recidiva distancia			0,1934		0,6991
- No	9 (52,94)	145,56 (90,71)		195,56 (104,3)	
- Sí	8 (47,06)	196,25 (92,73)		208,75 (90,62)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.2a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (CTX).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		257,65 (48,93)		123,75 (85,08)	
Edad*	56,47 (11,74)	-0,4594	0,0636	-0,3413	0,1957
Sexo			0,4384		0,9364
- Hombre	15 (88,24)	260,00 (49,57)		126,43 (90,86)	
- Mujer	2 (11,76)	240,00 (56,57)		105,00 (21,21)	
Localización			0,7416		0,2226
- Cavity oral	6 (35,29)	268,33 (43,09)		128,33 (70,26)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	250,00 (70,71)		110,00 (-)	
- Laringe	7 (41,18)	242,86 (57,36)		87,14 (84,01)	
- Orofaringe	1 (5,88)	300,00 (-)		280,00 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	270,00 (-)			
Tabaquismo			0,1693		0,5410
- No fumador	1 (5,88)	200 (-)		120 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	275,00 (51,82)		155,71 (93,61)	
- Ex fumador	8 (47,06)	247,50 (43,01)		96,25 (78,18)	
Hábito enólico			0,8458		0,7375
- No bebedor	5 (33,33)	248,00 (48,68)		92,00 (63,01)	
- Bebedor	10 (66,67)	260,00 (55,58)		136,67 (85,73)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.2b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (CTX).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,4180		0,4142
- I	2 (11,76)	215,00 (21,21)		75,00 (63,64)	
- II	1 (5,88)	300,00 (-)		20,00 (-)	
- III	4 (23,53)	260,00 (43,20)		155,00 (112,7)	
- IVA	9 (52,94)	256,67 (55,90)		132,22 (76,12)	
- IVC	1 (5,88)	300,00 (-)		NA	
SG**	1089 [741-1655]	-0,0526	0,8410	-0,1226	0,6510
SLP**	393 [182-452]	-0,0474	0,8566	0,1947	0,4699
Respuesta QTC			0,4907		0,1243
- RC	1 (5,88)	300,00 (-)		130,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	259,00 (44,08)		108,00 (76,71)	
- EE	2 (11,76)	205,00 (77,78)		60,00 (42,43)	
- PT	3 (17,66)	266,67 (57,74)		195,00 (120,2)	
- No evaluada	1 (5,88)	280,00 (-)		260,00 (-)	
Recidiva			NA		NA
- No	0 (0)	NA		NA	
- Sí	17 (100)	NA		NA	
Recidiva local			0,5768		0,4252
- No	7 (41,18)	252,86 (40,71)		95,71 (73,23)	
- Sí	10 (58,82)	261,00 (55,87)		145,56 (91,26)	
Recidiva regional			<b>0,0080</b>		0,3950
- No	9 (52,94)	285,56 (29,63)		144,00 (98,25)	
- Sí	8 (47,06)	226,25 (48,38)		97,14 (61,30)	
Recidiva distancia			0,1934		0,9153
- No	9 (52,94)	248,89 (42,26)		121,11 (80,54)	
- Sí	8 (47,06)	267,50 (56,76)		127,14 (97,08)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.3a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (CTX).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>mTOR <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>	<b>pmTOR <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		152,94 (78,16)		43,53 (43,72)	
Edad*	56,47 (11,74)	-0,0827	0,7524	-0,2409	0,3516
Sexo			0,6007		0,4984
- Hombre	15 (88,24)	157,33 (79,32)		46,67 (45,15)	
- Mujer	2 (11,76)	120,00 (84,85)		20,00 (28,28)	
Localización			0,8993		0,3131
- Cavity oral	6 (35,29)	163,3 (91,58)		60,00 (41,95)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	195,00 (91,92)		15,00 (21,21)	
- Laringe	7 (41,18)	171,43 (100,4)		48,57 (49,81)	
- Orofaringe	1 (5,88)	140,00 (-)		0 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	120,00 (-)		10,00 (-)	
Tabaquismo			0,7452		0,3137
- No fumador	1 (5,88)	180 (-)		0 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	141,25 (69,37)		36,25 (36,62)	
- Ex fumador	8 (47,06)	161,25 (93,87)		56,25 (50,12)	
Hábito enólico			1,0000		0,6645
- No bebedor	5 (33,33)	148,0 (118,83)		56,00 (53,67)	
- Bebedor	10 (66,67)	156,00 (67,36)		38,00 (43,67)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.3b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (CTX).**

VARIABLES	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			<b>0,0450</b>		0,8145
- I	2 (11,76)	240,00 (84,85)		40,00 (56,57)	
- II	1 (5,88)	200,00 (-)		20,00 (-)	
- III	4 (23,53)	185,00 (52,60)		67,50 (57,37)	
- IVA	9 (52,94)	102,22 (57,18)		37,78 (42,06)	
- IVC	1 (5,88)	260,00 (-)		30,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	0,2713	0,2921	0,1073	0,6819
SLP**	393 [182-452]	0,0104	0,9685	-0,0371	0,8876
Respuesta QTC			0,8711		0,4749
- RC	1 (5,88)	200,00 (-)		80,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	146,00 (94,77)		52,00 (51,16)	
- EE	2 (11,76)	125,00 (21,21)		45,00 (21,21)	
- PT	3 (17,66)	176,67 (72,34)		10,00 (17,32)	
- No evaluada	1 (5,88)	160,00 (-)		20,00 (-)	
Recidiva			NA		NA
- No	0 (0)	NA		NA	
- Sí	17 (100)	NA		NA	
Recidiva local			0,2401		0,8438
- No	7 (41,18)	128,57 (95,12)		47,14 (45,72)	
- Sí	10 (58,82)	170,00 (63,60)		41,00 (44,58)	
Recidiva regional			0,1926		0,9613
- No	9 (52,94)	122,22 (71,02)		42,22 (39,30)	
- Sí	8 (47,06)	187,50 (74,98)		45,00 (50,99)	
Recidiva distancia			0,4120		1,0000
- No	9 (52,94)	170,00 (74,16)		46,67 (51,23)	
- Sí	8 (47,06)	133,75 (82,97)		40,00 (36,65)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.4a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (CTX).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>pMAPK <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Total		65,59 (68,14)	
Edad*	56,47 (11,74)	-0,0195	0,9407
Sexo			0,1503
- Hombre	15 (88,24)	62,33 (72,18)	
- Mujer	2 (11,76)	90,00 (0)	
Localización			0,1483
- Cavidad oral	6 (35,29)	63,33 (28,05)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	130,00 (127,3)	
- Laringe	7 (41,18)	52,86 (83,21)	
- Orofaringe	1 (5,88)	90,00 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	15,00 (-)	
Tabaquismo			0,4871
- No fumador	1 (5,88)	90 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	71,88 (67,71)	
- Ex fumador	8 (47,06)	56,25 (76,15)	
Hábito enólico			0,9505
- No bebedor	5 (33,33)	56,00 (30,50)	
- Bebedor	10 (66,67)	80,50 (83,21)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.4b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (CTX).**

Variables	N (%)	pMAPK $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,3461
- I	2 (11,76)	60,00 (42,43)	
- II	1 (5,88)	30,00 (-)	
- III	4 (23,53)	22,50 (15,00)	
- IVA	9 (52,94)	72,78 (69,60)	
- IVC	1 (5,88)	220,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	-0,2549	0,3235
SLP**	393 [182-452]	-0,1885	0,4687
Respuesta QTC			0,3462
- RC	1 (5,88)	60,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	65,50 (67,92)	
- EE	2 (11,76)	25,00 (7,07)	
- PT	3 (17,66)	116,67 (92,92)	
- No evaluada	1 (5,88)	0 (-)	
Recidiva			NA
- No	0 (0)	NA	
- Sí	17 (100)	NA	
Recidiva local			1,0000
- No	7 (41,18)	72,14 (79,68)	
- Sí	10 (58,82)	61,00 (62,97)	
Recidiva regional			0,6251
- No	9 (52,94)	71,11 (71,14)	
- Sí	8 (47,06)	59,38 (68,89)	
Recidiva distancia			0,6601
- No	9 (52,94)	52,78 (30,32)	
- Sí	8 (47,06)	80,00 (95,47)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.5a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (CTX).**

Variables	N (%)	PTEN $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		41,76 (39,88)	
Edad*	56,47 (11,74)	0,1196	0,6475
Sexo			0,1071
- Hombre	15 (88,24)	47,33 (39,18)	
- Mujer	2 (11,76)	0 (0)	
Localización			0,5616
- Cavidad oral	6 (35,29)	31,67 (34,30)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	45,00 (63,64)	
- Laringe	7 (41,18)	48,57 (41,80)	
- Orofaringe	1 (5,88)	0 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	90,00 (-)	
Tabaquismo			0,4319
- No fumador	1 (5,88)	0 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	38,75 (43,24)	
- Ex fumador	8 (47,06)	50,00 (37,80)	
Hábito enólico			1,0000
- No bebedor	5 (33,33)	34,00 (37,82)	
- Bebedor	10 (66,67)	35,00 (38,37)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.5b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (CTX).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>PTEN <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Estadio			0,2497
- I	2 (11,76)	25,00 (35,36)	
- II	1 (5,88)	0 (-)	
- III	4 (23,53)	67,50 (35,94)	
- IVA	9 (52,94)	33,33 (39,37)	
- IVC	1 (5,88)	90,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	-0,0263	0,9202
SLP**	393 [182-452]	-0,1869	0,4727
Respuesta QTC			0,3668
- RC	1 (5,88)	30,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	38,00 (38,24)	
- EE	2 (11,76)	60,00 (56,57)	
- PT	3 (17,66)	30,00 (51,96)	
- No evaluada	1 (5,88)	90,00 (-)	
Recidiva			NA
- No	0 (0)	NA	
- Sí	17 (100)	NA	
Recidiva local			0,2480
- No	7 (41,18)	57,14 (42,31)	
- Sí	10 (58,82)	31,00 (36,35)	
Recidiva regional			0,3727
- No	9 (52,94)	33,33 (39,37)	
- Sí	8 (47,06)	51,25 (40,86)	
Recidiva distancia			0,6204
- No	9 (52,94)	36,67 (40,31)	
- Sí	8 (47,06)	47,50 (41,32)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.6a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (CTX).**

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		54,12 (39,22)	
Edad*	56,47 (11,74)	-0,0737	0,7786
Sexo			0,1307
- Hombre	15 (88,24)	60,67 (36,93)	
- Mujer	2 (11,76)	5,00 (7,07)	
Localización			0,9776
- Cavity oral	6 (35,29)	55,00 (41,83)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	70,00 (14,14)	
- Laringe	7 (41,18)	50,00 (48,65)	
- Orofaringe	1 (5,88)	30,00 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	70,00 (-)	
Tabaquismo			0,4721
- No fumador	1 (5,88)	10 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	50,00 (36,25)	
- Ex fumador	8 (47,06)	63,75 (42,41)	
Hábito enólico			1,0000
- No bebedor	5 (33,33)	48,00 (42,66)	
- Bebedor	10 (66,67)	49,00 (38,72)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

Tabla 7.6b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (CTX).

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,0638
- I	2 (11,76)	50,00 (56,57)	
- II	1 (5,88)	0 (-)	
- III	4 (23,53)	95,00 (5,77)	
- IVA	9 (52,94)	42,22 (35,98)	
- IVC	1 (5,88)	60,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	0,1501	0,5652
SLP**	393 [182-452]	0,0906	0,7294
Respuesta QTC			0,4634
- RC	1 (5,88)	50,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	45,00 (46,01)	
- EE	2 (11,76)	75,00 (21,21)	
- PT	3 (17,66)	56,67 (25,17)	
- No evaluada	1 (5,88)	100,00 (-)	
Recidiva			NA
- No	0 (0)	NA	
- Sí	17 (100)	NA	
Recidiva local			0,8432
- No	7 (41,18)	50,00 (44,35)	
- Sí	10 (58,82)	57,00 (37,43)	
Recidiva regional			0,1720
- No	9 (52,94)	40,00 (43,59)	
- Sí	8 (47,06)	70,00 (28,28)	
Recidiva distancia			0,7328
- No	9 (52,94)	57,78 (37,01)	
- Sí	8 (47,06)	50,00 (43,75)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.7a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (CTX).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		55,00 (27,57)	
Edad*	56,47 (11,74)	0,0689	0,7997
Sexo			0,2713
- Hombre	15 (88,24)	57,33 (26,85)	
- Mujer	2 (11,76)	20,00 (-)	
Localización			0,5363
- Cavityad oral	6 (35,29)	56,00 (32,09)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	45,00 (35,36)	
- Laringe	7 (41,18)	58,57 (25,45)	
- Orofaringe	1 (5,88)	20,00 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	80,00 (-)	
Tabaquismo			0,2868
- No fumador	1 (5,88)	---	
- Fumador	8 (47,06)	62,50 (28,66)	
- Ex fumador	8 (47,06)	47,50 (26,05)	
Hábito enólico			0,7749
- No bebedor	5 (33,33)	50,00 (39,16)	
- Bebedor	10 (66,67)	53,00 (25,41)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.7b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (CTX).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,5454
- I	2 (11,76)	60,00 (-)	
- II	1 (5,88)	80,00 (-)	
- III	4 (23,53)	65,00 (17,32)	
- IVA	9 (52,94)	45,56 (32,45)	
- IVC	1 (5,88)	70,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	-0,2166	0,4204
SLP**	393 [182-452]	-0,3095	0,2434
Respuesta QTC			0,4997
- RC	1 (5,88)	30,00 (-)	
- RP	10 (58,82)	58,89 (29,77)	
- EE	2 (11,76)	65,00 (7,07)	
- PT	3 (17,66)	36,67 (28,87)	
- No evaluada	1 (5,88)	80,00 (-)	
Recidiva			NA
- No	0 (0)	NA	
- Sí	17 (100)	NA	
Recidiva local			0,3788
- No	7 (41,18)	65,00 (30,17)	
- Sí	10 (58,82)	49,00 (25,58)	
Recidiva regional			1,0000
- No	9 (52,94)	53,33 (33,17)	
- Sí	8 (47,06)	57,14 (20,59)	
Recidiva distancia			0,0987
- No	9 (52,94)	42,50 (24,35)	
- Sí	8 (47,06)	67,50 (26,05)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.8a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (CTX).**

Variables	N (%)	p16 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		5,88 (15,43)	
Edad*	56,47 (11,74)	-0,1680	0,5192
Sexo			0,3125
- Hombre	15 (88,24)	5,33 (15,98)	
- Mujer	2 (11,76)	10,00 (14,14)	
Localización			0,4085
- Cavidad oral	6 (35,29)	13,33 (24,22)	
- Hipofaringe	2 (11,76)	10,00 (14,14)	
- Laringe	7 (41,18)	0 (0)	
- Orofaringe	1 (5,88)	0 (-)	
- Ad. cervicales	1 (5,88)	0 (-)	
Tabaquismo			0,1477
- No fumador	1 (5,88)	0 (-)	
- Fumador	8 (47,06)	12,50 (21,21)	
- Ex fumador	8 (47,06)	0 (0)	
Hábito enólico			0,2195
- No bebedor	5 (33,33)	0 (0)	
- Bebedor	10 (66,67)	10,00 (19,44)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. CTX: Cetuximab.

**Tabla 7.8b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (CTX).**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>	<b>p16 <math>\bar{x}</math> (sd)</b>	<b>p-valor</b>
Estadio			0,2949
- I	2 (11,76)	0 (0)	
- II	1 (5,88)	0 (-)	
- III	4 (23,53)	15,00 (30,00)	
- IVA	9 (52,94)	2,22 (6,67)	
- IVC	1 (5,88)	20,00 (-)	
SG**	1089 [741-1655]	-0,1086	0,6781
SLP**	393 [182-452]	-0,2467	0,3397
Respuesta QTC			0,8178
- RC	1 (5,88)	0 (-)	
- RP	10 (58,82)	8,00 (19,32)	
- EE	2 (11,76)	0 (0)	
- PT	3 (17,66)	6,67 (11,55)	
- No evaluada	1 (5,88)	0 (-)	
Recidiva			NA
- No	0 (0)	NA	
- Sí	17 (100)	NA	
Recidiva local			0,1418
- No	7 (41,18)	0 (0)	
- Sí	10 (58,82)	10,00 (19,44)	
Recidiva regional			0,6121
- No	9 (52,94)	8,89 (20,28)	
- Sí	8 (47,06)	2,50 (7,07)	
Recidiva distancia			0,4688
- No	9 (52,94)	2,22 (6,67)	
- Sí	8 (47,06)	10,00 (21,38)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. NA: No aplicable. CTX: Cetuximab.

**Tabla 8. Relación entre las variables IHQ y línea de tratamiento del grupo CTX.**

	Línea tratamiento		p-valor
	1ª línea	2ª línea	
<b>IHQ</b>			
- 4EBP1*	261,00 (54,46)	252,86 (43,48)	0,5427
- eIF4E*	179,00 (90,61)	155,71 (100,64)	0,5577
- mTOR*	132,00 (73,30)	182,86 (80,36)	0,1863
- pmTOR*	33,00 (35,61)	58,57 (52,42)	0,3010
- p4EBP1*	134,44 (88,90)	110,00 (84,66)	0,7498
- p53*	55,00 (40,07)	52,86 (41,12)	0,9605
- Ki67*	64,00 (27,97)	40,00 (20,98)	0,0882
- p16*	8,00 (19,32)	2,86 (7,56)	0,7689
- peIF4E*	179,00 (102,57)	234,29 (79,55)	0,4330
- pMAPK*	69,50 (87,26)	60,00 (30,00)	0,2980
- PTEN*	47,00 (42,18)	34,29 (38,23)	0,6154
<b>SG†</b>	768,5 [624-1089]	1732 [1246-2716]	<b>0,0054</b>
<b>SLP†</b>	290,5 [118 - 393]	439 [307 - 802]	<b>0,0453</b>
<b>Respuesta al tratamiento</b>			0,9223
- RC	0 (0)	1 (14,29)	
- RP	6 (60,00)	4 (57,14)	
- EE	1 (10,00)	1 (14,29)	
- PT	2 (20,00)	1 (14,29)	
- No evaluada	1 (10,00)	0 (0)	

\*Media (d.s), †Mediana [Rango Intercuartil]. IHQ: Inmunohistoquímica. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. PT: Progresión tumoral. CTX: Cetuximab.

**Tabla 9.1a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		193,68 (85,13)		252,11 (57,11)	
Edad*	57,68 (10,45)	-0,2247	0,3551	-0,2604	0,2817
Sexo			0,7622		0,7594
- Hombre	15 (78,95)	198,67 (82,97)		246,67 (62,53)	
- Mujer	4 (21,05)	175,0 (103,76)		272,50 (25,00)	
Localización			0,3690		0,1612
- Cavity oral	7 (36,84)	168,57 (108,2)		254,29 (50,28)	
- Hipofaringe	2 (10,53)	215,00 (7,07)		240,00 (0)	
- Laringe	2 (10,53)	280,00 (28,28)		300,00 (0)	
- Orofaringe	7 (36,84)	177,14 (72,28)		261,43 (49,81)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	270,00 (-)		100,00 (-)	
Tabaquismo			0,9303		0,1217
- No fumador	2 (10,53)	200,0 (141,42)		290,00 (14,14)	
- Fumador	9 (47,37)	188,89 (73,56)		224,44 (67,84)	
- Ex fumador	8 (42,11)	197,50 (97,65)		273,75 (34,20)	
Hábito enólico			0,9647		0,0734
- No bebedor	6 (31,58)	196,67 (89,81)		286,67 (16,33)	
- Bebedor	13 (68,42)	192,31 (86,62)		236,15 (62,52)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.1b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ eIF4E y pEIF4E, (RT-CDDP).**

VARIABLES	N (%)	eIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pEIF4E $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,0979		0,2054
- I	1 (5,26)	100,00 (-)		280,00 (-)	
- III	2 (10,53)	300,00 (0)		300,00 (0)	
- IVA	13 (68,42)	175,38 (78,27)		254,62 (48,58)	
- IVB	3 (15,79)	233,33 (90,74)		200,00 (91,65)	
SG**	715 [399-979]	-0,4024	0,0876	-0,0935	0,7034
SLP**	292 [109-584]	-0,6088	<b>0,0468</b>	-0,1195	0,7264
Respuesta QTC			0,6476		0,1006
- RC	10 (52,63)	186,00 (85,79)		244,00 (52,96)	
- RP	8 (42,11)	193,75 (90,86)		281,25 (20,31)	
- EE	1 (5,26)	270,00 (-)		100,00 (-)	
Recidiva			0,2790		0,8661
- No	8 (42,11)	218,75 (77,91)		257,50 (49,50)	
- Sí	11 (57,89)	175,45 (89,04)		248,18 (64,16)	
Recidiva local			0,5822		0,7803
- No	5 (45,45)	192,00 (100,8)		230,00 (82,46)	
- Sí	6 (54,55)	161,67 (84,95)		263,33 (46,76)	
Recidiva regional			0,6466		0,2267
- No	6 (54,55)	171,67 (68,82)		278,33 (22,29)	
- Sí	5 (45,45)	180,00 (117,7)		212,00 (81,67)	
Recidiva distancia			0,4121		0,2528
- No	8 (72,73)	157,50 (98,38)		236,25 (70,29)	
- Sí	3 (27,27)	223,33 (32,15)		280,00 (34,64)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.2a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		237,89 (57,89)		37,37 (40,80)	
Edad*	57,68 (10,45)	-0,3262	0,1728	-0,4841	<b>0,0357</b>
Sexo			0,7585		1,0000
- Hombre	15 (78,95)	242,67 (49,20)		38,00 (42,29)	
- Mujer	4 (21,05)	220,00 (90,92)		35,00 (40,41)	
Localización			0,5903		0,6322
- Cavity oral	7 (38,89)	247,14 (39,04)		47,14 (46,80)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	170,00 (98,99)		40,00 (56,57)	
- Laringe	2 (11,11)	240,00 (84,85)		60,00 (56,57)	
- Orofaringe	7 (38,89)	238,57 (58,43)		22,86 (34,02)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	300,00 (-)		20,00 (-)	
Tabaquismo			0,2355		0,9913
- No fumador	2 (10,53)	250,00 (70,71)		25,00 (21,21)	
- Fumador	9 (47,37)	260,00 (40,31)		38,89 (38,55)	
- Ex fumador	8 (42,11)	210,00 (66,98)		38,75 (49,70)	
Hábito enólico			0,7530		0,6873
- No bebedor	6 (31,58)	233,33 (55,02)		33,33 (49,67)	
- Bebedor	13 (68,42)	240,00 (61,24)		39,23 (38,18)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.2b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ 4EBP1 y p4EBP1, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor	p4EBP1 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,8592		0,3801
- I	1 (5,26)	200,00 (-)		10,00 (-)	
- III	2 (10,53)	240,00 (84,85)		30,00 (14,14)	
- IVA	13 (68,42)	236,15 (61,45)		47,69 (45,12)	
- IVB	3 (15,79)	256,67 (51,32)		6,67 (11,55)	
SG**	715 [399-979]	0,1449	0,5541	0,3704	0,1186
SLP**	292 [109-584]	-0,3521	0,2882	0,0905	0,7914
Respuesta QTC			0,4738		0,9136
- RC	10 (52,63)	230,00 (70,55)		39,00 (42,02)	
- RP	8 (42,11)	240,00 (39,64)		37,50 (44,32)	
- EE	1 (5,26)	300,00 (-)		20,00 (-)	
Recidiva			0,0626		<b>0,0230</b>
- No	8 (42,11)	208,75 (63,34)		12,50 (18,32)	
- Sí	11 (57,89)	259,09 (45,27)		55,45 (43,67)	
Recidiva local			0,4984		0,4092
- No	5 (45,45)	268,00 (46,04)		66,00 (34,35)	
- Sí	6 (54,55)	251,67 (47,50)		46,67 (51,64)	
Recidiva regional			0,4984		0,0814
- No	6 (54,55)	270,00 (41,47)		81,67 (43,55)	
- Sí	5 (45,45)	246,00 (50,79)		24,00 (11,40)	
Recidiva distancia			0,3305		0,1512
- No	8 (72,73)	251,25 (48,24)		42,50 (44,64)	
- Sí	3 (27,27)	280,00 (34,64)		90,00 (10,00)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.3a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		174,21 (66,86)		66,32 (50,79)	
Edad*	57,68 (10,45)	-0,0147	0,9524	0,0919	0,7084
Sexo			0,6498		0,5788
- Hombre	15 (78,95)	178,67 (68,75)		69,33 (52,30)	
- Mujer	4 (21,05)	157,5 (65,51)		55,00 (50,00)	
Localización			0,9239		0,3151
- Cavity oral	7 (38,89)	162,86 (82,00)		77,14 (29,84)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	185,00 (7,07)		70,00 (14,14)	
- Laringe	2 (11,11)	160,00 (84,85)		60,00 (0)	
- Orofaringe	7 (38,89)	188,57 (70,34)		42,85 (67,51)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	160,00 (-)		160,00 (-)	
Tabaquismo			0,5885		0,6341
- No fumador	2 (10,53)	190,00 (14,14)		60,00 (84,85)	
- Fumador	9 (47,37)	160,00 (76,97)		78,89 (58,83)	
- Ex fumador	8 (42,11)	186,25 (64,79)		53,75 (35,43)	
Hábito enólico			0,1325		0,5650
- No bebedor	6 (31,58)	210,00 (45,17)		53,33 (56,45)	
- Bebedor	13 (68,42)	157,69 (70,14)		72,31 (49,19)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.3b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ mTOR y pmTOR, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	mTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor	pmTOR $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,1593		0,4697
- I	1 (5,26)	180,00 (-)		120,00 (-)	
- III	2 (10,53)	210,00 (14,14)		30,00 (42,43)	
- IVA	13 (68,42)	183,85 (69,35)		66,15 (46,46)	
- IVB	3 (15,79)	106,67 (50,33)		73,33 (80,82)	
SG**	715 [399-979]	-0,4158	0,0766	-0,3030	0,2074
SLP**	292 [109-584]	-0,2852	0,3953	-0,4718	0,1429
Respuesta QTC			0,7536		0,1124
- RC	10 (52,63)	180,00 (63,42)		46,00 (41,95)	
- RP	8 (42,11)	168,75 (78,82)		80,00 (48,11)	
- EE	1 (5,26)	160,00 (-)		160,00 (-)	
Recidiva			0,9006		<b>0,0219</b>
- No	8 (42,11)	168,75 (56,93)		33,75 (34,20)	
- Sí	11 (57,89)	178,18 (75,74)		90,00 (48,58)	
Recidiva local			0,5200		0,3120
- No	5 (45,45)	166,00 (77,97)		72,00 (55,41)	
- Sí	6 (54,55)	188,33 (79,60)		105,00 (40,87)	
Recidiva regional			0,9268		0,1982
- No	6 (54,55)	176,67 (84,54)		71,67 (50,76)	
- Sí	5 (45,45)	180,00 (73,48)		112,00 (39,62)	
Recidiva distancia			0,9181		0,1502
- No	8 (72,73)	173,75 (74,25)		105,00 (45,36)	
- Sí	3 (27,27)	190,00 (95,39)		50,00 (36,06)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.4a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	pMAPK $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		115,79 (85,13)	
Edad*	57,68 (10,45)	0,0559	0,8203
Sexo			0,9599
- Hombre	15 (78,95)	116,67 (88,53)	
- Mujer	4 (21,05)	112,50 (83,02)	
Localización			0,1478
- Cavidad oral	7 (38,89)	77,14 (64,73)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	105,00 (21,21)	
- Laringe	2 (11,11)	210,00 (42,43)	
- Orofaringe	7 (38,89)	147,14 (95,17)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	0 (-)	
Tabaquismo			0,1346
- No fumador	2 (10,53)	120,0 (141,42)	
- Fumador	9 (47,37)	73,33 (60,21)	
- Ex fumador	8 (42,11)	162,50 (82,59)	
Hábito enólico			0,2341
- No bebedor	6 (31,58)	160,00 (98,18)	
- Bebedor	13 (68,42)	95,38 (73,67)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.4b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ pMAPK, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	pMAPK $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,0197
- I	1 (5,26)	20,00 (-)	
- III	2 (10,53)	200,00 (28,28)	
- IVA	13 (68,42)	132,31 (78,86)	
- IVB	3 (15,79)	20,00 (17,32)	
SG**	715 [399-979]	-0,2149	0,3769
SLP**	292 [109-584]	-0,2818	0,4011
Respuesta QTC			0,2416
- RC	10 (52,63)	113,00 (82,87)	
- RP	8 (42,11)	133,75 (86,67)	
- EE	1 (5,26)	0 (-)	
Recidiva			0,3400
- No	8 (42,11)	140,00 (87,51)	
- Sí	11 (57,89)	98,18 (82,92)	
Recidiva local			0,7112
- No	5 (45,45)	86,00 (92,09)	
- Sí	6 (54,55)	108,33 (81,83)	
Recidiva regional			0,0957
- No	6 (54,55)	125,00 (79,18)	
- Sí	5 (45,45)	66,00 (83,55)	
Recidiva distancia			0,3007
- No	8 (72,73)	86,25 (81,05)	
- Sí	3 (27,27)	130,00 (96,44)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.5a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	PTEN $\bar{x}$ ( <i>sd</i> )	p-valor
Total		24,21 (23,17)	
Edad*	57,68 (10,45)	0,0287	0,907
Sexo			0,4152
- Hombre	15 (78,95)	26,67 (24,10)	
- Mujer	4 (21,05)	15,00 (19,15)	
Localización			0,3910
- Cavidad oral	7 (38,89)	14,29 (15,12)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	25,00 (21,21)	
- Laringe	2 (11,11)	45,00 (35,36)	
- Orofaringe	7 (38,89)	31,43 (26,10)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	0 (-)	
Tabaquismo			0,3434
- No fumador	2 (10,53)	10,00 (14,14)	
- Fumador	9 (47,37)	18,89 (16,16)	
- Ex fumador	8 (42,11)	33,75 (29,25)	
Hábito enólico			0,9288
- No bebedor	6 (31,58)	26,67 (29,44)	
- Bebedor	13 (68,42)	23,08 (20,97)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (*sd*): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.5b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ PTEN, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	PTEN $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,5401
- I	1 (5,26)	0 (-)	
- III	2 (10,53)	20,00 (0)	
- IVA	13 (68,42)	28,46 (26,09)	
- IVB	3 (15,79)	16,67 (15,28)	
SG**	715 [399-979]	-0,1531	0,5316
SLP**	292 [109-584]	-0,3994	0,2237
Respuesta QTC			0,3157
- RC	10 (52,63)	29,00 (22,83)	
- RP	8 (42,11)	21,25 (24,16)	
- EE	1 (5,26)	0 (-)	
Recidiva			0,6138
- No	8 (42,11)	27,50 (24,35)	
- Sí	11 (57,89)	21,82 (23,16)	
Recidiva local			0,6371
- No	5 (45,45)	20,00 (29,15)	
- Sí	6 (54,55)	23,33 (19,66)	
Recidiva regional			0,4504
- No	6 (54,55)	26,67 (24,22)	
- Sí	5 (45,45)	16,00 (23,02)	
Recidiva distancia			0,4603
- No	8 (72,73)	17,50 (19,82)	
- Sí	3 (27,27)	33,33 (32,15)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.6a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		36,26 (40,72)	
Edad*	57,68 (10,45)	0,0221	0,9283
Sexo			0,9594
- Hombre	15 (78,95)	37,93 (41,96)	
- Mujer	4 (21,05)	30,00 (40,82)	
Localización			0,2258
- Cavidad oral	7 (38,89)	58,57 (42,59)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	45,00 (35,36)	
- Laringe	2 (11,11)	0 (0)	
- Orofaringe	7 (38,89)	15,57 (33,00)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	80,00 (-)	
Tabaquismo			0,3253
- No fumador	2 (10,53)	50,00 (56,57)	
- Fumador	9 (47,37)	47,33 (43,96)	
- Ex fumador	8 (42,11)	20,38 (33,13)	
Hábito enólico			0,3717
- No bebedor	6 (31,58)	40,50 (42,34)	
- Bebedor	13 (68,42)	34,31 (41,56)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.6b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p53, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	p53 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,2896
- I	1 (5,26)	90,00 (-)	
- III	2 (10,53)	5,00 (7,07)	
- IVA	13 (68,42)	31,85 (39,71)	
- IVB	3 (15,79)	58,33 (46,46)	
SG**	715 [399-979]	-0,2172	0,3717
SLP**	292 [109-584]	-0,4522	0,1625
Respuesta QTC			0,6558
- RC	10 (52,63)	26,60 (36,74)	
- RP	8 (42,11)	42,88 (45,51)	
- EE	1 (5,26)	80,00 (-)	
Recidiva			0,9330
- No	8 (42,11)	27,25 (39,26)	
- Sí	11 (57,89)	42,82 (42,35)	
Recidiva local			0,1866
- No	5 (45,45)	30,00 (41,23)	
- Sí	6 (54,55)	53,50 (43,88)	
Recidiva regional			0,0592
- No	6 (54,55)	20,17 (31,50)	
- Sí	5 (45,45)	70,00 (39,37)	
Recidiva distancia			0,2460
- No	8 (72,73)	50,13 (43,26)	
- Sí	3 (27,27)	23,33 (40,41)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.7a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		62,63 (28,64)	
Edad*	57,68 (10,45)	-0,0435	0,8598
Sexo			0,9191
- Hombre	15 (78,95)	63,33 (26,37)	
- Mujer	4 (21,05)	60,00 (40,82)	
Localización			0,3136
- Cavidad oral	7 (38,89)	48,57 (26,73)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	85,00 (7,07)	
- Laringe	2 (11,11)	50,00 (28,28)	
- Orofaringe	7 (38,89)	71,43 (31,85)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	80,00 (-)	
Tabaquismo			0,7799
- No fumador	2 (10,53)	65,00 (49,50)	
- Fumador	9 (47,37)	68,89 (20,88)	
- Ex fumador	8 (42,11)	55,00 (33,81)	
Hábito enólico			1,0000
- No bebedor	6 (31,58)	58,33 (39,71)	
- Bebedor	13 (68,42)	64,62 (23,67)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.7b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ Ki67, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	Ki67 $\bar{x}$ ( <i>sd</i> )	p-valor
Estadio			0,3799
- I	1 (5,26)	30,00 (-)	
- III	2 (10,53)	65,00 (49,50)	
- IVA	13 (68,42)	60,00 (28,58)	
- IVB	3 (15,79)	83,33 (5,77)	
SG**	715 [399-979]	-0,0661	0,7881
SLP**	292 [109-584]	-0,2902	0,3867
Respuesta QTC			0,3690
- RC	10 (52,63)	68,00 (28,98)	
- RP	8 (42,11)	53,75 (29,25)	
- EE	1 (5,26)	80,00 (-)	
Recidiva			0,1424
- No	8 (42,11)	71,25 (33,57)	
- Sí	11 (57,89)	56,36 (24,20)	
Recidiva local			0,1303
- No	5 (45,45)	68,00 (21,68)	
- Sí	6 (54,55)	46,67 (23,38)	
Recidiva regional			1,0000
- No	6 (54,55)	56,67 (25,82)	
- Sí	5 (45,45)	56,00 (25,10)	
Recidiva distancia			0,1128
- No	8 (72,73)	48,75 (24,16)	
- Sí	3 (27,27)	76,67 (5,77)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (*sd*): media (desviación estándar).\*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.8a. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	p16 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Total		25,26 (41,42)	
Edad*	57,68 (10,45)	-0,0460	0,8517
Sexo			0,1453
- Hombre	15 (78,95)	19,33 (40,08)	
- Mujer	4 (21,05)	47,50 (44,25)	
Localización			0,2327
- Cavidad oral	7 (38,89)	2,86 (7,56)	
- Hipofaringe	2 (11,11)	40,00 (56,57)	
- Laringe	2 (11,11)	0 (0)	
- Orofaringe	7 (38,89)	54,29 (50,94)	
- Ad. cervicales	1 (5,26)	0 (-)	
Tabaquismo			0,8156
- No fumador	2 (10,53)	45,00 (63,64)	
- Fumador	9 (47,37)	23,33 (41,23)	
- Ex fumador	8 (42,11)	22,50 (42,00)	
Hábito enólico			0,7902
- No bebedor	6 (31,58)	31,67 (49,16)	
- Bebedor	13 (68,42)	22,31 (39,19)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. RT: Radioterapia, CDDP: Cisplatino.

**Tabla 9.8b. Análisis descriptivo y relación con las variables IHQ p16, (RT-CDDP).**

Variables	N (%)	p16 $\bar{x}$ (sd)	p-valor
Estadio			0,8417
- I	1 (5,26)	0 (-)	
- III	2 (10,53)	45,00 (63,64)	
- IVA	13 (68,42)	22,31 (39,19)	
- IVB	3 (15,79)	33,33 (57,74)	
SG**	715 [399-979]	0,1489	0,5430
SLP**	292 [109-584]	0,1076	0,7528
Respuesta QTC			0,1381
- RC	10 (52,63)	46,00 (48,81)	
- RP	8 (42,11)	2,50 (7,07)	
- EE	1 (5,26)	0 (-)	
Recidiva			0,1089
- No	8 (42,11)	46,25 (49,84)	
- Sí	11 (57,89)	10,00 (27,20)	
Recidiva local			0,8923
- No	5 (45,45)	18,00 (40,25)	
- Sí	6 (54,55)	3,33 (8,16)	
Recidiva regional			0,2230
- No	6 (54,55)	18,33 (36,01)	
- Sí	5 (45,45)	0 (0)	
Recidiva distancia			0,4491
- No	8 (72,73)	2,50 (7,07)	
- Sí	3 (27,27)	30,00 (51,96)	

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (sd): media (desviación estándar). \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable. RT: Radio-terapia, CDDP: Cisplatino.

Tabla 10. Variables clínicas y resultados del global de pacientes y por grupos.

	N (%)	Grupo			p-valor
		A N (%)	B N (%)	C N (%)	
<b>Variables Clínicas</b>					
Edad*	59,16 (11,98)	61,53 (14,92)	56,47 (11,74)	59,50 (8,36)	0,6011
Sexo (Hombre)	43 (86,00)	15 (88,24)	15 (88,24)	13 (81,25)	0,8021
Localización					0,2258
- Cavidad oral	17 (34,00)	6 (35,29)	6 (35,29)	5 (31,25)	
- Hipofaringe	6 (12,00)	2 (11,76)	2 (11,76)	2 (12,50)	
- Laringe	11 (22,00)	3 (17,65)	7 (41,18)	1 (6,25)	
- Orofaringe	14 (28,00)	6 (35,29)	1 (5,88)	7 (43,75)	
- Ad. cervical	2 (4,00)	0 (0)	1 (5,88)	1 (6,25)	
Tabaquismo					0,9343
- No fumador	5 (10,00)	2 (11,76)	1 (5,88)	2 (12,50)	
- Fumador	25 (50,00)	9 (52,94)	8 (47,06)	8 (50,00)	
- Ex fumador	20 (40,00)	6 (35,29)	8 (47,06)	6 (37,50)	
Alcoholismo (Sí)	34 (70,83)	13 (76,47)	10 (66,67)	11 (68,75)	0,8101
Estadio					0,1848
- I	3 (6,00)	0 (0)	2 (11,76)	1 (6,25)	
- II	1 (2,00)	0 (0)	1 (5,88)	0 (0)	
- III	11 (22,00)	5 (29,41)	4 (23,53)	2 (12,50)	
- IVA	31 (62,00)	12 (70,59)	9 (52,94)	10 (62,50)	
- IVB	3 (6,00)	0 (0)	0 (0)	3 (18,75)	
- IVC	1 (2,00)	0 (0)	1 (5,88)	0 (0)	
Respuesta QTC					<b>0,0496</b>
- RC	19 (38,00)	9 (52,94)	1 (5,88)	9 (56,25)	
- RP	22 (44,00)	6 (35,29)	10 (58,82)	6 (37,50)	
- EE	4 (8,00)	1 (5,88)	2 (11,76)	1 (6,25)	
- PT	3 (6,00)	0 (0)	3 (17,65)	0 (0)	
- No evaluada	2 (4,00)	1 (5,88)	1 (5,88)	0 (0)	
<b>Variables Resultados</b>					
Recidiva +	34 (68,00)	9 (52,94)	17 (100)	8 (50,00)	<b>0,0023</b>
- Recidiva local +	19 (38,00)	5 (29,41)	10 (58,82)	4 (25,00)	0,0903
-Recidiva regional +	18 (36,00)	5 (29,41)	8 (47,06)	5 (31,25)	0,5017
-Recidiva distancia +	12 (24,00)	2 (11,76)	8 (47,06)	2 (12,50)	0,0234
OS**	698 [399-1116]	462 [237-638]	1089 [741-1655]	696 [379-903]	<b>0,0037</b>
PFS**	302 [176-483]	277 [218-345]	393 [182-452]	244 [113-629]	0,7389
Exitus +	37 (74,00)	14 (82,35)	14 (82,35)	9 (56,25)	0,1457

N: Frecuencia, %: Porcentaje,  $\bar{x}$  (*sd*): media (desviación estándar). \*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas (IHQ) evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. \*\*Resultados descriptivos mostrados como mediana [rango intercuartil] y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. SG: Supervivencia global. SLP: Supervivencia libre de progresión. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable.

**Tabla 11. Asociación entre p16 y respuesta al tratamiento en pacientes tratados con radioterapia-cetuximab.**

	Respuesta al tratamiento				p-valor
p16	RC	RP	EE	Total	<b>0,0338</b>
= 0	4 (40,00)	6 (60,00)	0 (0)	10 (62,50)	
> 0	5 (83,33)	0 (0)	1 (16,67)	6 (37,50)	
<b>Total</b>	9 (56,25)	6 (37,50)	1 (6,25)	16	

N: Frecuencia, %: Porcentaje. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable.

**Tabla 12. Asociación entre p16 y respuesta al tratamiento en pacientes tratados con radioterapia-cisplatino.**

	Respuesta al tratamiento				p-valor
p16	RC	RP	EE	Total	0,2028
= 0	5 (38,46)	7 (53,85)	1 (7,69)	13 (68,42)	
> 0	5 (83,33)	1 (16,67)	0 (0)	6 (31,58)	
<b>Total</b>	10 (52,63)	8 (42,11)	1 (5,26)	19	

N: Frecuencia, %: Porcentaje. RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable.  
RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. EE: Enfermedad estable.

**Tabla 13. Análisis univariable de recidiva en los grupos de tratamiento RT-CTX y RT-CDDP.**

	$\beta$ (e.e.)	HR (IC 95%)	p-valor
<b>Sexo (Mujer vs. Hombre)</b>	-0,79 (1,04)	0,453 (0,058 - 3.509)	0,4484
<b>Edad*</b>	-0,01 (0,02)	0,986 (0,939 - 1,035)	0,5679
<b>Tratamiento (A vs.C)</b>	0,45 (0,51)	1,563 (0,575 - 4.248)	0,3817
<b>Habito tabáquico</b>			
- Fumador (vs. No fumador)	-0,07 (0,93)	0,935 (0,152 - 5.742)	0,9417
- ExFumador (vs. No fumador)	-0,69 (1,00)	0,503 (0,071 - 3.556)	0,4912
<b>Hábito enólico (Sí vs. no)</b>	0,07 (0,62)	1,072 (0,316 - 3.637)	0,9107
<b>Localización</b>			
- Cavidad oral (vs. Laringe)	0,002 (0,89)	1,002 (0,176 - 5.710)	0,9978
- Hipofaringe (vs. Laringe)	0,05 (0,96)	1,048 (0,161 - 6.814)	0,9608
- Orofaringe (vs. Laringe)	0,43 (0,77)	1,535 (0,338 - 6.963)	0,5787
<b>Estadio cat. (III-IV vs. I-II)</b>	NA	NA	NA
<b>Respuesta tratamiento</b>			
- RP (vs. RC)	1,60 (0,57)	4.957 (1,634 - 15.043)	0,0047
- EE (vs. RC)	3.66 (1,27)	38.809 (3.227 - 466.735)	0,0039
- PT (vs. RC)	NA	NA	NA
<b>Variables inmunohistoquímicas</b>			
- eIF4E*	0,01 (0,005)	1,006 (0,997 - 1,015)	0,1773
- pEIF4E*	0,002 (0,002)	1,002 (0,997 - 1,006)	0,5045
- 4EBP*	0,002 (0,003)	1,002 (0,997 - 1,008)	0,4294
- p4EBP1*	-0,002 (0,003)	0,998 (0,992 - 1,004)	0,5181
- mTOR*	0,001 (0,004)	1,001 (0,994 - 1,009)	0,7274
- pmTOR*	0,01 (0,006)	1,011 (1,000 - 1,023)	<b>0,0440</b>
- pMAPK*	-0,004 (0,003)	0,996 (0,990 - 1,003)	0,2654
- PTEN*	0,007 (0,01)	1,007 (0,987 - 1,027)	0,5219
- p53*	0,01 (0,007)	1,010 (0,997 - 1,024)	0,1245
- ki67*	0,01 (0,01)	1,011 (0,990 - 1,033)	0,3121
- p16*	-0,03 (0,01)	0,971 (0,944 - 0,998)	<b>0,0346</b>

$\beta$  (e.e.): estimación (error estándar). HR: Hazard Ratio. IC: Intervalo de Confianza. %: Porcentaje. NA: No aplicable. RT: radioterapia, CTX: Cetuximab, CDDP: Cisplatino.

Tabla 14. Análisis univariable de mortalidad.

	$\beta$ (e.e.)	HR (IC 95%)	p-valor
Sexo (Mujer vs. Hombre)	0,08 (0,49)	1,082 (0,418 - 2.803)	0,8704
Edad*	-0,01 (0,01)	0,995 (0,967 - 1,023)	0,7244
Tratamiento			
- A (vs.B)	0,86 (0,40)	2.367 (1,082 - 5.176)	<b>0,0309</b>
- C (vs.B)	0,25 (0,44)	1,281 (0,536 - 3.058)	0,5775
Habito tabáquico			
- Fumador (vs. No fumador)	-0,61 (0,54)	0,544 (0,189 - 1,563)	0,2583
- ExFumador (vs. No fumador)	-0,75 (0,56)	0,471 (0,157 - 1,414)	0,1796
Hábito enólico (Sí vs. no)	0,20 (0,39)	1,219 (0,571 - 2.604)	0,6088
Localización			
- Cavidad oral (vs. Laringe)	0,45 (0,47)	1,566 (0,622 - 3.941)	0,3412
- Hipofaringe (vs. Laringe)	0,70 (0,59)	2.005 (0,630 - 6.384)	0,2391
- Orofaringe (vs. Laringe)	0,44 (0,50)	1,554 (0,586 - 4.123)	0,3756
Estadio cat. (III-IV vs. I-II)	0,25 (0,62)	1,282 (0,381 - 4.309)	0,6883
Respuesta tratamiento			
- RP (vs. RC)	0,54 (0,40)	1,710 (0,781 - 3.744)	0,1793
- EE (vs. RC)	0,54 (0,64)	1,711 (0,490 - 5.972)	0,3998
- PT (vs. RC)	0,34 (0,65)	1,409 (0,392 - 5.066)	0,5995
Variables inmunohistoquímicas			
- eIF4E*	0,002 (0,002)	1,002 (0,998 - 1,005)	0,3695
- pEIF4E*	0 (0,002)	1,000 (0,996 - 1,004)	0,8192
- 4EBP*	0,003 (0,003)	1,003 (0,997 - 1,009)	0,3543
- p4EBP1*	0,001 (0,002)	1,001 (0,998 - 1,005)	0,3969
- mTOR*	0,002 (0,002)	1,002 (0,998 - 1,007)	0,2915
- pmTOR*	0,003 (0,004)	1,003 (0,995 - 1,011)	0,4404
- pMAPK*	0 (0,002)	1,001 (0,996 - 1,005)	0,7671
- PTEN*	-0,005 (0,006)	0,995 (0,984 - 1,006)	0,3617
- p53*	-0,001 (0,004)	0,999 (0,990 - 1,008)	0,8000
- ki67*	0,002 (0,006)	1,002 (0,989 - 1,014)	0,7884
- p16*	-0,02 (0,01)	0,979 (0,960 - 0,998)	<b>0,0338</b>

\*Resultados descriptivos mostrados como media (desviación estándar) y las asociaciones con las variables inmunohistoquímicas evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

†No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo A y C (p=0,1527).

Tabla 15. Análisis multivariable de mortalidad.

	$\beta$ (e.e.)	HR (IC 95%)	p-valor
<b>Tratamiento</b>			
<b>A (vs.B)</b>	1,21 (0,42)	3.363 (1,470 - 7.695)	<b>0,0041</b>
<b>C (vs. B)</b>	0,67 (0,45)	1,951 (0,808 - 4.711)	0,1375
<b>Indice de tinción p16*</b>	-0,03 (0,01)	0,971 (0,949 - 0,994)	0,0132
<b>c-index (IC 95%)</b>		0,732 (0,630 - 0,834)	

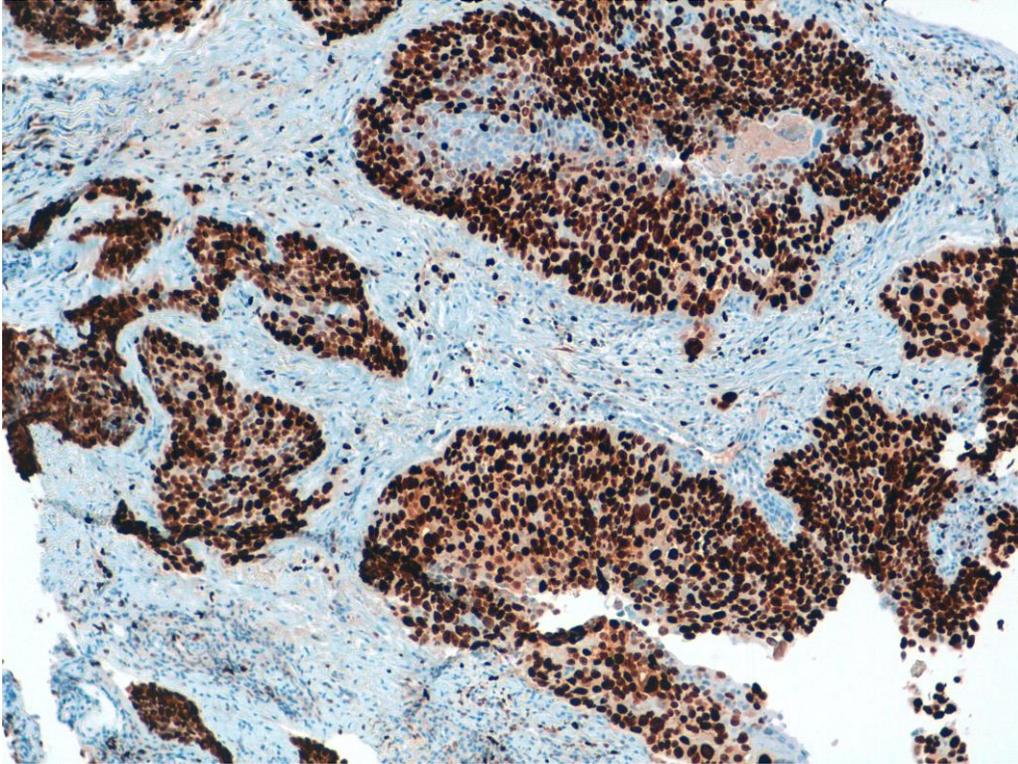
$\beta$  (e.e.): estimación (error estándar). HR: Hazard Ratio. IC: Intervalo de Confianza. %: Porcentaje.  
 †No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo A y C (p=0,2117).

**Tabla 16. Probabilidad de supervivencia de los diferentes grupos de tratamiento en diferentes momentos del seguimiento.**

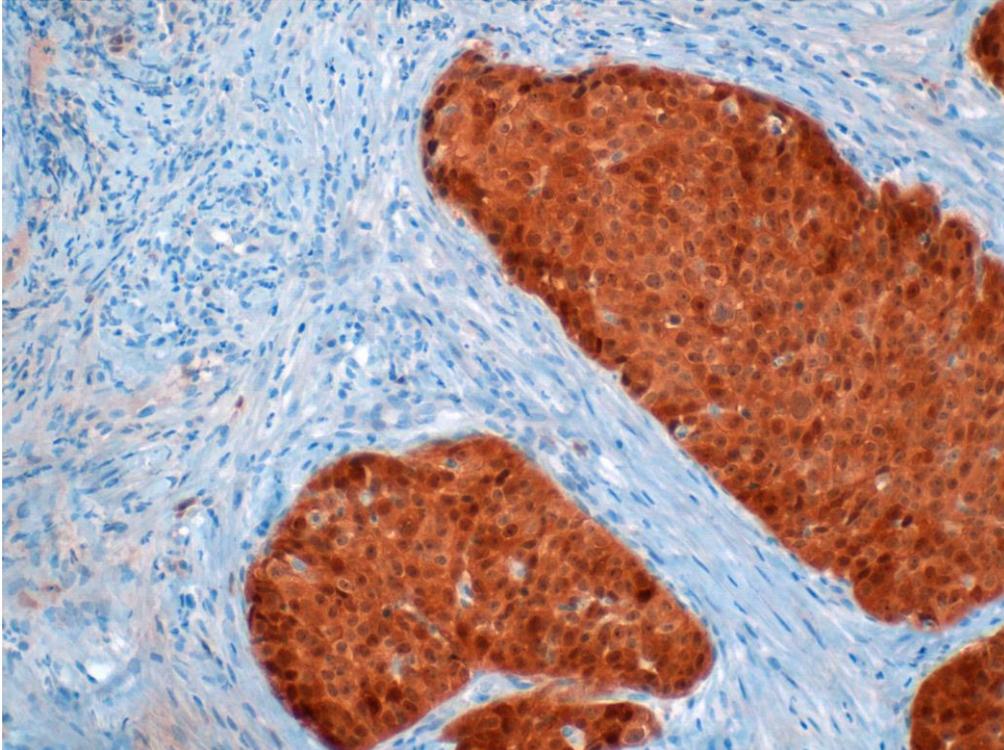
Grupo tratamiento	Probabilidad de supervivencia (IC 95%)			
	1 año	2 años	3 años	Final de seguimiento
<b>RT+CTX</b>	0,647 (0,377 - 0,823)	0,235 (0,073 - 0,449)	0,176 (0,043 - 0,383)	0,176 (0,043 - 0,383)
<b>CTX</b>	1 (1 - 1)	0,765 (0,488 - 0,904)	0,471 (0,230 - 0,680)	0,126 (0,010 - 0,393)
<b>RT+CDDP</b>	0,750 (0,463 - 0,898)	0,486 (0,229 - 0,703)	0,405 (0,164 - 0,637)	0,405 (0,164 - 0,637)

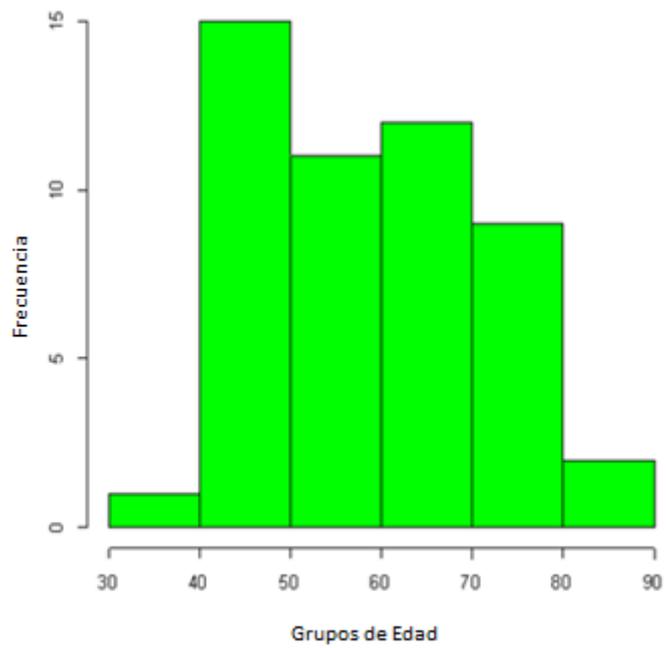
RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab. CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 1.** Muestra de carcinoma escamoso de cabeza y cuello con tinción positiva para Ki67(x20).

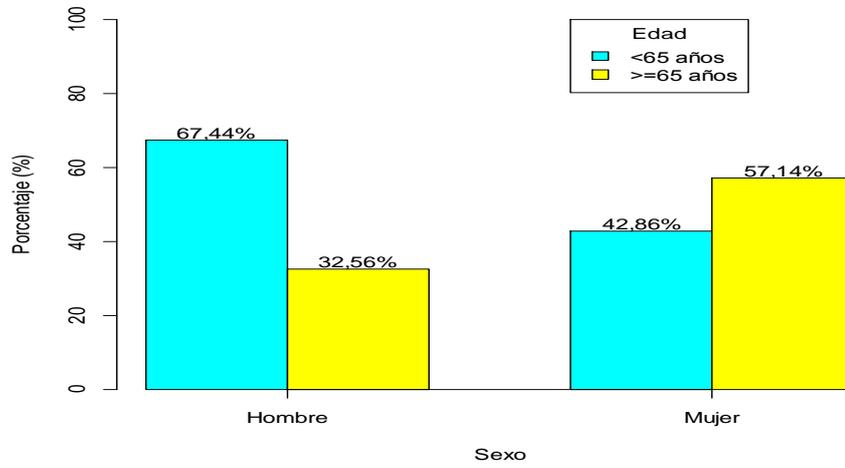


**FIGURA 2.** Muestra de carcinoma escamoso de cabeza y cuello con tinción positiva para p16 (x40).

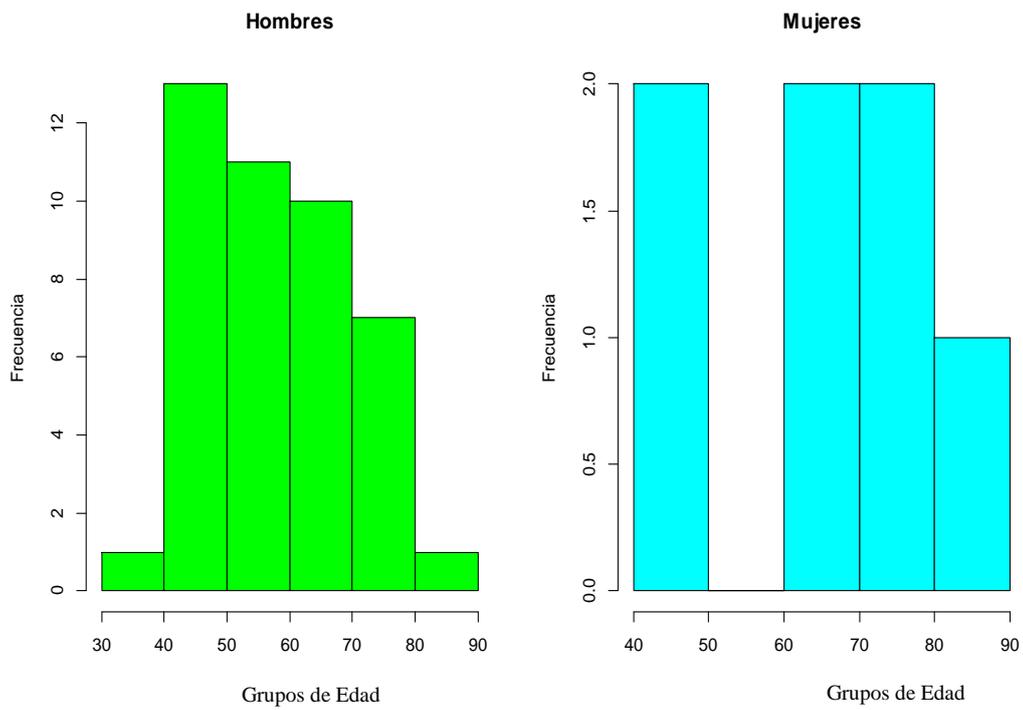


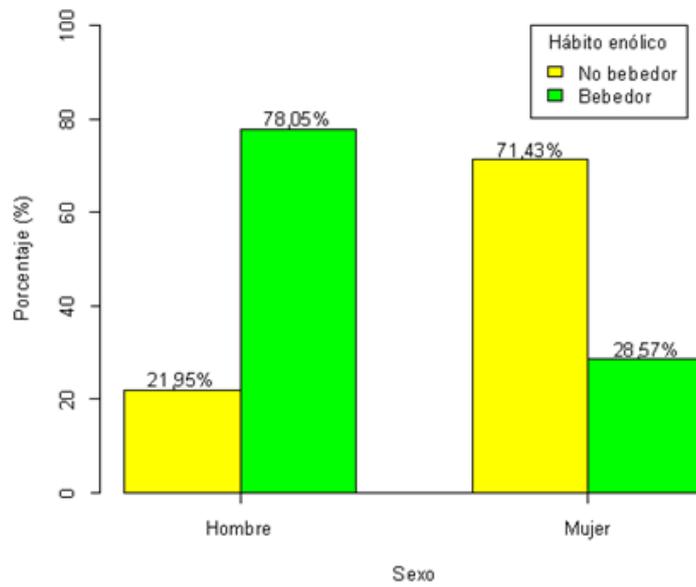
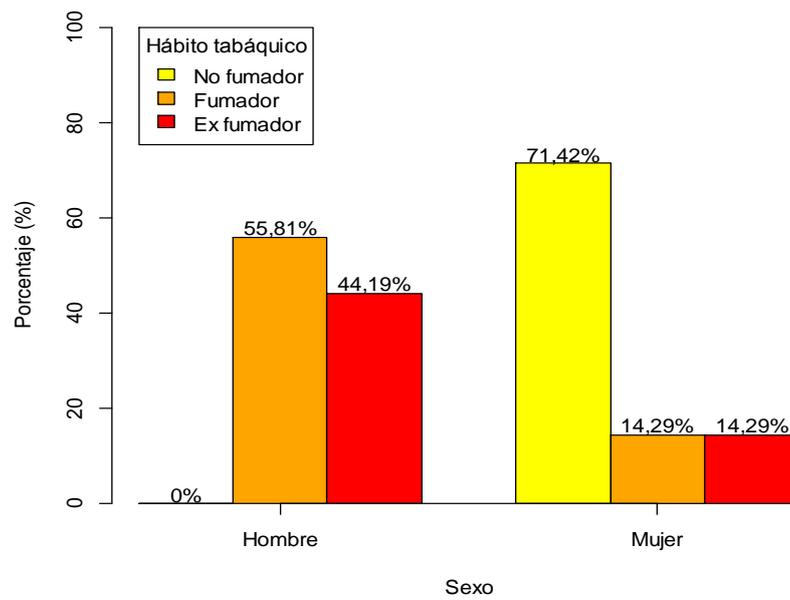
**FIGURA 3.** Distribución del global de pacientes en función de la edad.

**FIGURA 4. Distribución por edad y sexo.**

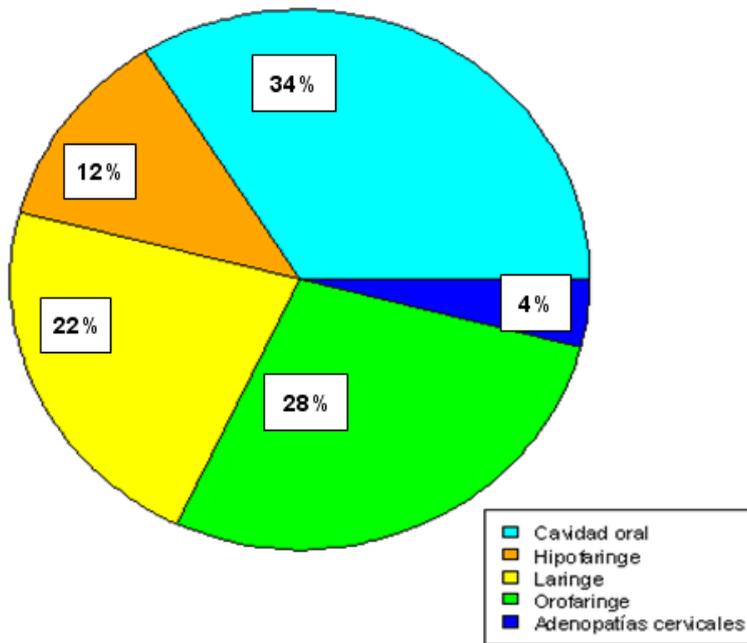


**FIGURA 5. Distribución en función de grupos de edad y sexo.**

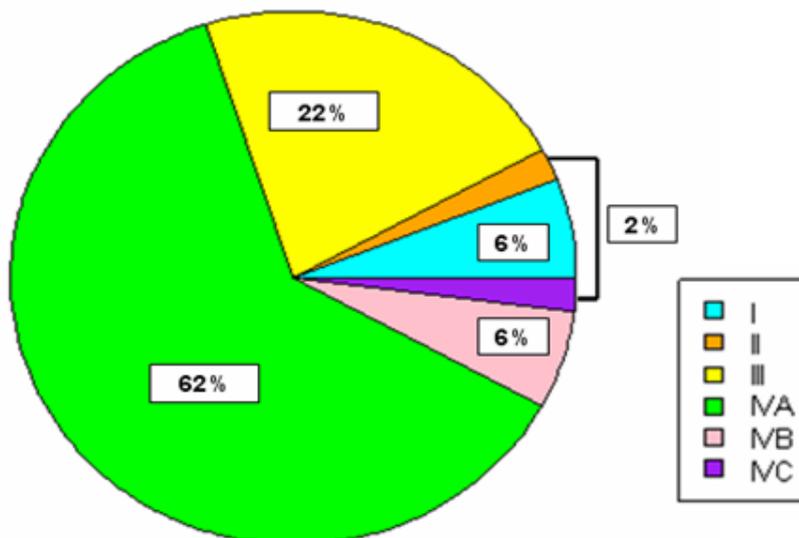


**FIGURA 6. Distribución del global de pacientes en función de hábito enólico.****FIGURA 7. Distribución del global de pacientes en función de hábito tabáquico.**

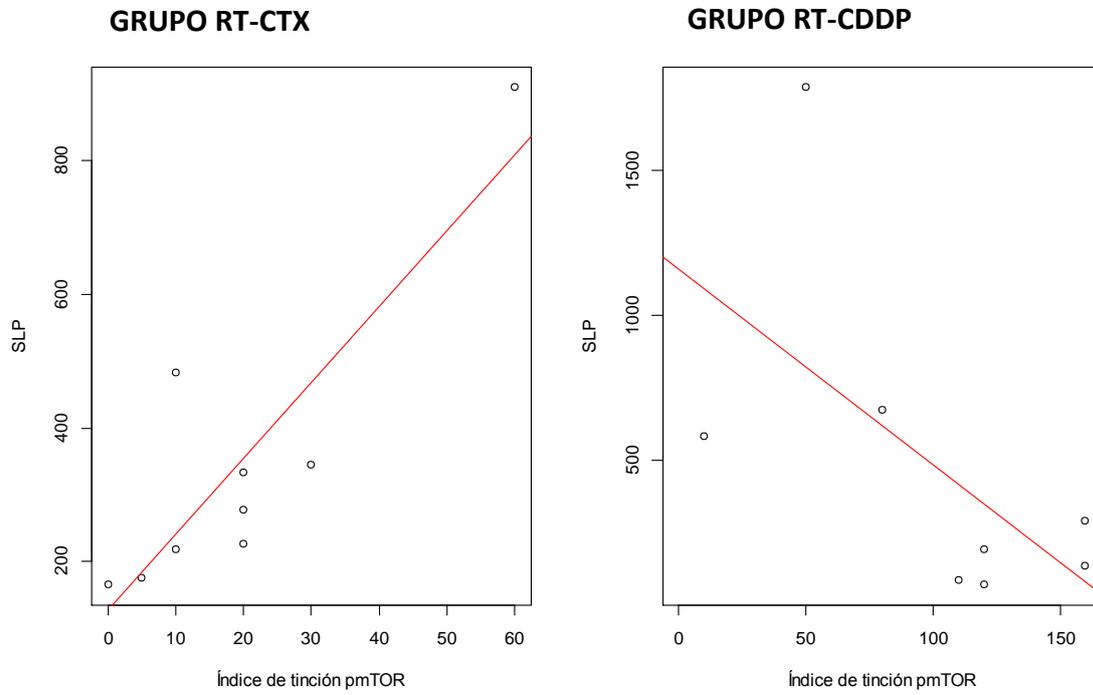
**FIGURA 8. Distribución del global de pacientes en función de localización.**



**FIGURA 9. Distribución del global de pacientes en función de estadio.**

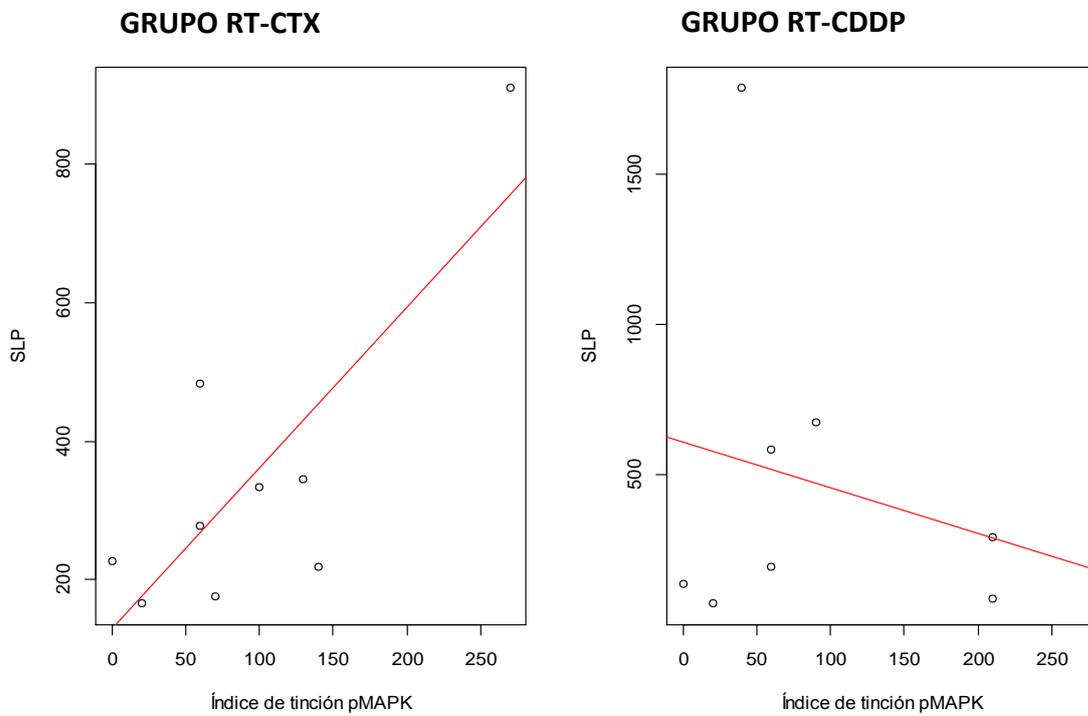


**FIGURA 10. Supervivencia libre de progresión y pmTOR en el grupo de tratamiento con radioterapia-cetuximab y radioterapia-cisplatino.**



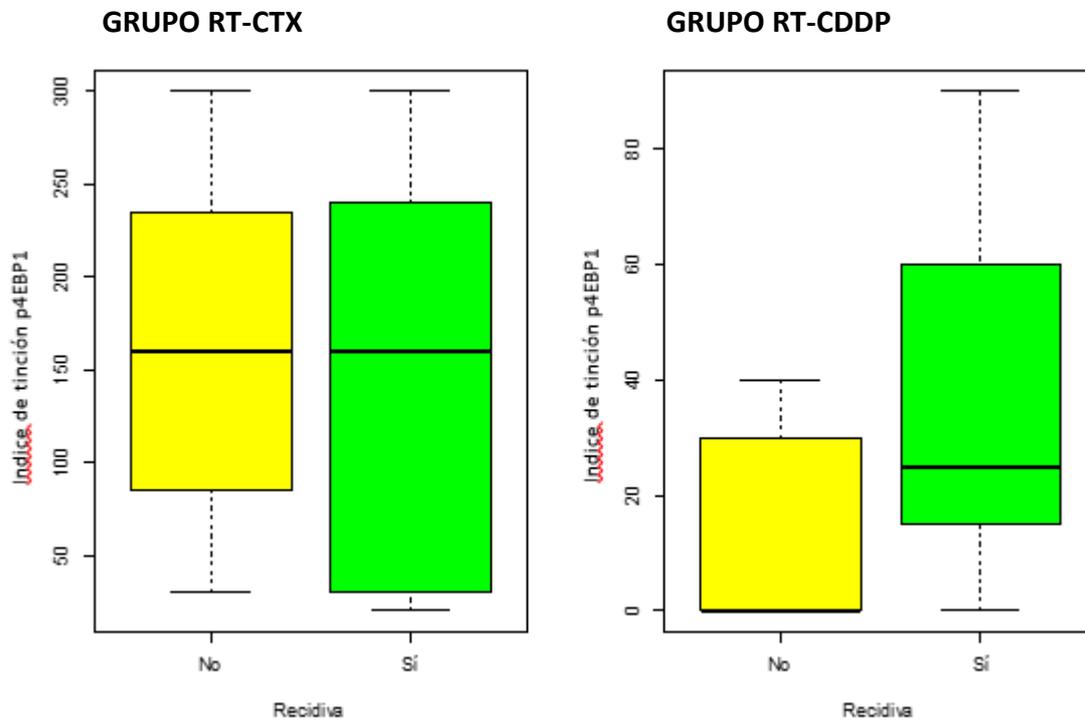
SLP: Supervivencia libre de progresión. RT. Radioterapia; CTX: Cetuximab; CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 11. Supervivencia libre de progresión y pMAPK en el grupo de tratamiento con radioterapia-cetuximab y radioterapia-cisplatino.**



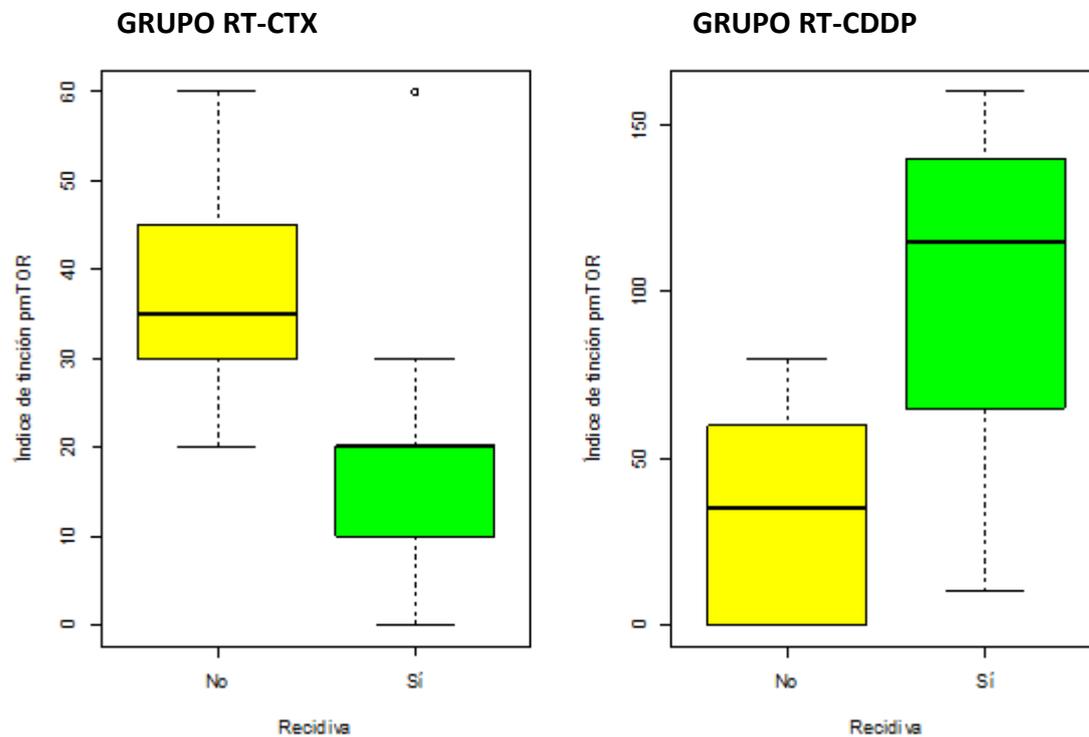
SLP: Supervivencia libre de progresión. RT. Radioterapia; CTX: Cetuximab; CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 12. Recidiva y p4EBP1 en el grupo de tratamiento con radioterapia-cetuximab y radioterapia-cisplatino.**



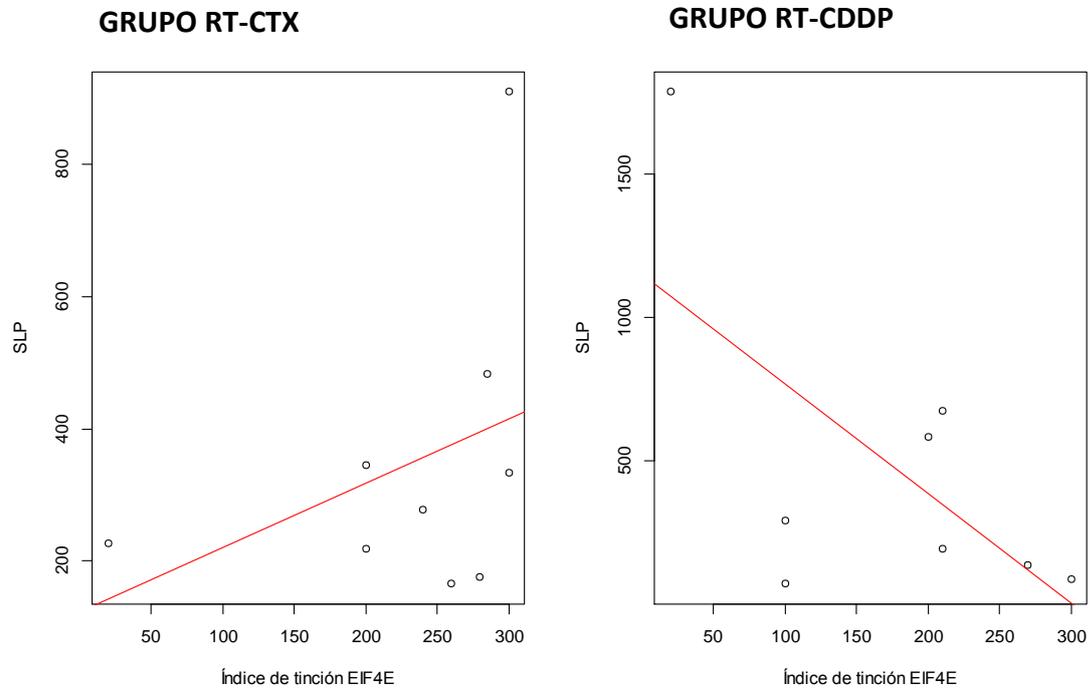
RT: Radioterapia; CTX: Cetuximab; CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 13. Recidiva y pmTOR en el grupo de tratamiento con radioterapia-cetuximab y radioterapia-cisplatino.**



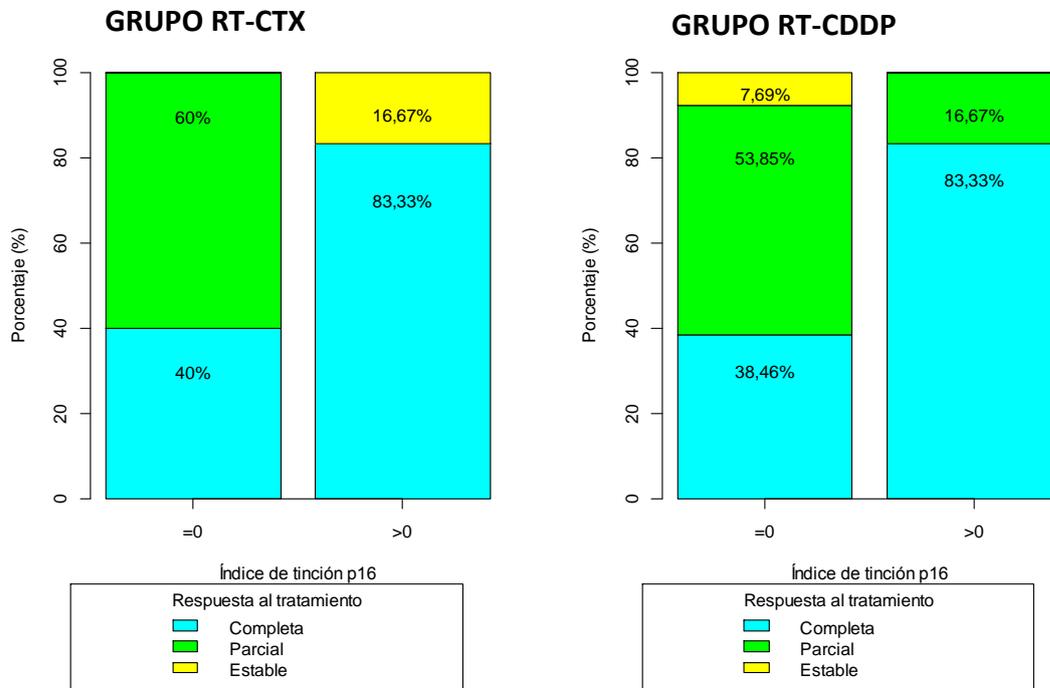
RT: Radioterapia; CTX: Cetuximab; CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 14. Supervivencia libre de progresión y eIF4E en el grupo de tratamiento con radioterapia-cetuximab y radioterapia-cisplatino.**

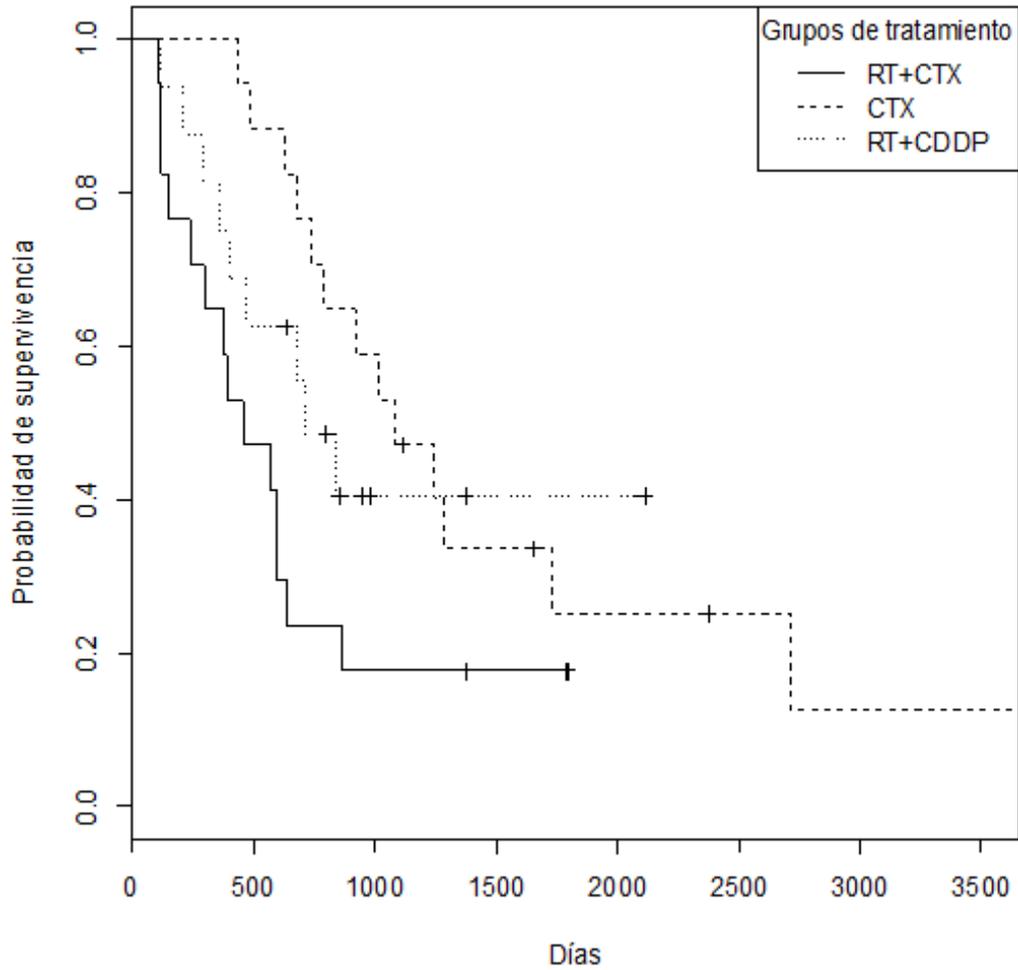


SLP: Supervivencia libre de progresión. RT: Radioterapia; CTX: Cetuximab; CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 15. Distribución de pacientes tratados con radioterapia-cetuximab o radio-terapia-cisplatino en función de p16 y respuesta al tratamiento.**



RT: Radioterapia; CTX: Cetuximab; CDDP: Cisplatino.

**FIGURA 16. Curva de Kaplan-Meier correspondiente a los grupos de tratamiento.**

Resultado del test log-rank para las tres curvas:  $p=0,0688$ .  
Resultado entre el grupo de RT+CTX vs. CTX:  $p=0,0238$ .  
Resultado entre el grupo de RT+CTX vs. RT+CDDP:  $p=0,1075$ .  
Resultado entre el grupo de CTX vs. RT+CDDP:  $p=0,4361$ .  
RT: Radioterapia. CTX: Cetuximab. CDDP: Cisplatino