



UNIVERSITAT DE BARCELONA

U

B

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

**DEPARTAMENTO
BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR**

**PREDICCIÓN DE RESPUESTA AL
TRATAMIENTO EN PACIENTES CON
CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y
CUELLO**

**MIGUEL ANGEL PAVÓN RIBAS
2009**

I. INTRODUCCIÓN

I INTRODUCCIÓN

1. EL CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO

1.1. EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON EL CARCINOMA DE CABEZA Y CUELLO

La denominación “carcinoma de cabeza y cuello” agrupa aquellos carcinomas que se originan en el tracto aerodigestivo superior, siendo las localizaciones más frecuentes la cavidad oral, la orofaringe, la hipofaringe y la laringe.² Agrupando todas las localizaciones, el carcinoma de cabeza y cuello es el sexto en cuanto incidencia en los países desarrollados (Figura 1).³ Su incidencia presenta variaciones dependiendo del área geográfica (Figura 2).

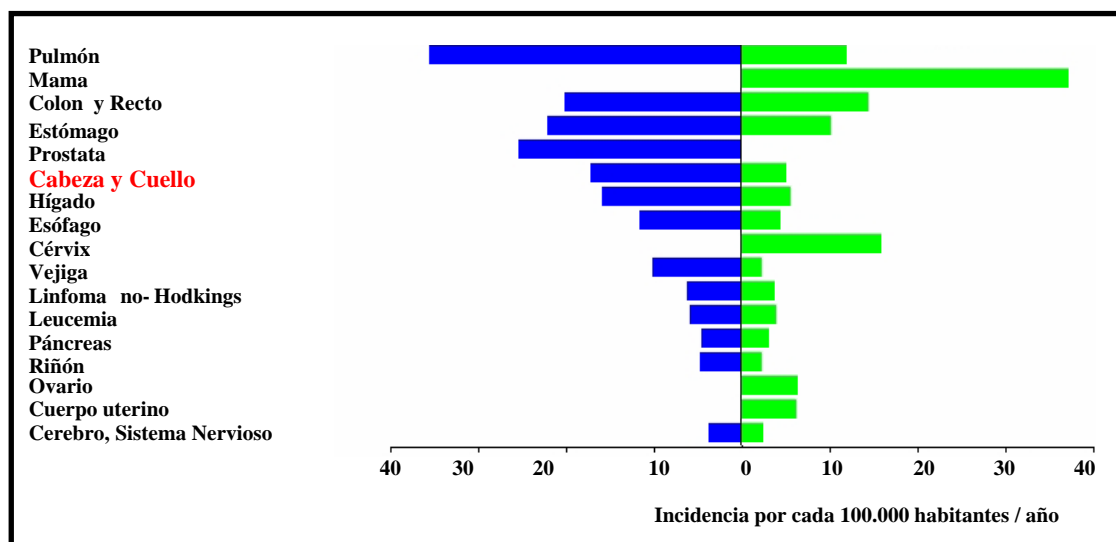


Figura 1. Incidencia del carcinoma de cabeza y cuello en la población mundial en el año 2002. Base de datos Globocan 2002 (Descriptive Epidemiology Group, IARC <http://www-dep.iarc.fr>).

En España, como en la mayoría de países del sur de Europa, la incidencia es elevada, presentándose 39 nuevos casos por cada 100.000 habitantes al año (Figura 2).

El 90% de los carcinomas de cabeza y cuello se desarrollan en la superficie de la mucosa formada por células escamosas y se clasifican bajo el subtipo de carcinomas escamosos de cabeza y cuello (CECC).² La supervivencia de los pacientes a los 5 años depende del control locoregional de la enfermedad, la presencia de metástasis a distancia y la aparición de tumores secundarios. Los factores de riesgo más asociados con la aparición del CECC son el consumo crónico de tabaco y alcohol.^{1,3} Su incidencia es mucho mayor en hombres que en mujeres debido a la incorporación tardía de la mujer al consumo de tabaco y alcohol. Recientemente, se ha descrito la infección por el

Introducción

Virus del Papiloma Humano (VPH) como un nuevo factor o cofactor de riesgo de desarrollo de CECC.^{1,3}

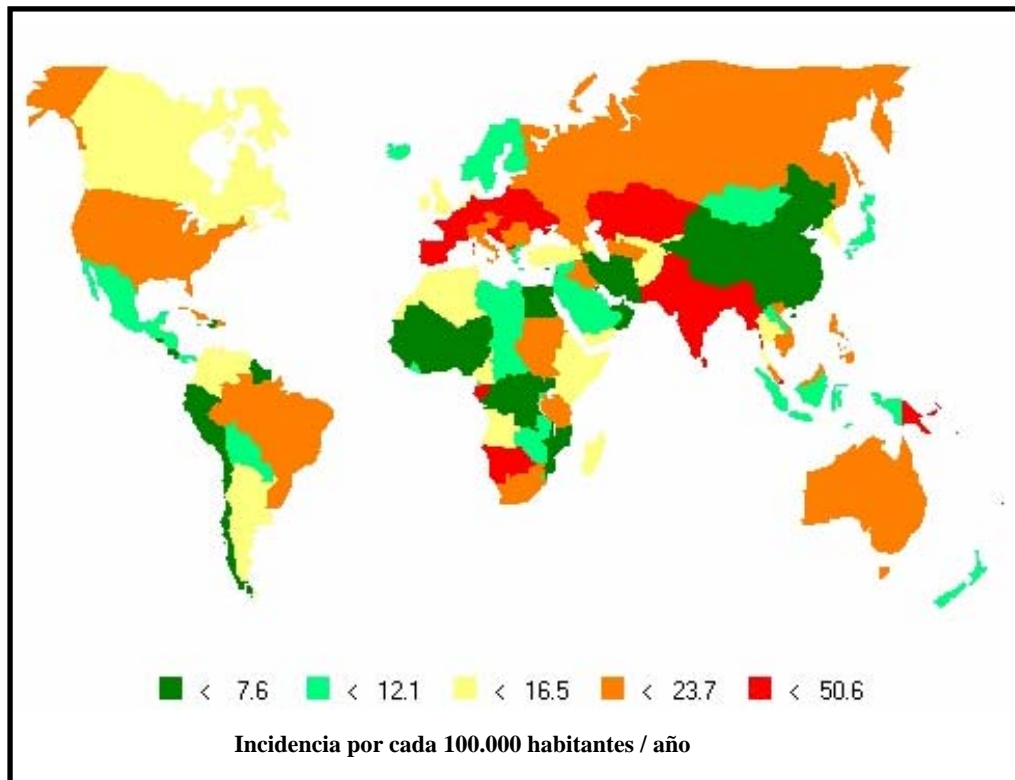


Figura 2. Incidencia del carcinoma de cabeza y cuello dependiendo del área geográfica. Base de datos Globocan 2002. Descriptive Epidemiology Group, IARC (<http://www-dep.iarc.fr>).

1.2. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DEL CARCINOMA DE CABEZA Y CUELLO

1.2.1. Clínica y diagnóstico

La sintomatología del CECC aparece tardíamente y depende en gran medida de la localización y extensión del tumor. Según la localización, el paciente puede presentar molestias en la deglución, disfagia, odinofagia, disfonías, aparición de ulceraciones o sensación de cuerpo extraño. Es bastante habitual que el primer signo de la enfermedad sea la aparición de una adenopatía cervical.⁴

Cuando existe sospecha de CECC, la exploración clínica se inicia con la inspección por palpación, seguida de exploración endoscópica. La endoscopia permite valorar macroscópicamente la morfología del tumor, su tamaño, la extensión y la movilidad de las cuerdas vocales, y se acompaña de la obtención de una biopsia para poder confirmar el diagnóstico mediante examen histológico. El estudio de imagen, por resonancia magnética nuclear (RMN) y/o tomografía computerizada (TC), resulta útil para definir

el alcance de la lesión y la afectación de regiones alejadas del tumor primario, que no son evidentes utilizando los métodos descritos anteriormente (Figura 3).⁵

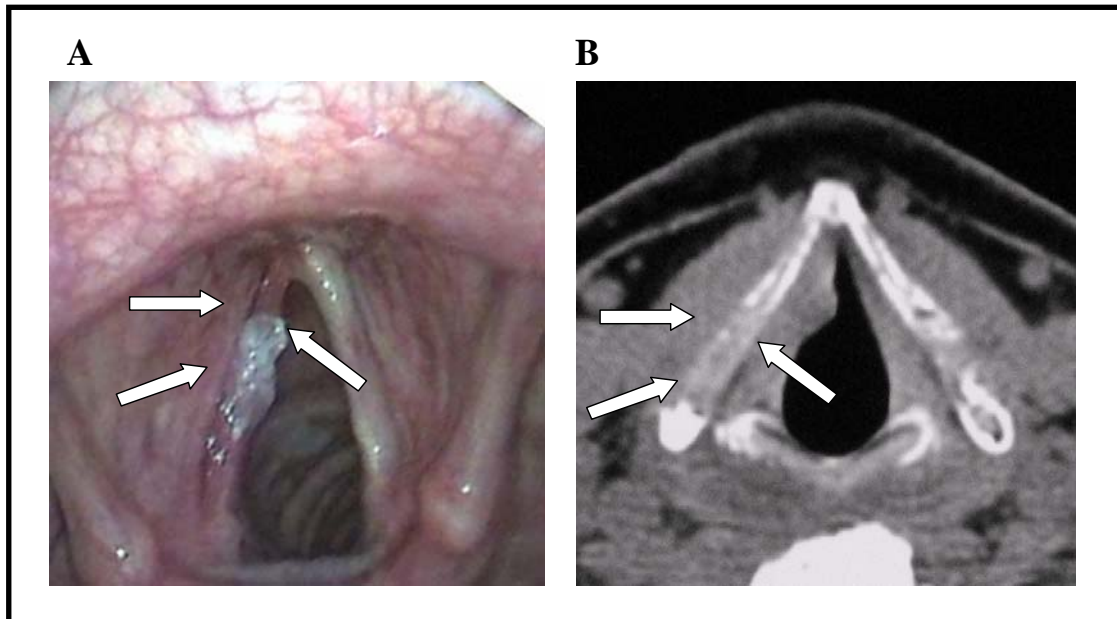


Figura 3. Examen clínico y radiológico de un tumor de laringe. A) Imagen del tumor obtenida por endoscopia. B) Imagen del tumor obtenida por tomografía computerizada. Imágenes cedidas por el departamento de otorrinolaringología y radiología del “Hospital de la Santa Creu i Sant Pau”.

1.2.2. Clasificación TNM

Como en la mayoría de tumores sólidos, el sistema de clasificación más utilizado para el estadiaje de los CECC es la clasificación TNM. La clasificación TNM tiene en cuenta el tamaño del tumor (T; *Tumor*), la afectación de ganglios linfáticos regionales (N; *Node*) y la presencia de metástasis a distancia (M; *Metastasis*).⁶ Inicialmente, se definen los tres parámetros descritos de manera independiente y, posteriormente, se agrupan los tumores en cuatro estadios (Tabla 1 y 2). Los estadios I y II se consideran iniciales mientras que los III y IV son avanzados. Dentro del estadio IV se han definido tres subcategorías. El estadio IVA agrupa tumores localmente avanzados que son abordables mediante cirugía radical y son, por tanto, operables. El estadio IVB agrupa aquellos tumores localmente avanzados que se definen como no operables, ya que técnicamente no es posible researlos quirúrgicamente. El estadio IVC agrupa aquellos pacientes en estadio IV que presentan metástasis a distancia. Los estadios III, IVA y IVB se consideran localmente avanzados. La mayoría de los CECC se diagnostican en estadios avanzados (III y IV) ya que frecuentemente el primer signo de la enfermedad es la aparición de una adenopatía cervical. El estadio tumoral posee valor pronóstico y se

Introducción

utiliza habitualmente en la práctica clínica para definir el protocolo terapéutico que debe seguir el paciente una vez establecido su diagnóstico.

Tabla 1. Estadaje del CECC. Definición de la extensión y del tamaño tumoral (T), de la afectación de ganglios linfáticos regionales (N) y de la presencia de metástasis a distancia (M) siguiendo la clasificación TNM.

Extensión del tumor primario (T)*
<p>T1: Tumor con un tamaño igual o inferior a 2 cm en su diámetro mayor. En la laringe se define como un tumor limitado a una zona con movilidad normal de las cuerdas vocales.</p> <p>T2: Tumor con un tamaño mayor que 2 cm e inferior a 4 cm en su diámetro mayor. En la laringe se define como un tumor que invade más de una zona y que puede extenderse hasta una cuerda vocal que permanece móvil o que presenta alguna disminución de la movilidad.</p> <p>T3: Tumor con un tamaño mayor que 4 cm. En la laringe se define como un tumor que invade ambas cuerdas vocales y que permanece dentro de la laringe.</p> <p>T4: El crecimiento del tumor atraviesa el espacio ocupado por la mucosa, invadiendo otros tejidos como el músculo, la arteria carótida, el cartílago tiroideos, la tráquea, el espacio prevertebral, las estructuras mediastínicas o los tejidos blandos del cuello.</p> <p>* El Tamaño del tumor se establece a partir de la medición por RMN o TC de sus dos diámetros mayores. Los tumores de laringe no forman masas esféricas, de modo que el tamaño del tumor se define determinando que tejidos o estructuras adyacentes invade el tumor y no por la medición de los diámetros tumorales.</p>
Afectación de los ganglios linfáticos regionales (N)
<p>N0: Ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos</p> <p>N1: Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral con un tamaño igual o menor que 3 cm.</p> <p>N2: Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral con un tamaño mayor que 3 cm e igual o menor a 6 cm. Metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales con un tamaño igual o menor que 6 cm. Metástasis en ganglios linfáticos contralaterales o bilaterales con un tamaño igual o menor que 6 cm.</p> <p>N3: Metástasis en los ganglios linfáticos con un tamaño superior a 6 cm.</p>
Metástasis a distancia (M)
<p>M0: Ausencia de metástasis a distancia.</p> <p>M1: Presencia de metástasis a distancia.</p>

Tabla 2. Agrupación de los CECC en estadios, siguiendo el sistema de clasificación TNM.

ESTADIO I	ESTADIO II	ESTADIO III	ESTADIO IV
T1, N0, M0	T2, N0, M0	T3, N0, M0 T1, N1, M0 T2, N1, M0 T3, N1, M0	T4, N0, M0 T4, N1, M0 T1, N2, M0 T2, N2, M0 T3, N2, M0 T4, N2, M0 Cualquier T, N3, M0 Cualquier T, cualquier N, M1
ESTADIOS INICIALES		ESTADIOS AVANZADOS	

1.3. PATOLOGÍA DEL CECC

El 90% de los tumores de cabeza y cuello presentan una histología de tipo escamoso-celular, clasificándose bajo el grupo de carcinomas escamosos de cabeza y cuello (CECC).² También existen variedades de carcinoma de cabeza y cuello no escamoso que se presentan con muy baja frecuencia, como aquellos que se originan a partir de las glándulas o de las células neuroendocrinas presentes en la mucosa, y cuyo manejo terapéutico difiere considerablemente del tipo escamoso usual.^{7, 8} En este trabajo nos centramos en los de tipo escamoso. Otro subgrupo de tumores de cabeza y cuello con características alejadas de los de tipo escamoso usual son los tumores de nasofaringe. La epidemiología, patología, tratamiento clínico y evolución de los tumores de nasofaringe es diferente a los de tipo escamoso usual.⁹ Por esta razón, hemos excluido del estudio los tumores de nasofaringe.

La cavidad oral, la orofaringe y la hipofaringe están recubiertas por epitelio escamoso estratificado no-queratinizante.¹⁰ En cambio la laringe está recubierta por epitelio respiratorio ciliado, que a medida que avanza la edad del individuo se va sustituyendo por epitelio escamoso estratificado no-queratinizante, mediante un proceso de metaplasia.¹⁰ El carcinoma escamoso de cabeza y cuello se origina a partir del epitelio escamoso que recubre el tracto aerodigestivo superior.

En condiciones normales, el epitelio escamoso presenta una maduración en capas bien definidas, desde un estrato basal de células con escaso citoplasma y núcleo blástico hasta los estratos superficiales compuestos por células con un amplio citoplasma y núcleo pequeño e hiperromático. El carcinoma escamoso usual presenta una proliferación desordenada de las células del epitelio escamoso, perdiendo en gran medida la capacidad de maduración en estratos (Figura 4). Las células de CECC

Introducción

presentan un citoplasma amplio eosinófilo, puentes de unión intercelular y queratinización. En el carcinoma escamoso invasivo se pierde la organización de la membrana basal y las células tumorales invaden el espacio submucoso.¹¹

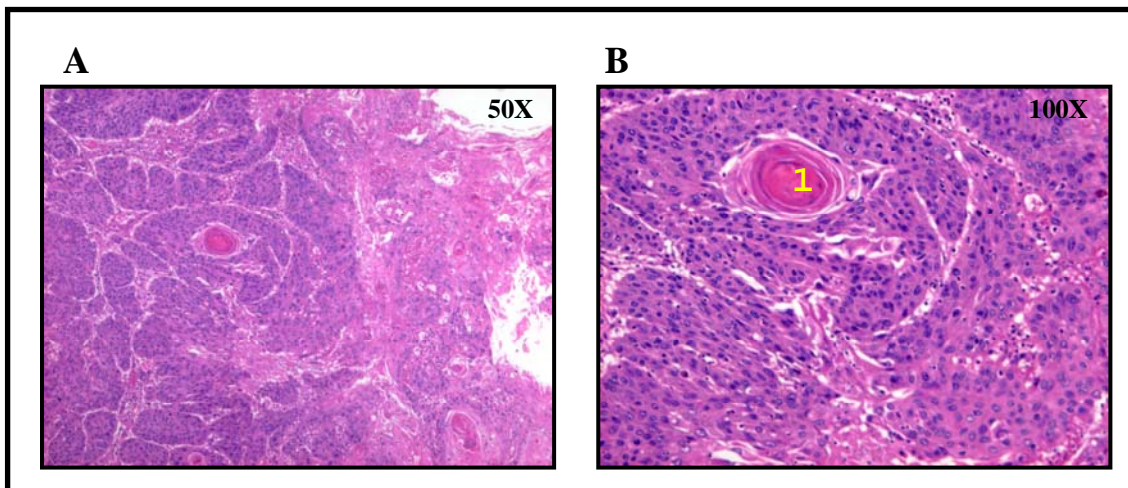


Figura 4. Histología de una biopsia tumoral de CECC teñida con hematoxilina eosina. A) Imagen tomada a 50X. B) Imagen tomada a 100X. Las células tumorales pierden el proceso de maduración en estratos, invaden el espacio submucoso y secretan queratina, que se acumula formando depósitos (1) característicos de los CECC con un elevado grado de diferenciación escamosa.

Los CECC se clasifican según su grado de diferenciación escamosa en bien diferenciados, moderadamente diferenciados o mal diferenciados (indiferenciados) (Figura 5).¹² El grado de diferenciación se establece según el grado de queratinización, la presencia de puentes intercelulares, el pleomorfismo celular, la presencia de figuras mitóticas y el tipo de crecimiento en los márgenes tumorales (crecimiento expansivo o infiltrante). Los tumores bien diferenciados son frecuentes en la cavidad oral y la laringe, mientras que los mal diferenciados suelen localizarse en la faringe.

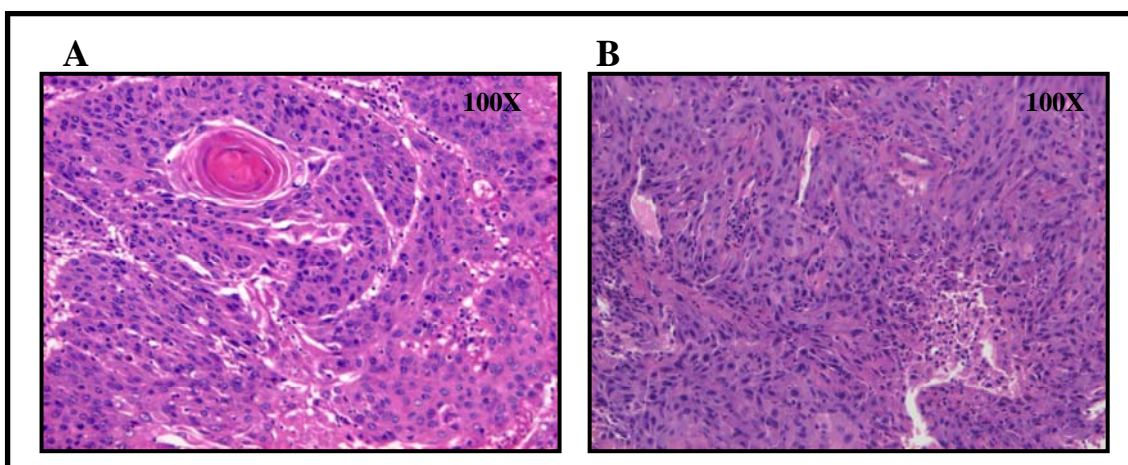


Figura 5. Histología de dos biopsias de CECC con diferente grado de diferenciación A) Tumor bien diferenciado B) Tumor indiferenciado.

Menos del 5 % de los CECC presentan una morfología atípica y se clasifican bajo subtipos diferentes (CE verrucoso, CE sarcomatoide, CE basaloide).^{1, 10} Dicha clasificación responde al hecho de que estos tumores manifiestan un comportamiento biológico distinto y su manejo terapéutico difiere considerablemente de los de tipo escamoso usual.

La exposición continua del epitelio escamoso normal a los carcinógenos del tabaco y del alcohol induce una serie de cambios histológicos en la mucosa normal, siendo el más común la hiperplasia (Figura 6). La hiperplasia se caracteriza por un aumento de la densidad celular del epitelio, así como por la acumulación de queratina en la superficie de la mucosa. No se considera una lesión neoplásica y su aparición, generalmente, es de carácter reversible. Cuando la acumulación de queratina es evidente, estas lesiones se denominan leucoplasias. La presencia de leucoplasias se asocia con un aumento del riesgo de desarrollar displasia o carcinoma escamoso.^{13, 14} No obstante, su riesgo de malignización no es muy elevado y difiere mucho entre estudios. La hiperplasia también puede manifestarse mediante la aparición de manchas rojizas en la mucosa aerodigestiva que se denominan eritroplasias. Las eritroplasias son menos frecuentes que las leucoplasias pero se asocian de modo significativo con la aparición de displasias o carcinomas escamosos.¹⁵

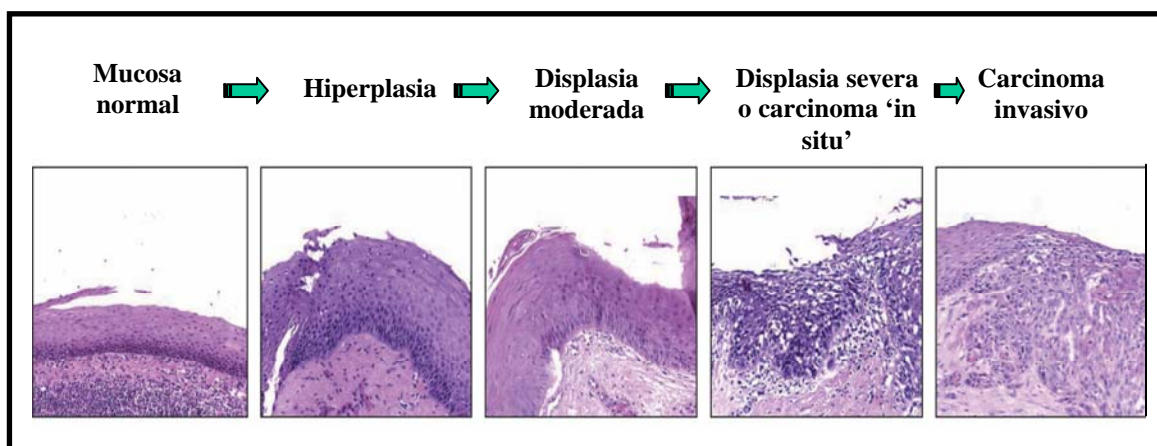


Figura 6. Histología de las diferentes etapas de progresión de un CECC (Tinción H&E). Adaptado de Argiris y col. (2008).¹

La displasia es una lesión pre-maligna que se caracteriza por la falta de maduración de la mucosa así como por la presencia de atípias celulares, como el pleomorfismo nuclear y las alteraciones del tamaño del citoplasma. Las displasias pueden clasificarse según su grado de diferenciación en moderadas, medias o severas, y aumentan considerablemente el riesgo de desarrollar un CECC.¹ Las displasias severas que presentan una pérdida

Introducción

aguda de la maduración del epitelio y una elevada presencia de atípias celulares se consideran carcinomas “in situ”. Cuando las células tumorales invaden el espacio submucoso se produce la transición de carcinoma “in situ” a carcinoma invasivo.¹

1.4. TRATAMIENTO DEL CECC

El tratamiento del CECC depende del estadio en el cual se diagnostica el tumor (Figura 7). Los estadios iniciales (I y II) se tratan mediante radioterapia o cirugía. En estadios localmente avanzados el tratamiento es multimodal, y de manera habitual conlleva la utilización de quimioterapia, radioterapia y/o cirugía. En los pacientes con neoplasias en estadios avanzados y metástasis a distancia, el tratamiento depende del alcance de la lesión producida por el tumor primario, así como del tipo de metástasis que presenta el paciente.

1.4.1. Tratamiento de los estadios iniciales (I y II)

Los estadios iniciales (I y II) se tratan mediante radioterapia (RT) o cirugía. Ambos tratamientos permiten preservar la función del órgano (calidad de la voz y capacidad de deglución) y obtener tasas de curación elevadas.^{1, 16}

No obstante, no se han descrito estudios randomizados en pacientes con tumores en estadios iniciales, que comparen ambos tratamientos. Por este motivo, no se ha podido determinar cual de los dos tratamientos es más eficaz en el control locoregional de la enfermedad y si existen diferencias en la supervivencia global de los pacientes. Tampoco se han descrito estudios randomizados en los que se compare el grado de mantenimiento de la función del órgano en pacientes tratados con cirugía en comparación con los tratados con RT.

1.4.2. Tratamiento de los estadios avanzados (III y IV)

En estadios localmente avanzados (III y IV), la cirugía produce efectos mutilantes, como son la pérdida de la capacidad fonatoria y la presencia de un estoma traqueal permanente. La introducción de la quimioterapia al tratamiento del CECC en estadio avanzado ha permitido aumentar la tasa de preservación de la función del órgano, sin que ello conlleve una disminución del porcentaje de curación obtenido con los protocolos clásicos de cirugía radical seguida de radioterapia (RT).¹⁷ Los protocolos de tratamiento que incorporan quimioterapia, y que permiten preservar la función del órgano, han ido desplazando a la cirugía radical como primera y única maniobra terapéutica. Actualmente, los protocolos de tratamiento más utilizados en pacientes con

tumores en estadios localmente avanzados son la quimioterapia de inducción (QTI), seguida de radioterapia o cirugía, y la quimiorradioterapia concomitante (QRT).¹⁷

La quimioterapia de inducción (QTI) o neoadyuvante consiste en la administración de tres ciclos de quimioterapia (generalmente cisplatino en combinación con 5-Fluorouracilo) seguidos de RT o cirugía radical, dependiendo de la respuesta que presente el tumor. Se ha descrito que la QTI predice la respuesta tumoral a la RT y la supervivencia global de los pacientes con CECC en estadios localmente avanzados.^{18, 19}

Los pacientes con tumores que responden a la QTI son candidatos a un tratamiento conservador con RT hiperfraccionada, mientras que los pacientes con tumores no respondedores son tratados mediante cirugía radical y frecuentemente con radioterapia post-operatoria. La QTI seguida de radioterapia aumenta significativamente la tasa de preservación de la función del órgano, mejora el control a distancia de la enfermedad y mantiene la misma tasa de supervivencia global de los pacientes cuando se compara con la cirugía radical como único tratamiento.²⁰

En los últimos años, diversos estudios randomizados sugieren que la QRT concomitante mejora la supervivencia global de los pacientes y el control locoregional de la enfermedad, en comparación con la QTI seguida de RT o cirugía, y la cirugía seguida de RT.²¹ No obstante, la QRT no es tan eficaz como la QTI seguida de RT o cirugía en el control de las metástasis a distancia, y su elevada toxicidad dificulta la práctica de la cirugía de rescate en aquellos pacientes en los que el tumor recidiva.¹

También se han desarrollado abordajes híbridos en los que se aplica QTI seguida de QRT o cirugía.¹⁷ Estos protocolos intentan aprovechar la capacidad de la QTI para distinguir los tumores respondedores de los no respondedores y la mayor tasa de control locoregional de la enfermedad que se obtiene con la QRT. La QRT concomitante, como único tratamiento, suele reservarse para aquellos pacientes que desde su diagnóstico se definen como no operables y que no obtendrían ningún beneficio al recibir un protocolo de inducción.

Introducción

En nuestro centro, el protocolo habitual para el tratamiento de los CECC, en estadios localmente avanzados candidatos a cirugía radical, consiste en la administración de QTI seguida de radioterapia (RT) hiperfraccionada, habiéndose substituido progresivamente la RT por QRT (Figura 7). Los pacientes no operables siguen un tratamiento de QRT concomitante desde su inicio.

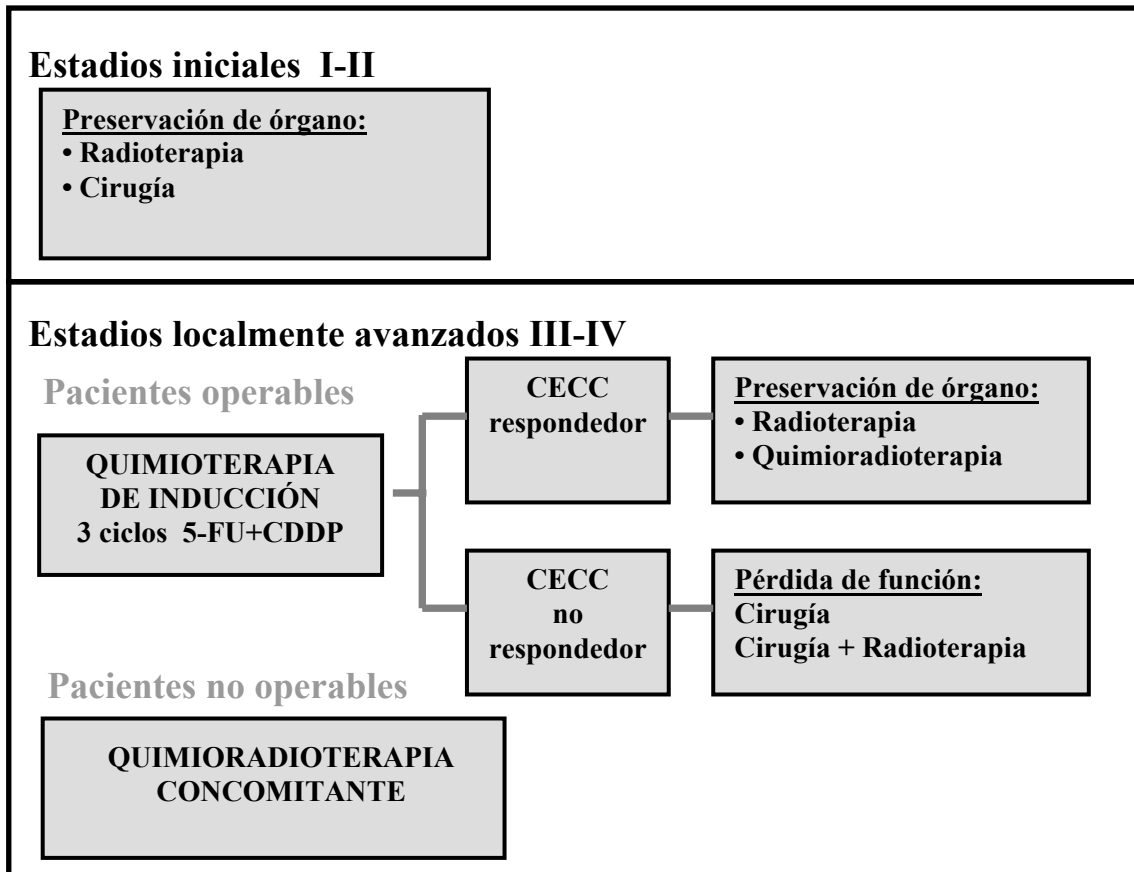


Figura 7. Protocolo de tratamiento utilizado en el “Hospital de la Santa Creu i Sant Pau” en pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello.

2. BASES MOLECULARES DEL CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO

2.1. MODELO DE PATOGÉNESIS

El desarrollo del CECC es un proceso secuencial que se inicia por la inactivación de genes supresores de tumor y la activación de proto-oncogenes que confieren a las células una ventaja proliferativa. Los clones celulares resultantes van acumulando alteraciones genéticas que, a través de pasos intermedios, conducen a la transformación de las células epiteliales, de la mucosa normal, en células tumorales que progresan desordenadamente y originan un tumor. En el CECC, la acumulación de alteraciones genéticas y cromosómicas viene acompañada por la progresión desde la mucosa pre-maligna (hiperplasia, leucoplasia o eritroplasia) hasta el carcinoma invasivo, pasando por los estadios de displasia y carcinoma “in situ” (Figura 8).²²

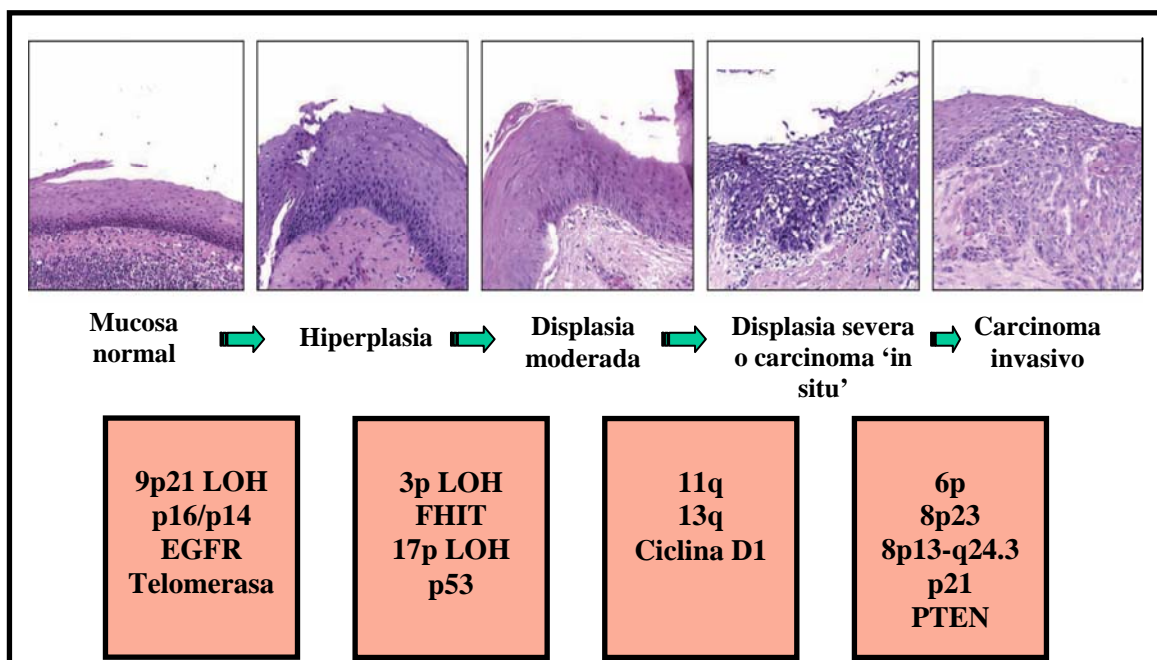


Figura 8. Modelo de patogénesis del CECC. La acumulación de alteraciones genéticas y cromosómicas viene acompañada de una transición desde un epitelio escamoso normal hasta un carcinoma invasivo pasando por los estadios de hiperplasia, displasia y carcinoma “in situ”. Adaptado de Argiris y col.(2008).¹

La pérdida de heterocigosidad (LOH) en la región 9p21 es un evento temprano en la progresión del CECC.^{23, 24} Se observa en un elevado porcentaje de lesiones pre-malignas (como hiperplasias o displasias) y en un 70% de los CECCs.^{23, 25} En esta región se aloja el gen supresor de tumores CDKN2 que da lugar a dos transcritos (p16 y p14^{ARF}) a partir del mismo locus.²⁶ P16 inhibe la progresión del ciclo celular en la fase G1/S a través de la inactivación de las quinasas CDK4 y CDK6, inhibiendo de este

Introducción

modo la fosforilación de Rb.²⁶ P14^{ARF} impide que p53 se una a su inhibidor MDM2, ejerciendo de este modo un efecto antiproliferativo. La inactivación de p16 y p14^{ARF} desregula el ciclo y favorece la proliferación celular descontrolada. La inactivación de p16 también se puede producir por metilación del promotor y con menor frecuencia por mutaciones puntuales.²⁶ Otros genes supresores de tumor alojados en la región 9p21-22 son IFNA y p15.²⁷

La pérdida de heterocigosidad (LOH) en la región 3p es otro evento temprano que está presente en lesiones pre-cancerosas y en el CECC.²⁸ En la región 3p se alojan los genes FHIT y RASSF1, candidatos a genes supresores de tumor.^{28, 29} En el CECC, como en otros tipos tumorales, se han descrito alteraciones en el proceso de transcripción de FHIT.²⁸ La pérdida de expresión de FHIT se asocia con una disminución de la supervivencia libre de enfermedad.³⁰ La inactivación de RASSF1, por metilación, se observa en diversos tipos tumorales, aunque sólo en una pequeña proporción de los CECC.²⁹ No obstante el papel de FHIT y RASSF1 en el proceso de iniciación y progresión del CECC aún no se ha definido.

En el CECC, como en la mayoría de tumores sólidos, son frecuentes las alteraciones en p53 debidas tanto a la pérdida de heterocigosidad en la región 17p como a mutaciones puntuales en el gen.^{31, 32} Entre las funciones de p53 destacan la regulación del ciclo y de la proliferación celular, la activación de los mecanismos de reparación del DNA y la inducción de muerte por apoptosis. Su inactivación produce inestabilidad genética, facilitando así la aparición de mutaciones secundarias. La mutación de p53 está relacionada con la progresión de lesiones pre-invasivas a invasivas. P53 también puede ser inactivado por metilación o por la unión a su inhibidor MDM2.³³

La sobre-expresión de EGFR o de su ligando TGF α es un fenómeno frecuente en la patogénesis del CECC asociada con la transición de displasia a carcinoma invasivo.³⁴ La sobre-expresión de EGFR se puede producir por desregulación de p53, polimorfismos en el intrón 1 del gen o por procesos de amplificación.³⁴ También se pueden sobre-expresar otros miembros de la familia c-erbB como erbB2, erbB3 y erbB4. La sobre-expresión de EGFR, erbB2 y erbB4 se observa tanto en el carcinoma “in situ” como en el invasivo.³⁴ Sin embargo, la sobre-expresión de erbB3 es más específica del CECC invasivo.³⁴ La sobre-expresión de TGF α es frecuente tanto en el epitelio hiperplásico como en el carcinoma, especialmente en las células del componente inflamatorio que forman parte del tumor.³⁵ La unión de EGFR a su ligando induce la dimerización del receptor, que a su vez se autofosforila y activa diversas vías

de señalización, entre las que destacan la vía de las MAP quinasas y la vía PI3 quinasa/AKT.³⁶ Estas vías regulan múltiples procesos biológicos como son la proliferación celular, la angiogénesis y la apoptosis, y su alteración contribuye de manera fundamental al proceso de malignización. En el CECC, la sobre-expresión de EGFR aumenta la proliferación, favorece la progresión del tumor hacia estadios más avanzados y el desarrollo de metástasis.³⁴

La alteración de las regiones cromosómicas 11q y 13q es frecuente en etapas más avanzadas de la progresión. Un tercio de los CECCs presentan amplificación en la región 11q13, donde se aloja el gen CCND1 que codifica la proteína ciclina D1.^{37, 38} La ciclina D1 participa en la regulación del ciclo celular, facilitando la progresión de la fase G1 a la fase S, a través de la inhibición por fosforilación del supresor de tumor Rb.³⁸ En la región cromosómica 11q13 también se alojan los oncogenes Int-2, Hst-1 y Bcl-1 que juegan un papel relevante en la proliferación celular y la angiogénesis.³⁸ La amplificación de Int-2 y Hst-1 se produce en un 30-52% de los CECCs.³⁸

La sobre-expresión de ciclina D1, junto con la inactivación de p16 y p53, conduce a la desregulación del ciclo celular y a un aumento de la proliferación celular que contribuye de manera substancial al proceso de tumorigénesis.

Como eventos tardíos también se pueden observar alteraciones cromosómicas en las regiones 6p, 8p23 o 8q13-q24.3.³⁹ En la región 6p se encuentra el inhibidor de CDKs p21 que participa en la regulación del ciclo celular en respuesta al daño genotóxico. Su expresión esta alterada tanto en displasias como en CECC.^{40, 41} También se ha descrito un aumento de la actividad telomerasa indispensable para que las células transformadas escapen de los procesos de senescencia y se conviertan en inmortales.^{42, 43} Un 28% de las leucoplasias orales y un 84% de los CECC presentan actividad telomerasa.⁴⁴

Los cambios histológicos y genéticos, que se observan a lo largo del tiempo durante la transición de epitelio escamoso normal a carcinoma invasivo, pueden también observarse de un modo espacial. En la mucosa oral de un mismo paciente se puede observar una progresión desde el epitelio normal hasta el carcinoma “in situ” o invasivo pasando por diferentes grados de displasia. Este fenómeno se denomina cancerización por campos (“Field cancerization”) y fue descrito por primera vez por Slaughter.⁴⁵ La exposición continuada al tabaco y al alcohol produce alteraciones en diversas áreas de la mucosa del tracto aerodigestivo superior, que posteriormente pueden progresar hasta carcinoma (Figura 9). El proceso de cancerización por campos explica la facilidad con

Introducción

la que aparecen tumores secundarios en pacientes con CECC previamente tratados.⁴⁶ No obstante, se precisan más estudios para esclarecer si los tumores secundarios son fruto del proceso de cancerización por campos o si por el contrario son debidos a un proceso de metástasis locoregional. Las alteraciones genéticas que se observan en las diversas etapas de transición son similares a las observadas durante su desarrollo temporal.

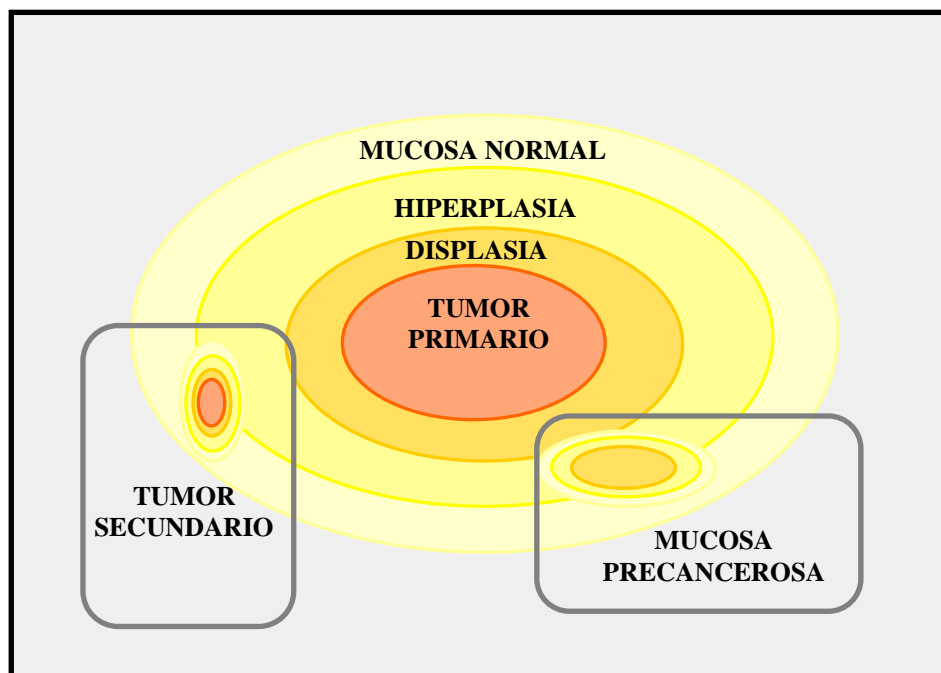


Figura 9. Cancerización por campos (“Field cancerization”)

Recientemente, se ha descrito la infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH) como un nuevo factor o cofactor de riesgo asociado al CECC.⁴⁷ Los CECC positivos para VPH (VPH+) muestran una menor asociación con los factores de riesgo habitualmente ligados al CECC, como son el consumo crónico de tabaco y alcohol,⁴⁸ y presentan algunas alteraciones genéticas distintas a los CECC negativos para VPH (VPH-). Por esta razón, algunos autores, proponen un modelo patogénico distinto para los CECC VPH+ al descrito en el apartado anterior. Un 26% de los CECC analizados por PCR presenta infección por VPH, siendo el VPH16 el genotipo más frecuente.⁴⁹ La prevalencia varía significativamente dependiendo de la localización, siendo la orofaringe la más frecuente.⁵⁰ La infección por VPH aumenta significativamente el riesgo de padecer un carcinoma escamoso especialmente de orofaringe u oral.⁴⁷ Los pacientes con carcinoma de orofaringe VPH+ tratados con QTI presentan mayor

supervivencia global que los pacientes con tumores VPH.⁵¹ El CECC VPH+ presenta una histología basaloide, no queratinizante y no presenta mutaciones en p53.

Las proteínas oncogénicas víricas E6 y E7 son las responsables de la capacidad transformante del VPH.⁵² E6 se une a p53 y a la proteína pro-apoptótica Bak promoviendo su degradación.⁵³ La pérdida de p53 altera la regulación del ciclo celular, aumenta la proliferación celular y genera inestabilidad genómica. La inhibición de Bak disminuye el proceso de señalización apoptótica, aumentando la capacidad de proliferación de las células infectadas. La oncoproteína E6 también promueve la sobreexpresión del enzima telomerasa cuya función es mantener la longitud de los telómeros, un evento necesario en la malignización celular.⁵⁴

La oncoproteína E7 interacciona con las proteínas de la familia del gen del retinoblastoma (Rb, p107 y p130).⁵² La proteína Rb regula la progresión del ciclo celular a través de la inhibición del factor de transcripción E2F, que a su vez activa la síntesis de DNA. La unión de E7 a Rb, libera el factor de transcripción E2F, promoviendo la síntesis de DNA en las células infectadas. Las proteínas p107 y p130, que controlan la transición del ciclo celular en las fases G0/G1, G1/S y G2/M, son inactivadas por la oncoproteína E7, liberando las células infectadas de los puntos de control interfásico descritos. E7 también puede activar la ciclina A, que a su vez inhibe p16 produciendo un aumento de la progresión de las células a través del ciclo celular.

En resumen, las oncoproteínas E7 y E6 liberan a la célula de los puntos de control interfásicos, promueven un aumento de la proliferación celular y disminuyen el proceso de señalización apoptótica. La pérdida de control del ciclo celular genera una pérdida de fidelidad en la replicación de DNA, favoreciendo la aparición de mutaciones y alteraciones cromosómicas que confieren a las células infectadas una serie de cambios genéticos adicionales que permiten su progresión hasta un estado neoplásico.

2.2. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA RADIOTERAPIA Y LA QUIMIOTERAPIA

2.2.1. Radioterapia

La radiación ionizante se utiliza desde hace más de un siglo en el tratamiento del cáncer. Actualmente, numerosos tipos tumorales son tratados con radioterapia, pudiéndose administrar como tratamiento único o en combinación con quimioterapia. La radioterapia se utiliza habitualmente en el tratamiento del CECC en estadios iniciales y también en combinación con quimioterapia en el tratamiento de estadios localmente avanzados (Ver apartado 1.4.)

La radioterapia se administra de manera regional o local, y su mecanismo de acción se basa en su capacidad de producir daño en el DNA de las células tumorales. La radiación ionizante puede generar roturas en el DNA de modo directo, o a través de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que oxidan al DNA y acaban produciendo roturas en la doble hélice.⁵⁵

2.2.2. 5-Fluorouracilo (5-FU)

El 5-Fluorouracilo es un fármaco antitumoral utilizado de manera habitual en el tratamiento de múltiples tipos de cáncer, como son los de mama, colon y CECC. Cuando se utiliza como quimioterápico único en el tratamiento del CECC la tasa de respuesta no supera el 15%.⁵⁶ En combinación con otros fármacos como el cisplatino la tasa de respuesta aumenta hasta el 60%-70%.⁵⁷

El 5-FU es un análogo del uracilo (Figura 10), que induce parte de su actividad genotóxica por inhibición de la enzima Timidilato Sintasa (TS), que participa en la síntesis de deoxitimidina monofosfato (dTMP) a partir de deoxiuridina monofosfato (dUMP).⁵⁸ El 5-FU utiliza los sistemas celulares de transporte de nucleótidos para entrar al interior de la célula donde es metabolizado a fluorodeoxiuridina monofosfato (FdUMP) que es su forma activa. La inhibición de la TS produce una acumulación de deoxiuridina trifosfato (dUTP) e impide la formación de deoxitimidina trifosfato (dTTP), generando de este modo, un desequilibrio en la síntesis del resto de deoxinucleótidos (dNTPs) necesarios para la síntesis de DNA. El aumento de dUTP, conjuntamente con la disminución del resto de dNTPs, produce alteraciones en la replicación del DNA, como son incorporaciones erróneas de dUTP.⁵⁹ Por otro lado, algunos metabolitos resultantes del metabolismo intracelular del 5-FU, como la fluorodeoxiuridina trifosfato (FdUTP), pueden incorporarse al DNA como análogos del dTTP, impidiendo la progresión de la síntesis de DNA. La interrupción de la síntesis

mantiene las dos hebras de DNA abiertas, facilitando que se produzcan roturas. Los intentos de reparación de las incorporaciones erróneas de dUTP o FdUTP al DNA, por parte del sistema de reparación por excisión de nucleótidos (NER), son inútiles cuando los niveles de dTMP son bajos, entrando en sucesivos ciclos fútiles de reparación que acaban ocasionando roturas en las hebras de DNA que si no son reparadas conducen a las células tumorales hacia la muerte.^{58, 59}

2.2.3. Cisplatino (CDDP)

El cisplatino (cis-diamminedichloroplatinum(II); CDDP) es un derivado del platino (Figura 10), que interacciona con las bases purínicas, generando enlaces intracadena e intercadena en la hebra de DNA.⁶⁰ La mayor parte de su capacidad genotóxica radica en la formación de enlaces intracadena, de los cuales los más comunes se dan entre dos guaninas, o entre una adenina y una guanina.^{61, 62} Los enlaces intracadena inhiben la replicación del DNA, produciendo una desestabilización de la estructura de doble hélice, que si no es reparada a tiempo, acaba produciendo roturas de doble cadena en el DNA.⁶³

Desde su introducción en los protocolos de quimioterapia, el cisplatino es uno de los fármacos que ha tenido mayor impacto en el tratamiento del cáncer, especialmente, en ovario, testículo y CECC. Cuando se utiliza en CECC como quimioterápico único la tasa de respuesta no supera el 28%.⁵⁶ Suele administrarse conjuntamente con el 5-FU o la radioterapia hiperfraccionada.

2.2.4. Taxanos (docetaxel y paclitaxel)

En los últimos años, los taxanos (docetaxel, paclitaxel) se han incorporado a la combinación de 5-FU y cisplatino en el tratamiento del CECC (Figura 10). Cuando se administran en monoterapia, a pacientes con CECC, inducen una tasa de respuesta del 20-40% mientras que en combinación con cisplatino y/o 5-FU se alcanza una tasa de respuesta del 32-82% según el estudio.⁶⁴

Los taxanos (paclitaxel, docetaxel) son fármacos antimitóticos, que promueven la polimerización de la tubulina, dando lugar a la formación de microtúbulos estables que no responden a los estímulos celulares.⁶⁵ La acumulación de microtúbulos inhibe la división de las células que se vuelven inviables e inician un proceso de muerte celular. El paclitaxel inhibe la síntesis de DNA y genera una parada del ciclo celular en la fase G2.⁵⁶

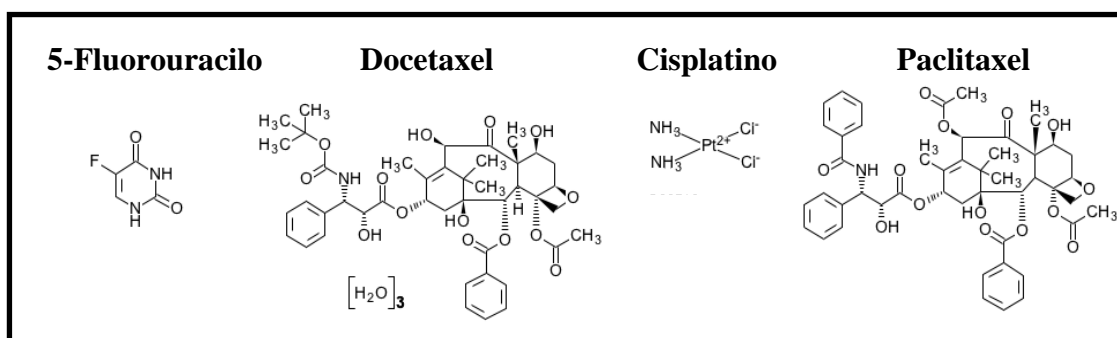


Figura 10. Estructura química de los fármacos utilizados en el tratamiento del CECC

2.2.5. Inhibidores de EGFR

El receptor del factor de crecimiento epidermal (Epidermal Growth Factor Receptor; EGFR) es un miembro de la familia c-erbB de receptores tirosina quinasa. Presenta un dominio receptor extracelular, una región transmembrana y un dominio tirosina quinasa intracelular.³⁶ EGFR posee varios ligandos, siendo el más importante TGF α . EGFR está sobreexpresado en la mayoría de tumores sólidos como son los de mama, pulmón, riñón, ovario, colon y CECC,³⁶ hecho que ha motivado su definición como diana terapéutica para el desarrollo de fármacos antitumorales.

Se han desarrollado diversos fármacos inhibidores de EGFR, que se pueden clasificar en dos grupos básicos: inhibidores de la actividad tirosina quinasa (Gefitinib, Erlotinib) y anticuerpos monoclonales anti-EGFR (Cetuximab, Panitumumab).³⁶ La utilización de Cetuximab para el tratamiento del CECC ha sido aprobada por la US Food and Drug Administration (FDA). No obstante, la utilización de cetuximab en protocolos de monoterapia produce escasos resultados. Se administra conjuntamente con cisplatino y 5-FU en regímenes de poliquimioterapia.

2.3. SISTEMAS DE REPARACIÓN DEL DNA

Los sistemas de reparación permiten a la célula mantener la integridad de su genoma, eliminando las alteraciones del DNA que se generan de manera espontánea o debido a la exposición a agentes genotóxicos. La célula dispone de diversos sistemas de reparación del DNA especializados en reparar determinados tipos de lesiones. Entre los mecanismos de reparación del DNA más importantes destacan los de reparación directa (DR; Direct Repair), reparación por excisión de bases (BER; Base Excision Repair), reparación por excisión de nucleótidos (NER; Nucleotide Excision Repair), reparación de apareamientos de bases erróneos (MMR: Mismatch Repair), reparación por recombinación homóloga (HR; Homologous Repair) y reparación no homóloga por unión de extremos (NHEJ; Non Homologous End Joining).⁶⁶

El sistema de reparación directa (DR) elimina las alteraciones que producen los agentes alquilantes en el DNA. Concretamente, elimina los grupos O⁶-metilo de las O⁶-metilguaninas.⁶⁷ Está constituido exclusivamente por la proteína MGMT, que se une a las guaninas modificadas y que captura el grupo O⁶-metilo, eliminándolo del DNA. La unión de MGMT al residuo O⁶-metilo es irreversible e inactiva el enzima. En humanos, se han identificado las metiltransferasas de la familia ALKBH que reparan de manera directa otras alteraciones del DNA como las 1-metiladeninas y las 3-metilcitosinas producidas por agentes alquilantes.⁶⁷

El sistema de reparación por excisión de bases (BER) elimina del DNA aquellas bases que presentan alteraciones producidas de manera espontánea, por exposición a agentes genotóxicos como son la radiación ionizante, los agentes alquilantes o las nitrosaminas.^{66, 67} Las enzimas DNA glicosilasas (MBD4, MPG, MYH, NEIL1, NEIL2, NEIL3, NTH1, OGG1, SMUG1, TDG y UNG) que muestran especificidad por determinadas lesiones se unen a la base modificada y la eliminan produciendo una región apurínica en el DNA. La endonucleasa APE1 corta el DNA en el extremo 5' de la región AP apurínica, la Pol β rellena el hueco con un nuevo nucleótido y finalmente la DNAligasa III-XRCC1 se encarga de unir los fragmentos de DNA. Dentro del sistema de reparación BER existe una vía de reparación alternativa en la que participan los enzimas PCNA, Pol δ , Pol ϵ , FEN1 y Lig1.

Introducción

El sistema de reparación por excisión de nucleótidos (NER) repara lesiones de tipo diverso como son los enlaces entre cadenas de DNA, producidos por el cisplatino, y las lesiones originadas por la exposición a la radiación ionizante. Todas las lesiones reparadas por este sistema tienen en común la aparición de una distorsión en la estructura de la doble hélice del DNA.⁶⁸ El complejo XPC-hHR23-B se une a la región del DNA, donde se ha producido la lesión, y atrae al complejo TFIIH. A su vez, TFIIH separa las dos hebras de DNA de la región afectada, a través de la actividad de las helicasas XPB y XPD. Las proteínas RPA y XPA estabilizan la región de DNA abierta y atraen a las nucleasas XPG y XPF-ERCC1, que cortan la hebra de DNA dañada por los extremos 3' y 5' respectivamente, liberando el fragmento de DNA dañado. Finalmente se sintetiza y se une el fragmento de DNA que falta, mediante la actividad de las enzimas polimerasa y ligasa.

El sistema de reparación de apareamientos de bases erróneos (MMR) es el responsable de reparar los falsos apareamientos que se producen en el DNA debidos a errores en el proceso de replicación o a las modificaciones que generan los agentes genotóxicos en determinados nucleótidos. El sistema MMR juega un papel importante en el proceso de mantenimiento de la estabilidad genómica.⁶⁷ Se han asociado alteraciones en este sistema con la aparición del cáncer hereditario colorectal no polipósico (HNPCC).⁶⁷ El complejo MSH2/MSH6 reconoce la lesión, se une a ella y recluta al complejo MLH1/PMS2. La exonucleasa 1 elimina el fragmento de DNA donde se encuentra la lesión y la Pol δ sintetiza de nuevo el fragmento de DNA que se une a la cadena original a través de la actividad del enzima ligasa.

A pesar de que todo tipo de lesión en el DNA supone una amenaza para la integridad del genoma de la célula, las roturas de doble cadena son las que muestran un efecto más deletéreo. Las roturas de doble cadena (RDC) en el DNA se originan por la acción de agentes genotóxicos, radicales libres, radiación ionizante y procesos de replicación en zonas con rotura de cadena sencilla o en regiones con alteración de la estructura o la conformación de la doble hélice. Si no son reparadas, pueden reducir la viabilidad de la célula afectada conduciéndola hasta la muerte celular, o por el contrario, aumentar la inestabilidad cromosómica favoreciendo la transformación neoplásica.^{69, 70} En las células coexisten dos **sistemas de reparación de RDC: el sistema de reparación por**

recombinación homóloga (HR) y el sistema de reparación no homóloga por unión de extremos (NHEJ), siendo NHEJ el predominante en mamíferos.⁷¹

El sistema de reparación HR repara RDC, uniéndose por recombinación a la misma región de DNA dañado, presente en la cromátida hermana, que es utilizada como molde en el proceso de reparación (Figura 11).⁷² El complejo Mre11/Rad50/NBS1 (M/R/N) se une a la región donde se ha producido la RDC y elimina parte de la secuencia de DNA en sentido 5'-3'. El complejo (M/R/N) también participa en el proceso de activación de los puntos de control interfásicos (ver apartado 2.4“checkpoints”). A los extremos de la lesión 3' resultantes se une Rad52 que interacciona con Rad51 y, junto a RPA, promueven el proceso de recombinación del DNA dañado, con la misma región de la cromátida hermana. Posteriormente, se sintetiza el fragmento de DNA previamente dañado utilizando como molde la cromátida hermana.⁷³ Es un sistema de reparación libre de errores, predominante en las fases S tardía y G2-M del ciclo celular, siendo NHEJ el más utilizado en el resto del ciclo celular.⁷⁴

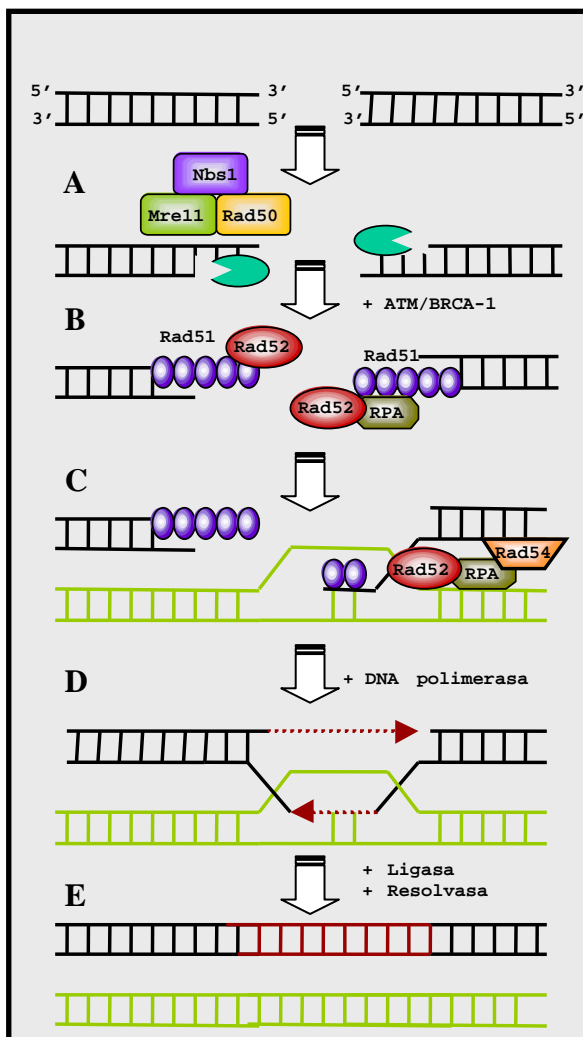


Figura 11. Sistema de reparación de roturas de doble cadena (RDC) por recombinación homóloga (HR).

A) El complejo Mre11/Rad50/Nbs1 reconoce la lesión y elimina los extremos de DNA dañados en dirección 5'→3'.

B) Rad52 se une a los extremos 3' de DNA de cadena sencilla (ssDNA) resultantes e interacciona con Rad51, que a su vez interacciona con RPA.

C) Rad51 polimeriza, y junto a la unión de RPA y Rad 54, forma un heteroduplex con la misma región de DNA de la cromátida hermana.

D) La actividad polimerasa sintetiza el fragmento de DNA previamente dañado, utilizando como molde la cromátida hermana.

E) La actividad ligasa y resolvasa reconstruye la cadena de DNA y deshace el heteroduplex obteniendo una nueva secuencia de DNA de doble cadena (dsDNA) completamente reparada e igual a la de la cromátida hermana.

Introducción

El **sistema de reparación no homólogo por unión de extremos (NHEJ)** repara RDC sin utilizar ninguna secuencia de DNA como molde.⁷⁵ El primer paso del sistema de reparación NHEJ consiste en la unión de las proteínas Ku70 y Ku80 a los dos fragmentos próximos de DNA de doble cadena (dsDNA) en los que se ha producido la rotura. Posteriormente, se forma el complejo DNA-PK a partir de la unión de las proteínas Ku80, Ku70 y DNA-PKcs. Finalmente, el complejo DNA-PK se une a la nucleasa Artemio y estimula la unión, y la ligación de los dos extremos de DNA a través de la actividad del complejo XRCC4 ligasa IV. Otras proteínas que también participan en el sistema NHEJ son la Pol μ y la Pol λ , cuya actividad polimerasa permite completar la secuencia de DNA en aquellos extremos donde la actividad nucleasa haya originado fragmentos de DNA de cadena sencilla (ssDNA) (Figura 12). Además de implicarse en la reparación de RDC, el complejo DNA-PK participa en la detección del daño genotóxico, el mantenimiento de los telómeros, la activación de los puntos de control interfásicos del ciclo celular y la señalización apoptótica inducida por daño al DNA. El sistema NHEJ no utiliza el reconocimiento de una región homóloga para llevar a cabo la reparación, pudiéndose generar deleciones, inserciones o translocaciones fruto de la actividad de este sistema de reparación.⁷⁶

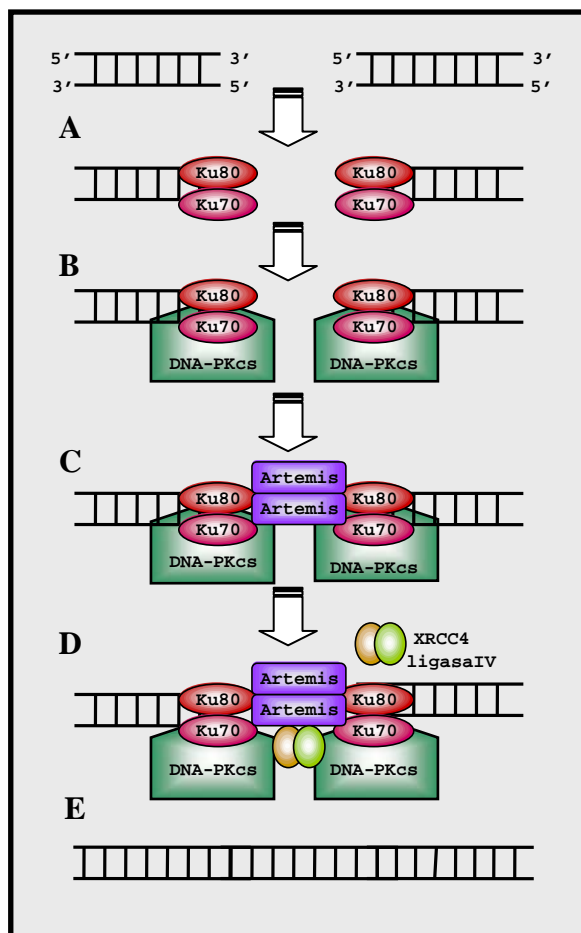


Figura 12. Sistema de reparación de roturas de doble cadena (RDC) no homólogo por unión de extremos (NHEJ).

A) Ku80 y Ku70 reconocen la rotura de doble cadena (RDC) y se unen a sus extremos.

B) DNA-PKcs se une a Ku70 y Ku80, formando el complejo DNA-PK que se activa.

C) DNA-PK atrae y activa a Artemis.

D) DNA-PK activa a XRCC4 y a la ligasa IV, permitiendo que los dos extremos de DNA próximos se unan y sean religados.

E) Se obtiene una secuencia de DNA de doble cadena (dsDNA) reparada sin utilizar ningún molde. El sistema NHEJ puede producir deleciones o translocaciones.

En el proceso de regulación de los sistemas de reparación de RDC intervienen diversas proteínas, como son BRCA-1, BRCA-2 y ATM.^{77, 78} Las mutaciones en BRCA-1 y BRCA-2 originan células con un sistema HR poco eficiente y propenso a acumular errores. BRCA-1 forma parte del complejo BASC que participa en la detección del daño al DNA, la activación de los mecanismos de reparación y la señalización hacia la parada del ciclo celular. ATM activa el complejo M/R/N por fosforilación de NBS1, iniciando de este modo la reparación de RDC por el sistema HR.

2.4. REGULACIÓN DE LOS PUNTOS DE CONTROL INTERFÁSICOS (“CHECKPOINTS”)

Los puntos de control interfásicos de la célula (“checkpoints”), juntamente con los sistemas de reparación del DNA, contribuyen a mantener la integridad genómica, bloqueando la progresión a través del ciclo celular y la replicación del DNA de la célula dañada, hasta que la lesión haya sido reparada.⁷⁹ El ciclo celular de las células eucariotas se puede dividir en cuatro fases: G1, S, G2 y M. En las células de mamíferos, se han descrito puntos de control interfásico en la transición entre las fases G1/S, intra S y G2/M.⁷⁹ Entre las proteínas que participan en la detección del daño al DNA se encuentran el complejo RFC-Rad17, el complejo 9-1-1(Rad9-Rad1-Hus1) y el complejo MRN (Mre11-Rad50-NBS1).⁸⁰ ATM y ATR participan en el proceso de detección del daño de manera directa o por interacción con los sistemas sensores descritos, y juegan un papel central en la transducción de señal hacia la parada de ciclo. La activación de ATM se produce por autofosforilación, al unirse a regiones del DNA con RDC o por la interacción con el complejo Mre11-Rad50-NBS1.⁸¹ ATR juega un papel importante en la respuesta al daño inducido por la radiación UV y se activa por fosforilación, mediante unión al complejo ATRIP o por unión a RPA-ssDNA.⁸¹ ATR y ATM transducen su señal de activación a través de las quinasas CHK1 y CHK2. Mientras que ATM transduce la señal principalmente a través de la quinasa CHK2, ATR transduce la señal a través de la quinasa CHK1. El “checkpoint” G1/S evita que las células que presentan daño en el DNA entren en la fase S, inhibiendo el inicio del proceso de replicación. Las proteínas ATM y ATR detectan el daño al DNA e inducen una primera señal de parada del ciclo en la fase G1/S. ATR y ATM inducen la degradación de Cdc25 de manera directa por fosforilación, o a través de la fosforilación de CHK1 y CHK2. La degradación de Cdc25 impide que la DNA polimerasa α , que es esencial para el proceso de replicación, se una al DNA. La señal de parada inicial se mantiene a través de la

Introducción

activación de la vía de p53.⁸¹ ATM y ATR activan a p53 de manera directa o a través de CHK1 y CHK2. Además, ATM inactiva MDM2, que es un inhibidor de p53, promoviendo la acumulación de p53 en el núcleo. P53, a su vez, activa al inhibidor de CDKs p21, el cual inactiva al complejo cyclinE/CDK2, inhibiendo la fosforilación de pRb y manteniendo secuestrado el factor de transcripción E2F. La mayor o menor actividad de la vía de ATM-CHK2-Cdc25 o de la vía ATR-CHK1-Cdc25 depende del tipo de daño al DNA. ATM se activa de manera más efectiva por unión a RDC, mientras que ATR juega un papel más importante cuando se inducen lesiones por radiación UV.

El “checkpoint” intra-S se activa cuando se producen lesiones durante el proceso de replicación del DNA. El “checkpoint” intra-S está regulado por las vías ATM/ATR-CHK1/CHK2-Cdc25A y por la vía ATM-Nbs1-SMC1. Dependiendo del tipo de daño al DNA, ATM o ATR fosforilan Cdc25, deteniendo de este modo la replicación del DNA. Las RDC activan ATM que, a su vez, activa al complejo Mre11-Rad50-NBS1 a través de la fosforilación de Nbs1. Las proteínas BRCA1, SMC1, 53BP1 y MDC1 también contribuyen a la parada de “checkpoint” intra-S.⁷⁹

El “checkpoint” G2-M evita que las células portadoras de daño en el DNA entren en mitosis. La parada en G2-M se produce a través de la fosforilación de las proteínas Cdc25 y Wee1. La fosforilación inactiva a Cdc25, la cual se une al complejo 14-3-3, que es degradado. Su degradación inhibe la activación del complejo ciclina B/Cdc2 e impide que la célula progrese hasta la fase M. A su vez, Wee1 fosforilado inhibe el complejo ciclina B/Cdc2. Del mismo modo que en el “checkpoint” G1-S, la señal de parada en G2-M es generada a través de la vía ATM-CHK2-Cdc25, o a través de la vía ATR-CHK1-Cdc25, dependiendo del tipo de lesión presente en el DNA.

Otras proteínas sensoras de daño al DNA incluyen γ -H2AX y MDC1.⁷⁹ H2AX se une al DNA en las zonas de roturas donde es fosforilada (γ -H2AX) por las quinasas ATM, ATR o DNA-PK, iniciando el proceso de remodelación de la cromatina, permitiendo que el DNA sea accesible para los sistemas de reparación. En presencia de RDC, γ -H2AX y MDC1 forman “foci” en las regiones del DNA donde se han producido las roturas.

Cuando existen lesiones en el DNA, los sistemas de regulación de “checkpoints” descritos producen una parada del ciclo celular y activan los sistemas de reparación de DNA. Si las lesiones son reparadas de manera eficiente, los “checkpoints” son

desactivados y las células recuperan su progresión a través del ciclo celular. Si el DNA no se repara, las células pueden entrar en un proceso de apoptosis o de senescencia.

2.5. INESTABILIDAD GENÓMICA

Los mecanismos encargados de mantener la estabilidad genómica se encuentran frecuentemente alterados en las células tumorales. El aumento de la inestabilidad genómica facilita la acumulación de alteraciones que acaban afectando a oncogenes o a genes supresores de tumor, implicados en los procesos de iniciación y progresión tumoral. En los tumores sólidos, especialmente en el carcinoma de colon, se han descrito dos tipos mayoritarios de inestabilidad genómica; la inestabilidad genética o de microsatelites (MIN; Microsatelites Instability) y la inestabilidad cromosómica (CIN; Chromosomal Instability).⁸²

Mientras que el fenómeno de inestabilidad de microsatelites es poco frecuente en el CECC, la elevada frecuencia de alteraciones cromosómicas, tanto estructurales (ver apartado 2.1) como numéricas que se observan en el cariotipo de los CECC, sugiere que la inestabilidad cromosómica juega un papel importante en el desarrollo del tumor. En el momento del diagnóstico, entre un 29 y un 80% de los CECC presentan aneuploidía.⁸³ La aneuploidía es un evento temprano, que ya está presente en lesiones pre-malignas.⁸³ Las lesiones displásicas que presentan aneuploidía tienen mayor riesgo de progresión a carcinoma escamoso, en comparación con las lesiones displásicas con un contenido de DNA diploide o tetraploide.⁸⁴ Entre los mecanismos encargados de mantener la estabilidad genómica destacan los sistemas de reparación del DNA y los “checkpoints” descritos anteriormente. En este sentido, se han descrito diversos síndromes humanos asociados a mutaciones en ATM (Ataxia Telangiectasia), Nbs1 (NBS; “Nijmegen Breakage syndrome”) y Mre11 (ATLD; “AT-like disorder”). Estas proteínas participan en la regulación de los “checkpoints” celulares y en la reparación de RDC en el DNA.⁸⁵ Las células de pacientes afectados por estos síndromes tienen una elevada frecuencia de aberraciones cromosómicas, alteraciones en la regulación de los “checkpoints” e hipersensibilidad a la radiación. Del mismo modo, células deficientes en el sistema de reparación NHEJ (LigasaIV^{-/-}, Ku80^{-/-}, DNA-PKcs) presentan un incremento de la inestabilidad cromosómica,⁸⁵ que se traduce en un aumento de las aberraciones cromosómicas.⁸⁶⁻⁸⁸

En estudios “in vitro”, la inhibición de los sistemas de reparación de RDC favorece la aparición de sitios frágiles (“fragile sites”), que son constricciones o espacios vacíos en

Introducción

regiones cromosómicas específicas observadas en las tinciones cromosómicas de metafases en células expuestas a inhibidores de la replicación del DNA. Diversos estudios correlacionan el aumento de los “fragile sites” con la presencia de roturas y reordenamientos cromosómicos y con un aumento de la inestabilidad cromosómica.⁸⁹

Otro mecanismo implicado en el proceso de inestabilidad cromosómica es la alteración de los telómeros. La actividad telomerasa no está presente en las células somáticas normales, de modo que los telómeros se van acortando progresivamente a lo largo de sucesivos ciclos de división celular, hasta que dejan de ser funcionales y la célula entra en un proceso de muerte. No obstante, en células que inician un proceso de transformación, la disfunción de los telómeros puede producir inestabilidad genómica y favorecer la aparición de alteraciones cromosómicas, tanto estructurales como numéricas, que pueden afectar a oncogenes o a genes supresores de tumor implicados en la transformación neoplásica. Finalmente, la actividad telomerasa que se manifiesta en las células tumorales limita el proceso de inestabilidad para asegurar la viabilidad de las células que se convierten en inmortales.⁹⁰ En este sentido, el sistema NHEJ participa en el mantenimiento de los telómeros. Células deficientes en DNA-PKcs presentan alteraciones en el mantenimiento de los extremos de los telómeros, que generan un aumento de la inestabilidad cromosómica.^{91, 92}

2.6. MUERTE CELULAR INDUCIDA POR DAÑO AL DNA

La replicación del DNA y la actividad de los agentes genotóxicos producen alteraciones en el DNA celular que si no son reparadas pueden iniciar un proceso de carcinogénesis. La radioterapia y los fármacos clásicos utilizados en quimioterapia (cisplatino, 5-Fluorouracilo) tienen actividad genotóxica. Su mecanismo de acción se centra en la producción de lesiones en el DNA que conducen a las células tumorales hacia la muerte, generalmente a través de un proceso de inducción de apoptosis.

Las células normales poseen diversos mecanismos para detectar el DNA alterado y repararlo. Según el tipo de lesión, la célula dispone de diferentes sistemas de reparación (ver sección 2.3). Además, los mecanismos de regulación de los “checkpoints” celulares evitan la progresión de las células dañadas a través del ciclo celular hasta que el daño haya sido reparado. Cuando el daño al DNA es irreversible, o no funcionan correctamente los sistemas de reparación, las células son conducidas hacia un proceso de muerte celular programada (“Apoptosis”) (Figura 13).

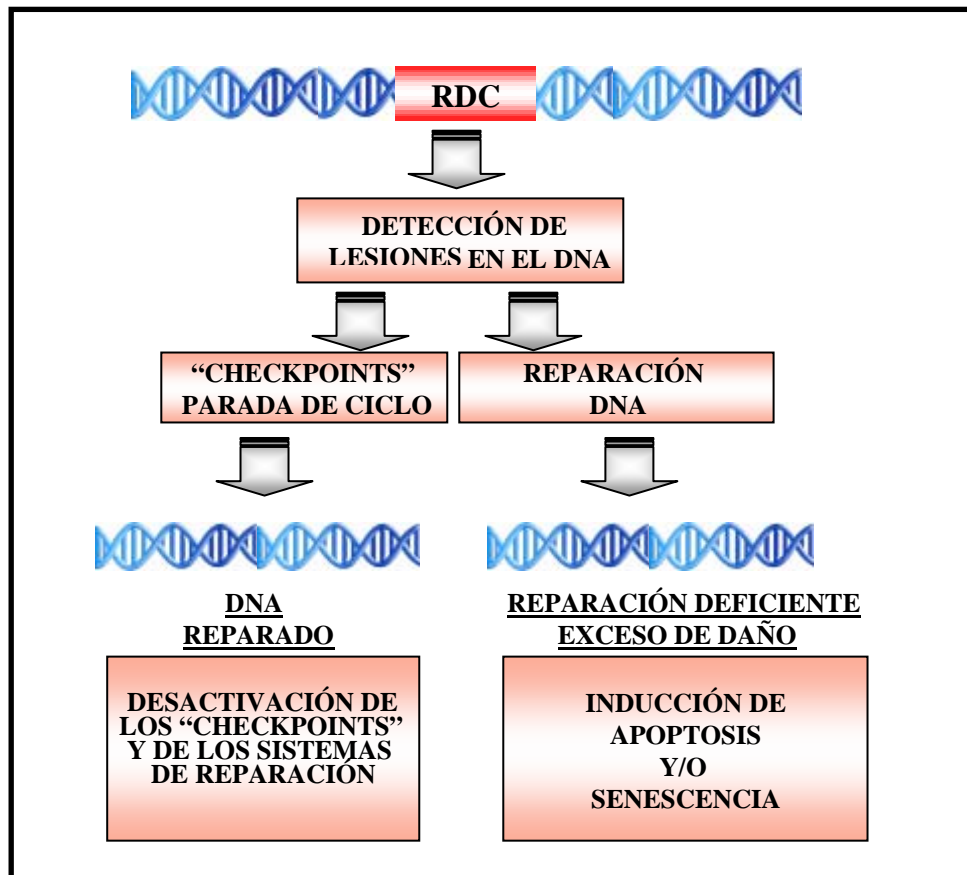


Figura 13. Respuesta al daño al DNA. La primera etapa es la detección de las lesiones seguida de la activación de los sistemas de reparación y los “checkpoints” celulares. Si el daño es reparado de manera eficiente, la célula recupera su progresión a través del ciclo celular. Si el daño es irreparable o la reparación es deficiente se induce muerte celular por apoptosis o parada irreversible del ciclo (senescencia).

Además, si el daño al DNA es irreparable la parada del ciclo celular se mantiene, las células no pueden alcanzar la mitosis y entran en senescencia (Figura 13). Ambos procesos (apoptosis, senescencia) coexisten en las células eucariotas pero tienen mayor o menor predominio dependiendo del tipo de lesión presente en el DNA y del tipo celular en el que se origina.⁹³ Los tipos celulares que presentan cierta tolerancia al daño al DNA, como los fibroblastos, activan la parada de ciclo en los “checkpoints” G1 o G2. Una vez reparado el DNA, retoman la progresión a través del ciclo celular, evitando que el daño se propague como consecuencia de la mitosis. En cambio, los timocitos y las células epiteliales, son más sensibles al daño al DNA, el cual induce el proceso de apoptosis.⁹⁴

Las proteínas de la familia ATM-PI3K juegan un papel central en la respuesta al daño al DNA. Esta familia incluye las proteínas ATM, ATR y DNA-PK.⁹⁵ Como se ha descrito en los apartados 2.3 y 2.4, estas proteínas participan en los procesos de detección y reparación del daño al DNA, y en la regulación de los “checkpoints”. ATM y ATR

Introducción

activan a p53 de manera directa, o a través de CHK1 y CHK2. En presencia de lesiones producidas por el cisplatino, ATR activa la vía de las MAPK, que a su vez fosforila y activa p53.⁹⁶ El complejo DNA-PK se activa por autofosforilación, después de la unión de Ku70, Ku80 y DNA-PKcs a las regiones de DNA con RDC. Además de activar el sistema de reparación NHEJ, DNA-PK induce apoptosis a través de p53.⁹⁷ De este modo, ratones deficientes en DNA-PKcs expuestos a radiación- γ presentan una disminución de la respuesta apoptótica e infraexpresión de Bax.⁹⁷ Del mismo modo, la inducción de apoptosis por daño al DNA es menor en células DNA-PKcs^{-/-} o en células p53^{-/-} que en células con las correspondientes proteínas silvestres.⁹⁸ Por otra parte, en células tratadas con cisplatino, DNA-PKcs induce una señal de muerte celular que se transmite a las células adyacentes a través de las uniones célula-célula.⁹⁹

P53 juega un papel central en la inducción de la parada de ciclo, en la reparación del DNA y en la apoptosis. P53 transmite la señal de respuesta al daño al DNA, desde los complejos sensores de daño hacia la maquinaria apoptótica. P53 es necesaria para la inducción de apoptosis pero no es indispensable en todos los tipos celulares.^{94, 100, 101} La maquinaria apoptótica de las células eucariotas está regulada por las proteínas de la familia Bcl-2 y por las caspasas. P53 activa la apoptosis a través de la vía de Bcl-2. La familia de Bcl-2 esta formada por una serie de proteínas con función pro-apoptótica (Bax, Bak, Bad, Bid y Bim) o anti-apoptótica (Bcl-2, Bcl-XL). Cuando el cociente Bax/Bcl-2 incrementa se produce la señalización hacia apoptosis a través de la vía mitocondrial y la activación de la caspasa 9. P53 también señala hacia apoptosis a través de la vía de receptores de muerte (FasL, TRAIL, TNF α) y la activación de la caspasa 8.

3. FACTORES PRONÓSTICO Y PREDICTIVOS EN EL CECC

En la práctica clínica, los factores pronóstico definen la probabilidad de que un carcinoma presente una evolución más o menos agresiva, independientemente del tratamiento al que se somete el paciente. Los factores pronóstico están relacionados con la agresividad tumoral y la presencia de mutaciones en el genoma de las células tumorales que alteran la capacidad de proliferación, de migración y diseminación de las células tumorales, pero no están necesariamente con la sensibilidad al tratamiento de las células tumorales. En cambio, los factores predictivos están relacionados con el efecto de los agentes terapéuticos sobre las células tumorales, anticipan la respuesta tumoral y el mantenimiento de la respuesta a lo largo del tiempo. Los factores predictivos definen

la probabilidad que tiene un determinado paciente de presentar una buena respuesta a un tratamiento terapéutico específico, estando relacionados con la sensibilidad o la resistencia de las células tumorales a dicho tratamiento. Un factor puede considerarse predictivo únicamente cuando su evaluación proporciona información relativa al beneficio clínico del paciente cuando se somete a un tratamiento terapéutico concreto.

A pesar de que se han descrito previamente factores pronóstico en carcinoma de cabeza y cuello que ayudan a definir la evolución clínica de los pacientes, independientemente del tratamiento que han recibido, son pocos los marcadores capaces de predecir la evolución clínica de los pacientes tratados con quimioterapia o quimioradioterapia y de definir, de este modo, qué pacientes podrían beneficiarse del tratamiento genotóxico y que pacientes deberían tratarse con cirugía o serían candidatos a un tratamiento alternativo.

3.1. FACTORES PRONÓSTICO Y PREDICTIVOS CLÍNICOS

La clasificación TNM clasifica a las neoplasias en estadios según el tamaño tumoral, la afectación de los ganglios linfáticos regionales y la presencia de metástasis a distancia.⁶

La clasificación TNM es un factor pronóstico en CECC. Los pacientes con CECC en estadios avanzados presentan una mayor tasa de recidiva local, una menor supervivencia global y una menor tasa de curación que los pacientes en estadios tempranos. Esta clasificación es el factor pronóstico más utilizado en la práctica clínica para definir el tratamiento de los pacientes con CECC. Los pacientes con CECC en estadios iniciales (I y II) son candidatos a recibir RT o cirugía mientras que el abordaje terapéutico en los estadios avanzados (III y IV) es multimodal. La afectación ganglionar se ha descrito como factor de mal pronóstico en el CECC.¹⁰² No obstante, tanto la clasificación TNM como la afectación ganglionar son incapaces de predecir la evolución clínica de los pacientes tratados con quimioterapia.^{6, 103}

El grado de diferenciación de las células tumorales también tiene valor pronóstico, de manera que aquellos pacientes con tumores bien diferenciados presentan un menor riesgo de recidiva locoregional y una mayor supervivencia global, cuando se comparan con pacientes portadores de tumores indiferenciados. Sin embargo, estas diferencias no son suficientemente importantes como para utilizar el grado de diferenciación tumoral como un factor pronóstico útil para definir el tratamiento en la práctica clínica¹²

La respuesta a la quimioterapia de inducción es, hasta hoy, el único factor clínico predictivo, ya que se asocia de manera significativa con la evolución clínica de los

Introducción

pacientes sometidos a tratamiento radioterápico. De este modo, la quimioterapia de inducción predice la respuesta tumoral al tratamiento posterior con radioterapia (RT) y la supervivencia global del paciente. La QTI identifica a los pacientes candidatos a obtener un beneficio clínico del tratamiento genotóxico, distinguiéndolos de los que deben tratarse con cirugía radical.^{18, 19}

3.2. FACTORES PRONÓSTICO Y PREDICTIVOS MOLECULARES

El contenido de DNA de las células del epitelio escamoso es un factor de mal pronóstico en CECC. Pacientes con lesiones precursoras (leucoplasias) que presentan células aneuploides tienen mayor probabilidad de desarrollar un CECC que los pacientes con leucoplasias con un contenido de DNA diploide o tetraploide.^{84, 104} Además, los pacientes con leucoplasias aneuploides que posteriormente desarrollan un carcinoma presentan una mayor probabilidad de recidiva que los pacientes con leucoplasias tetraploides que acaban desarrollando un tumor. No obstante, el valor pronóstico del contenido de DNA de las células epiteliales escamosas debe confirmarse en un número de mayor de muestras y asociarse directamente con las alteraciones que presentan los CECC y no únicamente con sus lesiones precursoras, para poder introducirse en clínica.

En los últimos años la infección por el virus del papiloma humano (VPH) se ha descrito como un factor de riesgo para el desarrollo de CECC. El 26% de los pacientes con CECC presentan infección por VPH.¹⁰⁵ Además, varios estudios muestran que la infección por VPH es un factor pronóstico en CECC. Los pacientes portadores de CECC VPH+ tienen mejor pronóstico que los pacientes con CECC VPH-.¹⁰⁶ En los carcinomas de orofaringe la infección por VPH tiene valor predictivo. Los pacientes con CECC VPH+ sometidos a un tratamiento de quimioterapia presentan una mejor evolución clínica que los pacientes con CECC VPH-.¹⁰⁷

La sobre-expresión de EGFR es también un factor de mal pronóstico. Los pacientes con CECC que sobre-expresan EGFR presentan una mayor tasa de recidiva tumoral y un tiempo de supervivencia libre de enfermedad local menor que los pacientes cuyos tumores expresan niveles normales de EGFR.¹⁰⁸ Del mismo modo, el aumento del número de copias de EGFR es un factor de mal pronóstico en pacientes con CECC.¹⁰⁹ En estudios de microarrays se ha descrito un grupo de pacientes con un subtipo de tumores que sobre-expresan genes consistentes con la activación de la vía de señalización de EGFR que presentan una supervivencia libre de enfermedad menor que

el resto de pacientes con CECC.¹¹⁰ El estudio de Bentzen y col. (2005) muestra que la expresión de EGFR predice el control locoregional del tumor pero no la supervivencia global en pacientes con CECC tratados con radioterapia.¹¹¹

Hasta hoy, se han descrito numerosos marcadores moleculares con capacidad pronóstica y/o predictiva en CECC pero ninguno ha sido introducido en la práctica clínica. Una posible razón para su escasa introducción a la práctica clínica puede estar en que la mayoría de estudios presentan un tamaño muestral pequeño, heterogéneo y tienen como objetivo identificar factores pronóstico y no factores predictivos. Como se ha descrito al principio, los factores pronóstico están relacionados con la progresión, la invasividad y la diseminación del tumor. Sin embargo, los factores predictivos se asocian con la capacidad de las células tumorales de responder o no al tratamiento genotóxico y no tienen por qué coincidir con los factores pronóstico.

4. PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN EL CECC (HALLAZGOS PREVIOS)

La tecnología de microarrays ha proporcionado una nueva herramienta para estudiar los procesos biológicos implicados en el desarrollo tumoral y para la identificación de marcadores pronóstico y predictivos.

La mayoría de estudios de expresión realizados con microarrays en CECCs se centran en discriminar aquellos genes expresados diferencialmente al comparar el tejido tumoral con la mucosa normal y están, por tanto, relacionados con el proceso de carcinogénesis. En la Tabla 3 se describen estos estudios.

Los genes expresados diferencialmente entre la mucosa normal y el CECC incluyen genes implicados en la diferenciación celular, el ciclo celular, la organización de la matriz extracelular, la adhesión celular, factores angiogénicos, la regulación de la apoptosis, la vía de señalización de las MAP quinasas, la vía de Wnt, la detoxificación celular o la vía de EGFR. Yu y col. (2008) realizan un meta-análisis que agrupa los datos obtenidos de 70 estudios de microarrays con CECC y describen los genes que con mayor frecuencia presentan diferencias en nivel de expresión cuando se comparan lesiones pre-malignas con mucosas normales, tumores primarios con mucosas normales y metástasis tumorales con tumores primarios.¹³⁸ Yu y col.(2008) identifican ECM1, EMP1, CXCL10 y POSTN como genes expresados diferencialmente en las tres situaciones planteadas. Utilizando herramientas de ontología, identifican la vía de

Introducción

señalización de integrinas y la de presentación de antígenos como los procesos biológicos más comúnmente alterados en la transición de tumor primario a metástasis.

Tabla 3. Estudios de microarrays realizados en muestras obtenidas de pacientes con CECC.

Estudio	Nº de muestras
Leethanakul y col. ¹¹²	5 pacientes (5 parejas tumor / mucosa normal)
Alevizos y col. ¹¹³	5 pacientes (5 parejas tumor / mucosa normal)
Al Moustafa y col. ¹¹⁴	12 pacientes (parejas tumor / mucosa normal)
Méndez E y col. ¹¹⁵	28 tumores / 2 lesiones pre-malignas / 18 mucosas normales
Ha y col. ¹¹⁶	8 tumores / 8 displasias / 11 mucosas normales
González y col. ¹¹⁷	3 pacientes (3 parejas tumor / mucosa normal)
El-Naggar y col. ¹¹⁸	12 pacientes (12 parejas de tejido tumoral / mucosa normal)
Hwang y col. ¹¹⁹	5 tumores / 5 mucosas normales
Sok y col. ¹²⁰	9 pacientes (9 parejas tumor / mucosa normal)
Kuriakose y col. ¹²¹	22 pacientes (22 parejas tumor / mucosa normal)
Villaret y col. ¹²²	16 tumor y 22 tejidos normales procedentes de diversas localizaciones
Chin y col. ¹²³	7 pacientes (7 parejas tumor / mucosa normal)
Ginos y col. ¹²⁴	25 tumores / 13 mucosas normales
Belbin y col. ¹²⁵	17 tumores
Chung y col. ¹¹⁰	55 pacientes (55 tumores primarios / 5 recidivas locales / 1 recidiva ganglionar)
Chung y col. ¹²⁶	29 tumores primarios
Pranama y col. ¹²⁷	92 tumores
Slebos y col. ¹²⁸	36 tumores (8 HPV+ / 28 HPV-)
Pyeon y col. ¹²⁹	42 tumores (16 HPV+ / 26 HPV +) / 14 mucosas normales
O'Donnell y col. ¹³⁰	18 tumores primarios / 5 metástasis ganglionares
Roepman y col. ¹³¹	82 tumores primarios
Roepman y col. ¹³²	14 pacientes (14 parejas tumor primario / metástasis ganglionar)
Cromer y col. ¹³³	39 tumores primarios / 4 mucosas normales
Braakhuis y col. ¹³⁴	19 tumores / 8 mucosas normales
Warner y col. ¹³⁵	20 tumores
Schmalbach y col. ¹³⁶	20 tumores
Ye y col. ¹³⁷	53 tumores / 22 mucosas

Por otra parte, el estudio de Ha y col. (2003) describe los cambios de expresión producidos en la transición de mucosa normal a pre-maligna y en la transición de mucosa pre-maligna a carcinoma invasivo.¹¹⁶ La mucosa normal, respecto a la pre-maligna, presenta diferencias de expresión significativas en 334 genes, mientras que entre la mucosa pre-maligna y el carcinoma invasivo son sólo 18 los genes que presentan cambios de expresión. Estos hallazgos indican que la mayoría de cambios en la expresión génica suceden en los estadios pre-neoplásicos, antes de que produzca la malignización. Los genes que presentan cambios de expresión descritos en este estudio

están implicados en la señalización apoptótica (Bax, RIP y Fas), en la vía de Wnt (Jagged1, Notch4 y Wnt10B), en la angiogénesis (VEGF), en la vía de las MAP quinasas (MAPK-2, y Mek5), en la vía de señalización de EGFR, en la regulación del ciclo celular a través de ciclina A y la regulación de las cadherinas.

Cromer y col. (2004) identifican 119 genes expresados diferencialmente cuando comparan tejido tumoral de pacientes en estadios iniciales con tejido sano.¹³³ Observan que la mayoría de cambios de expresión se producen en genes que se localizan en las regiones cromosómicas 3q27.3, 17q21.2-q21.31, 7q11.22-q22.1 y 11q13.1-q13.3, que como se ha descrito en el apartado 2.1 de esta introducción presentan alteraciones en la mayoría de CECC. Entre ellos, figuran genes implicados en la remodelación de la matriz extracelular, factores de crecimiento y genes implicados en la respuesta al estrés celular.

Algunos estudios de microarrays clasifican los CECCs en subtipos asociados con la evolución clínica del paciente.^{110, 123, 125, 126} Chung y col.(2004) clasifican los CECC (n=55) en cuatro subtipos (subtipo 1, subtipo 2, subtipo 3, subtipo 4) que presentan diferencias significativas en cuanto a supervivencia libre de enfermedad.¹¹⁰ El subtipo 1 presenta un perfil de expresión génica relacionado con alteraciones en la vía de EGFR y una elevada expresión de TGF α . El subtipo 2 agrupa tumores mal diferenciados, que expresan genes típicamente expresados en células mesenquimales, como la Vimentina, el Syndecan-2 y cuatro subunidades de la colagenasa. El perfil de expresión de estos CECC indicaría una posible transición epitelio-mesenquima de las células tumorales. Los tumores del subtipo 3 expresan genes característicos del epitelio escamoso normal como las citoqueratinas 4 y 15, y el gen GST (Glutation S-Transferasa 2). Los tumores del subtipo 4 expresan genes que codifican para enzimas antioxidantes y para procesos de detoxificación (GST-M3, Glutation Peroxidasa 2). El subtipo 1 es el que tiene una mayor probabilidad de recidiva, seguido por el subtipo 2 que son tumores con transición epitelio-mesénquima. Los pacientes con tumores de los subtipos 3 y 4 son los que tienen una mayor supervivencia libre de enfermedad. En un estudio posterior con 29 pacientes de CECC, Chung y col.(2006) identifican un subtipo de tumores de mal pronóstico que presentan mayor riesgo de padecer una recidiva tumoral que el resto de tumores.¹²⁶ Entre los genes característicos de los tumores de mal pronóstico destacan genes implicados en la transición epitelio-mesenquima y en la vía de señalización de NF-KB.¹²⁶

Introducción

Diversos estudios han analizado el perfil de expresión del tumor primario para identificar pacientes susceptibles a desarrollar metástasis regionales o a distancia.^{110, 124, 130, 131, 133, 135, 136, 139, 140} En el estudio de Roepman y col. (2005) generan un predictor, a partir del perfil de expresión de 82 carcinomas orales o de orofaringe, capaz de distinguir a los pacientes con mayor riesgo de presentar metástasis ganglionar.¹³¹ Este perfil molecular, constituido por 102 genes, presenta mayor especificidad y sensibilidad que el diagnóstico clínico habitual. Entre los genes asociados con la presencia o predisposición a desarrollar metástasis se encuentran genes implicados con la interacción de la célula con la matriz extracelular (COL5A1, COL5A2, SERPINE1 Y PLA1), la adhesión (EPPK1, TGM3, PPL, DSG3), la inducción de muerte, la reparación de DNA (Rad17), la proliferación celular (ECM1) y marcadores de células epiteliales (IVL y S100A7). En un estudio posterior, estos mismos autores muestran que el perfil de expresión del tumor primario de pacientes con riesgo a desarrollar metástasis a distancia se mantiene cuando se compara el tumor primario con las metástasis ganglionares.¹³² Estos resultados indican que los genes descritos, además de jugar un papel importante en el proceso de diseminación de las células tumorales a los ganglios, son también importantes para el establecimiento y desarrollo de la metástasis ganglionar.

Otros estudios, analizan las diferencias en los perfiles de expresión de CECC en función de la infección por el virus del papiloma humano (VPH).^{128, 129} Slebos y col. (2006) identifican 91 genes expresados diferencialmente tras comparar CECC VPH positivos y VPH negativos.¹²⁸ En los tumores VPH+ se encuentran sobre-expresados genes que regulan el ciclo celular (CDKN2A, p18 y CDC7), factores de transcripción (TAF/L, RFC4, RPA2 y TFDP2) y el gen TCAM1 implicado en adhesión celular. La mayoría de los genes sobreexpresados en VPH+ se localizan en la región cromosómica 3q24-qter. Los resultados de este estudio sugieren que los CECC VPH+ pueden presentar características biológicas distintas a los CECC VPH-, como resultado de un proceso patogénico distinto, como hemos descrito en el apartado 2.1 de la introducción.

No obstante, la gran mayoría de los estudios de microarrays realizados en CECC presentan un tamaño muestral pequeño y un diseño experimental heterogéneo. Muchos estudios describen las diferencias de expresión observadas cuando se compara la mucosa normal con el tejido tumoral. A pesar de que los genes identificados en estos estudios pueden jugar un papel importante en el proceso de iniciación y progresión tumoral, podrían no estar relacionados con la sensibilidad o resistencia de las células

tumorales sometidas a un tratamiento genotóxico. Es frecuente encontrar agrupados, en un mismo estudio, pacientes con CECC en estadios iniciales y pacientes en estadios avanzados así como pacientes que han recibido protocolos terapéuticos diversos.

Son escasos los estudios dirigidos a predecir si un paciente podría beneficiarse o no del tratamiento con agentes genotóxicos. Este tipo de estudios se han desarrollado en su gran mayoría, en modelos “in vitro” con líneas celulares. Akerwal y col. (2004) evalúan un panel de diez líneas celulares de CECC, identificando 60 genes asociados con la resistencia al cisplatino, los cuales participan en procesos de proliferación tumoral, adquisición de la capacidad metastásica y resistencia a fármacos (TIMP-2, Caveolina-2, PRAME y DAP).¹⁴¹ El estudio de Pramana y col. (2007) es el único dirigido específicamente a identificar genes predictores de la evolución clínica, que evalúa 100 pacientes con CECC tratados con quimiorradioterapia concomitante.¹²⁷ Sin embargo, no consiguen identificar un predictor válido de beneficio clínico para el tratamiento genotóxico.

