



Universitat Autònoma de Barcelona

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA INTERNA

Departament de Medicina
Facultat de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona

**Avaluació de factors mol.leculars associats
a la resposta a anticossos monoclonals
anti-EGFR: integració amb tractaments de
radioteràpia en càncer de cap i coll**

Sergio Benavente Norza

Director
Dr. Jordi Giralt López de Sagredo

Barcelona, novembre de 2015

El Dr. Jordi Giralt López de Sagredo, Professor Titular del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona i cap del Servei d'Oncologia Radioteràpica de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICA

que la tesi amb títol: "**Avaluació de factors mol.leculars associats a la resposta a anticossos monoclonals anti-EGFR: integració amb tractaments de radioteràpia en càncer de cap i coll**", presentada per Sergio Benavente Norza s'ha realitzat sota la seva direcció, considerant que compleix els requisits per la seva lectura i defensa pública.

I perquè així consti, i als efectes oportuns, signo aquest certificat.

Dr. Jordi Giralt López de Sagredo

Barcelona, novembre de 2015.

"Imagination is more important than knowledge"

A. Einstein

The Saturday Evening Post, 1929

Agraïments

És el moment de finalitzar aquest treball de tesi doctoral. Després d'un llarg aprenentatge, recollint dades, cercant informació i contrastant-la, treballant al laboratori, interactuant amb altres disciplines pròximes. Després de moltes hores trobades és moment per agrair a tots els que han fet possible aquest instant. Més enllà de recordar la llarga llista dels qui he pogut anar trobant al llarg de tots aquests anys, crec que tothom podrà trobar-se en alguna de les línies que segueixen.

Gràcies als que no hi són. Per ser necessaris. Per saber estar.

Gràcies als que hi són. Per ser necessaris. Per seguir estant. Per ser motiu de plantejament de nous reptes. Per ser la raó essencial.

Gràcies als companys, amb qui puc compartir complicitats i inquietuts. I que segueixi igual!

Gràcies als amics. Per fer de contrapès. Per ser exigents. Per reparar els vius.

Gràcies als educadors, científics, investigadors. En totes les vessants i en totes les èpoques. Per despertar les inquietuts que ja no m'han abandonat. Per ensenyar-me a ser docent i a preguntar.

Gràcies als pacients. Essència de la professió. Aler de motivació. Esperit de superació.

Índex general

AGRAÏMENTS	7
ÍNDIX GENERAL	9
ÍNDIX D'ABREVIATURES	11
ÍNDIX DE FIGURES	13
ÍNDIX DE TAULES	14
ANTECEDENTS I JUSTIFICACIÓ	15
SUMARI	17
CAPITOL 1	19
1 INTRODUCCIÓ	21
1.1 EPIDEMIOLOGIA DEL CÀNCER DE CAP I COLL	21
1.2 EVOLUCIÓ DEL TRACTAMENT DE RADIOTERÀPIA AL CÀNCER DE CAP I COLL LOCALMENT AVANÇAT	23
1.3 ASPECTES CONSOLIDATS AL TRACTAMENT DEL CÀNCER DE CAP I COLL: <i>EL QUE HEM APRÈS DE LA RECERCA CLÍNICA PRÈVIA</i>	24
1.4 RECERCA TRASLACIONAL EN CÀNCER DE CAP I COLL	30
1.5 APORTACIONS MÉS RECENTS EN RECERCA CLÍNICA	31
1.6 APORTACIONS MÉS RECENTS EN RECERCA TRASLACIONAL: <i>LA RADIOBIOLOGIA MODERNA</i>	34
1.7 CAUSA VÍRICA	36
1.8 RESUM: PERSPECTIVA ACTUAL DEL CÀNCER DE CAP I COLL LOCALMENT AVANÇAT	41
CAPITOL 2	43
2 HIPÒTESI DE RECERCA I OBJECTIUS	45
2.1 HIPÒTESI DE RECERCA	45
2.2 OBJECTIUS	46
CAPITOL 3	47
3 MATERIAL I MÈTODES	49
3.1 DISSENY DE L'ESTUDI	49
3.2 DEFINICIONS I VARIABLES	51
3.3 AVALUACIÓ DE VARIABLES D'EFFECTIVITAT I DE BIOMARCADORS AL TRACTAMENT DEL CÀNCER DE CAP I COLL	60
3.4 ANÀLISI ESTADÍSTICA	65
CAPITOL 4	67
4 RESULTATS	69

4.1	ESTUDI DESCRIPTIU	69
4.2	RESULTATS D'EFFECTIVITAT	76
4.3	ESTUDI TRASLACIONAL	84
CAPITOL 5		91
5	DISCUSSIÓ	93
5.1	ESTUDI DESCRIPTIU	93
5.2	ESTUDI D'EFFECTIVITAT	97
5.3	ESTUDI DE BIOMARCADORS	102
5.4	LIMITACIONS DEL TREBALL	106
6	CONCLUSIONS	111
6.1	LA IMPORTÀNCIA DEL TREBALL MULTIDICIPLINAR AMPLI I DE LA DIMENSIÓ DEL TRACTAMENT SELECCIONAT	111
6.2	POSSIBLES CONDICIONANTS DE L'ÚS D'ANTI-EGFR AL TRACTAMENT DEL CÀNCER DE CAP I COLL	112
6.3	ASSOCIANT ELS RESULTATS CLÍNICS A BIOMARCADORS I ESTRATÈGIES DE TRACTAMENT	114
6.4	COMENTARIS FINALS	118
6.5	CONCLUSIONS	119
7	ANNEX	123
7.1	ANNEX 1. TREBALLS PUBLICATS PRÈVIAMENT EN LA MATEIXA LÍNIA DE RECERCA ("INTERACCIONS EGFR/RADIACIONS")	123
8	REFERÈNCIES	127

Índex d'abreviatures

3D-CRT: Radioteràpia conformada tridimensional
4E-BP: Proteïna d'unió al factor eucariòtic 4E d'inici de la traducció
5FU: 5-fluorouracil
ACE-27: Adult Comorbidity Evaluation-27
Akt: Proteïna quinassa B
CCC: Càncer de cap i coll
CDK4: Quinassa dependent de ciclins 4
CLR: Control loco-regional
DNA: Àcid deoxi-ribonucleïc
EGF: Factor de creixement epidèrmic
EGFR: Receptor del factor de creixement epidèrmic
eIF4E: Factor eucariòtic d'inici de la traducció 4F
EMA: Agència Europea del Medicament
EUA: Estats Units d'Amèrica
FD: Fallida a distància
FDG-PET: Tomografia per emissió de positrons amb glucosa marcada
FLR: Fallida loco-regional
GIST: Tumor de l'estroma gastrointestinal
Gy: Gray
HR: Hazard Ratio
HUVH: Hospital Universitari Vall d'Hebron
IC 95%: Interval de confiança del 95%
ICGC: Consorci Internacional del Genoma del Càncer
IgG₁: Immunoglobulina G₁
IgG₂: Immunoglobulina G₂
IGRT: Radioteràpia guiada per la imatge
IMRT: Radioteràpia d'intensitat modulada
IR-RECIST: RECIST immunològic
ISH: Hibridació in situ
KRAS: Oncogen homòleg de virus de sarcoma de rata
LORHAN: Longitudinal Oncology Registry of Head and Neck Carcinoma
MACH-NC: Metanalysis of Chemotherapy for Head and Neck Cancer
mg: Mil.ligrams
mRECIST: RECIST modificat
mTOR: mammalian or mechanistic target of rapamycin
mTORC1: mTOR complex 1
mTORC2: mTOR complex 2
NHEJ: Reparació no homòloga
NOTCH-1: Notch homolog 1, translocation-associated (Drosophila)
NRAS: Homòleg de l'oncogen viral RAS [v-ras] del neuroblastoma
OR: Odds Ratio
p4E-BP1: 4E-BP1 fosforil.lat
p53: proteïna p53
PCR: Reacció en cadena de la polimerasa
PERCIST: RECIST per PET
PET: Tomografia per emissió de positrons
PI3K: Fosfatidil inositol 3 quinassa
PIK3CA: Subunitat catalítica de PI3K α
pmTOR: mTOR fosforil.lat
pS6: S6 fosforil.lat
PTEN: Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa
PTV: Planning Target Volume

QT: Quimioteràpia
Rb: Retinoblastoma
RECIST 1.1: Response Evaluation Criteria In Solid Tumors versió 1.1
RM: Resonància magnètica
RQT: Ràdio-quimioteràpia
RT: Radioteràpia
RTOG: Radiation Therapy Oncology Group
S6K: Proteïna ribosomal S6 quinassa
SEER: Surveillance, Epidemiology and End Results Program
SG: Supervivència global
shRNA: Short hairpin RNA
SIDA: Síndrome d'immunodeficiència adquirida
SLP: Supervivència lliure de progressió
TC: Tomografia computaritzada
TCGA: Atlas del Genoma del Càncer
TGF- α : Factor de creixement tumoral α
TNM: Sistema d'estadificació del càncer (Tumor, Ganglis, Metàstasis)
TP53: gen p53
VPH: Virus del papil·loma humà
VPH-16: Virus del papil·loma humà serotip 16
VPH_{neg}: Virus del papil·loma humà negatiu
VPH_{pos}: Virus del papil·loma humà positiu
vs: Versus

Índex de figures

Figura 1. Taxes d'incidència de CCC previstes a Espanya.....	21
Figura 2. Taxes d'incidència de CCC per localització i gènere previstes a Espanya.....	21
Figura 3. Taxes de supervivència relativa als 5 anys segons estadi al diagnòstic, EUA 2004-2010.....	22
Figura 4. Comparació directa de quimioteràpia concomitant i d'inducció al MACH-NC ...	26
Figura 5. Representació esquemàtica dels principals nodes de la ruta PI3K/mTOR.....	36
Figura 6. Classificació en categories de risc de mort i estimacions de supervivència global segons aquestes categories	39
Figura 7. Qüestions fonamentals a l'avaluació del tractament del càncer de cap i coll localment avançat.	61
Figura 8. Fallida loco-regional segons tractament rebut	77
Figura 9. Fallida a distància total segons tractament rebut.....	78
Figura 10. Fallida a distància exclusiva segons tractament rebut	79
Figura 11. Supervivència lliure de progressió segons tractament rebut	81
Figura 12. Supervivència global segons tractament rebut.....	82
Figura 13. Supervivència específica segons tractament rebut.....	83
Figura 14. Efecte de l'activació de PI3K/mTOR en els resultats clínics obtinguts	88
Figura 15. Forest plot de l'associació entre marcadors d'activació avaluats i els resultats clínics obtinguts.....	90
Figura 16. Comparació amb altres estudis	94
Figura 17. Factors clínics de pronòstic	102
Figura 18. Resum esquemàtic de biomarcadors de pronòstic	106

Índex de taules

Taula 1.	<i>Supervivència als 5 anys segons tractament rebut.</i>	22
Taula 2.	<i>Hazard ratios per mort i benefici absolut als 5 anys (SG) associats a l'ús de quimioteràpia segons localització i moment d'administració.</i>	26
Taula 3.	<i>Hazard ratios per progressió o mort i benefici absolut als 5 anys (Supervivència Lliure de Progressió, SLP) associats a l'ús de quimioteràpia segons localització i moment d'administració.</i>	26
Taula 4.	<i>Estudis randomitzats de RQT amb esquemes alternatius de cisplatí publicats.</i>	27
Taula 5.	<i>Estudis randomitzats de RQT amb esquemes alternatius de cisplatí en curs.</i>	27
Taula 6.	<i>Resultats a 5 anys de l'estudi fase III de RT+/-cetuximab.</i>	31
Taula 7.	<i>Hazard ratios pels objectius d'eficàcia als 10 anys de l'estudi RTOG 91-11 per la comparació RQT concomitant vs QT-RT seqüencial.</i>	32
Taula 8.	<i>Estat VPH tumoral i dades de supervivència reportat en assajos clínics prospectius.</i>	37
Taula 9.	<i>Comparació de la primera recaiguda a les 3 sèries publicades.</i>	41
Taula 10.	<i>Variables socio-demogràfiques.</i>	52
Taula 11.	<i>Mesura de la variable ACE-27.</i>	53
Taula 12.	<i>Variables oncològiques.</i>	53
Taula 13.	<i>Variable "Àrea anatòmica".</i>	53
Taula 14.	<i>Variable "Sublocalització anatòmica".</i>	54
Taula 15.	<i>Mesura de la variable "Radioteràpia".</i>	54
Taula 16.	<i>Mesura de la variable "Tractament sistèmic".</i>	55
Taula 17.	<i>Mesura de la variable "Cirurgia".</i>	56
Taula 18.	<i>Mesura de la variable "Anatomia Patològica".</i>	56
Taula 19.	<i>Variables d'evolució.</i>	57
Taula 20.	<i>Variables de marcadors.</i>	59
Taula 21.	<i>Característiques dels pacients segons tractament rebut.</i>	70
Taula 22.	<i>Característiques del tractament primari rebut (N=106).</i>	71
Taula 23.	<i>Compliment del tractament sistèmic.</i>	73
Taula 24.	<i>Característiques de les cirurgies de rescat segons grup de tractament (N=106).</i>	75
Taula 25.	<i>Resposta per RECIST 1.1 a la primera avaluació post-tractament.</i>	75
Taula 26.	<i>Anàlisi univariada per FLR.</i>	77
Taula 27.	<i>Anàlisi univariada per FD total.</i>	79
Taula 28.	<i>Anàlisi univariada per FD exclusiva.</i>	80
Taula 29.	<i>Anàlisi univariada per SLP.</i>	81
Taula 30.	<i>Anàlisi univariada per SG.</i>	82
Taula 31.	<i>Anàlisi univariada per SE.</i>	83
Taula 32.	<i>Anàlisi multivariada pels diversos objectius d'eficàcia avaluats.</i>	84
Taula 33.	<i>Estat VPH segons grup de tractament (N=84).</i>	85
Taula 34.	<i>Casos VPH_{pos}.</i>	85
Taula 35.	<i>Característiques dels marcadors avaluats (N=46).</i>	86
Taula 36.	<i>Casos amb mutació de PIK3CA.</i>	87
Taula 37.	<i>Objectius d'estudis fase III en CCC localment avançat i el seu assoliment.</i>	96

Antecedents i justificació

El càncer de cap i coll representa un grup complex de tumors localitzats en 8 àrees anatòmiques diferents. És la cinquena neoplàssia més freqüent. La seva incidència estimada al món és de 500.000 casos nous per any, amb una mortalitat de 300.000 casos per any. El 95% són carcinomes escatosos. Els principals factors de risc són el tabac i l'alcohol així com el virus del papil·loma humà en població més jove i als tumors localitzats a l'àrea de Waldeyer. A diferència d'altres tumors, la recaiguda loco-regional és la principal causa de mort, de manera que ~50% de morts presenten malaltia loco-regional. La radioteràpia té un paper fonamental al seu tractament. Radioteràpia i cisplatí concomitant és el tractament estàndar en malalts amb tumors irressecables, i també es recomana en tumors ressecables si la cirurgia suposarà la pèrdua d'una funció. La metanàlisi MACH-NC demostra que la radioquimioteràpia millora la supervivència als 5 anys en un 6.5%, però amb alta toxicitat aguda (80% mucositis grau 3). Un assaig clínic que comparava radioteràpia amb o sense cetuximab (anticòs monoclonal contra EGFR) demostra que radioteràpia i cetuximab millora de manera significativa la supervivència i la supervivència lliure de malaltia als 5 anys, amb millor perfil de toxicitat que la radio-quimioteràpia. Malgrat l'ús de tractaments més agressius, els resultats de supervivència continuen sent pobres. Les teràpies mol·leculars representen una àrea d'intens desenvolupament amb l'objectiu afegit de reduir la morbimortalitat associada al càncer de cap i coll i els seus tractaments. Un aspecte que ha anat adquirint rellevància durant la última dècada és la resistència, primària o secundària, als tractaments utilitzats, especialment als agents mol·leculars en desenvolupament. Les radiacions segueixen sent un medi molt efectiu de tractar els tumors de cap i coll pel que resulta rellevant aprofundir en el coneixement dels seus efectes mol·leculars, especialment de les interaccions mediades per factors de creixement i els seus receptors, per tal de potenciar els seus efectes, àrea en la que he treballat activament els darrers anys. Així, hem vist que el bloqueig combinat del domini extra i intracel·lular de EGFR és més efectiu (1), que la heterodimerització amb altres membres de la família erbB podria ser un mecanisme de resistència adquirida a anti-EGFR (2), o que la disfuncionalitat de p53 condiciona la resposta (3). Malgrat tot, no s'han pogut identificar factors mol·leculars de resposta a fàrmacs anti-EGFR en tumors de cap i coll. Aquest treball avalua diversos marcadors implicats en la senyalització associada a EGFR en una cohort de malalts tractada amb radioteràpia i anticòs monoclonal anti-EGFR o cisplatí. Els resultats podran suggerir candidats pronòstics amb potencial integració a futurs plantejaments terapèutics que permetin obtenir major benefici clínic en aquests malalts.

Sumari

Antecedents: Radioteràpia i cisplatí concomitants poden obtenir un alt control loco-regional i supervivència al càncer de cap i coll (CCC) localment avançat, particularment a la orofaringe, en casos VPH positius i en no fumadors. Diverses revisions recents qüestionen el paper de cetuximab i radioteràpia en aquesta població, suggerint resultats inferiors, cosa que requereix confirmació addicional. El CCC VPH negatiu sembla obtenir encara pitjors resultats amb les estratègies vigents. Aquest treball investiga les associacions existents entre la informació clínica de llarg seguiment d'una cohort de CCC localment avançat i la relacionada amb la senyalització de HER3 i PI3K/mTOR en aquesta mostra.

Material i mètodes: S'han avaluat 106 casos tractats amb radioteràpia i cisplatí (n=70) o anti-EGFR (n=36). En 84 d'aquests casos s'ha pogut avaluar l'estat VPH, i 46 tenien material suficient per l'estudi de marcadors. Els resultats s'han analitzat amb el mètode de Kaplan-Meier, el model de Cox i metodologia de riscos competitiu.

Resultats: El factor més influent en els resultats clínics ha estat el fàrmac administrat, amb diferències clares en tots els paràmetres avaluats (FLR, SLP, SG i SE). Mentre els resultats obtinguts amb cisplatí són similars als d'altres sèries les dades amb anti-EGFR són bastant inferiors. Confirma l'aspecte rellevant de l'efecte dels anti-EGFR en la FLR, essent aquesta la causa més rellevant de fallida a distància. Val a dir que una majoria àmplia d'aquesta mostra era VPH_{neg}, que la presència de tumors d'orofaringe no era massa alta, i que la presència de tumors T4 i fumadors era bastant superior a la d'altres sèries. Pel que fa als marcadors avaluats, indiquen que la ruta PI3K/mTOR és biològicament activa i que s'associa a pitjor pronòstic; que pS6, un element distal d'aquesta ruta, podria ser un indicador d'activitat; la baixa presència de mutacions de PIK3CA (molts casos són VPH negatius); la potencial implicació de HER3 com a mecanisme compensatori; i la disfunció de p53.

Conclusions: Els resultats han estat clarament millors, tot i que subòptims, amb radioteràpia i cisplatí en una mostra predominantment VPH negativa. És necessari seguir investigant la millor manera d'integrar els agents anti-EGFR en aquests tumors. Seria d'interès poder avaluar l'efecte clínic del bloqueig de mTOR i de HER3, i la utilitat de pS6 com a marcador d'activitat al CCC VPH negatiu.

CAPITOL 1

Introducció general i perspectiva actual

1 Introducció

1.1 Epidemiologia del càncer de cap i coll

Els carcinomes escatosos de les mucoses de la regió del cap i coll suposen 45780 nous casos i 8650 morts al 2015 als EUA. Globalment suposen 644000 casos/any, 2/3 al món en desenvolupament, i el 4-5% de mortalitat al món (4). Les **Figures 1 i 2** mostren la incidència prevista de casos de càncer de cap i coll (CCC) a Espanya fins el 2017 (5).

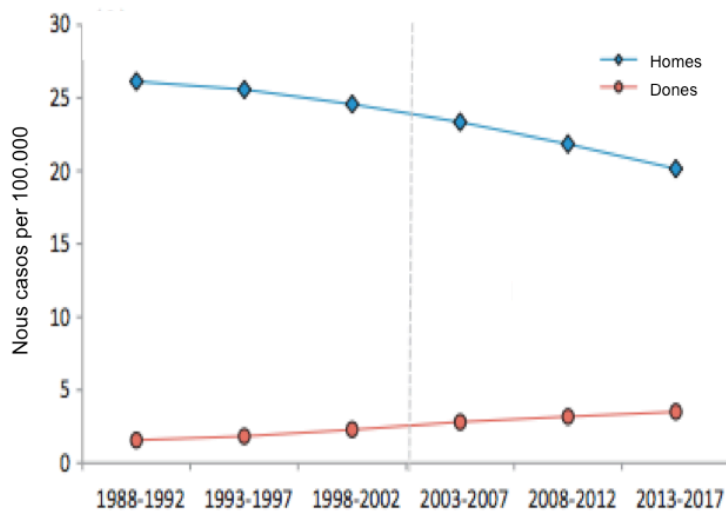


Figura 1. Taxes d'incidència de CCC previstes a Espanya

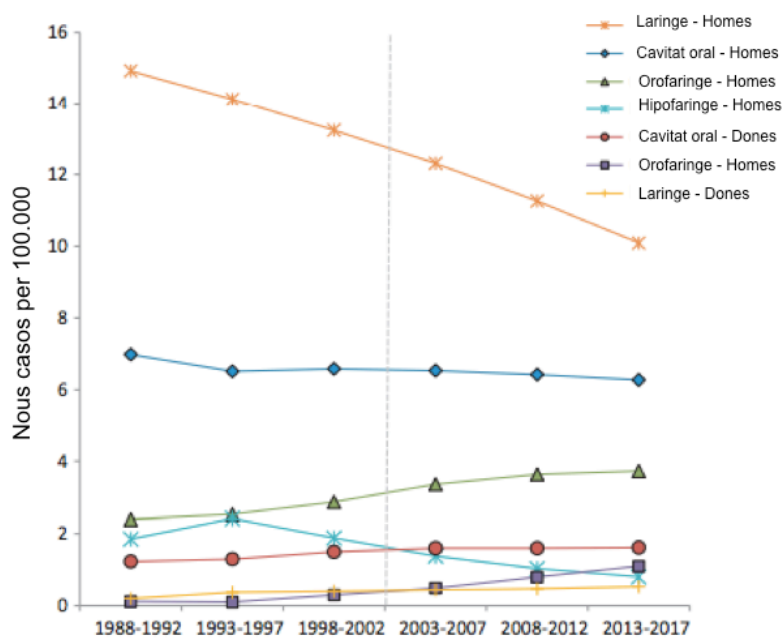


Figura 2. Taxes d'incidència de CCC per localització i gènere previstes a Espanya

La supervivència global (SG) als 5 anys es manté des de fa varies dècades al voltant del 60% (4). És molt dependent de la localització i estadi i queda resumit a la **Figura 3**.

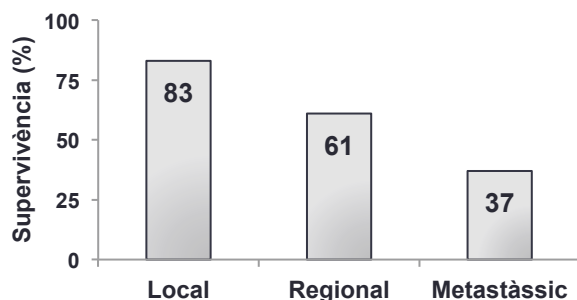


Figura 3. Taxes de supervivència relativa als 5 anys segons estadi al diagnòstic, EUA 2004-2010

En una revisió recent per localitzacions anatòmiques es recull la supervivència del CCC durant la passada dècada. La SG ha passat del 54.7% al període 1992-1996 a 65.9% entre 2002-2006 segons dades del registre SEER. Les localitzacions en què s'havien conseguit aquests guanys són cavitat oral (llengua, +14.4 punts percentuals) i amígdala (+22.2 punts percentuals). És destacable en aquestes localitzacions amb majors guanys que el factor més rellevant és fer radioteràpia (RT) (**Taula 1**). Aquests canvis s'associen als progressos de la tècnica quirúrgica a la cavitat oral i a la presència important de casos amb presència del Virus del Papil·loma Humà (VPH_{pos}). Per altra banda no havia cap diferència pels tumors d'hipofaringe (33.8% SG, 2002-2006) o de laringe (66.8% SG, 2002-2006)(6). Aquestes dades indiquen que plantejaments similars no obtenen els mateixos resultats en totes les sublocalitzacions del cap i coll.

Taula 1. Supervivència als 5 anys segons tractament rebut.

Localització	1992-1996 % (Err)	2002-2006 % (Err)	Diferència	p-valor
Amígdala				
No RT	38.4 (5.6)	53.5 (4.9)	+15.1	0.15
RT	50.3 (2.2)	75.6 (1.6)	+25.3	<0.0001
Llengua mòbil				
No RT	36.7 (4.2)	53.3 (4.0)	+16.6	0.1
RT	41.8 (2.0)	61.8 (1.6)	+20	<0.0001
Cavitat oral				
No RT	60.8 (2.9)	58.2 (3.2)	-2.2	0.4
RT	35.2 (1.8)	46.5 (2.1)	+11.1	0.002

Err: Error estàndar

Paradoxalment, mentre en alguns països el principal factor de risc, l'hàbit tabàquic, va declinant (7) en altres segueix sent una causa principal. El tabac fa sinèrgia amb l'alcohol, de manera que l'efecte combinat és multiplicatiu pels efectes individuals i que el 75% del CCC es pot associar al seu ús. Característicament, l'etanol fa de solvent pels hidrocarburs

carcinogènics del tabac, i el tabac modifica la microflora oral fent que augmentin les concentracions d'acetaldehid. Entre 1 i 4 anys després de deixar de fumar ja es pot trobar un efecte beneficiós en el risc de patir tots els tipus de CCC (OR=0.70; IC95%: 0.61-0.81). L'abandon del consum d'alcohol s'associa a una reducció del 40% del risc de patir un CCC, però als 20 anys de fer-ho. El risc de CCC a 20 anys de deixar l'hàbit tabàquic s'igualava al de la població general (OR=0.23, IC95%: 0.16-0.34) (8).

Més recentment s'ha identificat una causa vírica d'alguns càncers de cap i coll. L'any 2000 es va descriure la detecció de DNA de VPH en càncer d'orofaringe (9). L'epidemiologia d'aquests tumors associats a VPH és diferent de la resta de tumors de cap i coll. Es diagnostiquen en gent jove, no fumadora, de preferència en homes, associat a sexe oral i múltiples parelles, sobretot localitzats a amígdala i base de llengua amb freqüent afectació ganglionar, i excepcionalment responedors a tots els tractaments. En algunes àrees geogràfiques representa fins el 70% dels càncers d'orofaringe i la incidència segueix creixent de manera ràpida. Habitualment s'associa al serotip 16 (VPH 16). De manera àmplia, s'han establert dos mètodes de detecció de VPH. Un és específic, identificant seqüències gèniques pròpies de VPH (PCR, ISH) i l'altre és indirecte avaluant l'expressió de p16 per immunotinció. p16 actua al cicle cel.lular inhibint CDK4 (que fosforil·la Rb, impeding la progressió del cicle cel.lular a nivell de G1/S), i té bona correlació amb la integració del DNA de VPH a l'hoste (sensibilitat 100%, especificitat 80-100%). En aproximadament un 7% de casos no hi ha bona concordança: són p16+ però VPH 16_{neg} i poden correspondre a serotips diferents al VPH 16, o patir una malfunció de Rb.

1.2 Evolució del tractament de radioteràpia al càncer de cap i coll localment avançat

Els darrers 20 anys han viscut una recerca intensiva del tractament del càncer de cap i coll localment avançat. Des del plantejament inicial, en què la cirurgia habitualment seguida de radioteràpia adjuvant era l'estàndar de tractament, passant per una recerca intensiva dels fraccionaments accelerats i la incorporació de la quimioteràpia concomitant, fins el moment actual on es busquen esquemes d'alta eficàcia que permetin mantenir la qualitat de vida dels malalts.

La radioteràpia ocupa un lloc central i en constant evolució al tractament del càncer de cap i coll. Per una part, l'ús de la radioteràpia és variat per les diverses histologies i històries naturals de les diferents sublocalitzacions existents a la regió del cap i coll. Tot i que els

principis bàsics de la irradiació no han variat en les últimes dècades, l'alt grau de coneixement dels aspectes clínicament aplicables de la biologia de les radiacions i l'àmplia disponibilitat dels avenços tecnològics han contribuït a la creixent sofisticació dels tractaments basats en les radiacions, amb beneficis quantificables en millor control tumoral i de qualitat de vida. En paral·lel, els progressos en recerca de tractaments quirúrgics i sistèmics estan aportant estratègies multidisciplinars que impliquen la radioteràpia.

La regió del cap i coll conté diversos òrgans organitzats de manera complexa i que són essencials per funcions fisiològiques bàsiques i crítics per l'aparença física, l'expressió i la interacció social. En conseqüència, el principal repte és minimitzar la toxicitat associada a la irradiació. L'ús de la planificació tridimensional del tractament i la capacitat de modulació dels feixos de radiació durant el tractament permeten l'administració de la dosi de tractament amb gradients més marcats al voltant del volum de tractament, fent possible una reducció de la dosi als òrgans a risc propers tot mantenint la cobertura del volum de tractament (10). Aquesta radioteràpia anomenada d'intensitat modulada (IMRT) s'ha establert ràpidament al càncer de cap i coll perquè ha permès evitar de manera significativa la irradiació de la paròtida contralateral, amb una reducció efectiva de la taxa de xerostomia tardana en aquests malalts sense comprometre els resultats (11–13). La capacitat de la IMRT en l'atenuació d'altres toxicitats, com la disfàgia tardana, està sent avaluada (14–16). Per altra banda, l'efecte de la IMRT en el control tumoral està sotmès a gran debat. Implementada de manera poc acurada comporta un major risc de pèrdua marginal del volum irradiat (17). En aquest sentit, és d'importància cabdal adherir-se a les recomanacions internacionals de delimitació per reduir les variacions de tractament interobservador i interpacient, que han demostrat ser essencials en la conducció d'assajos clínics multi-institucionals (18–20). Hi ha un interès creixent en l'ús de IMRT en estratègies que augmentin el control tumoral mitjançant l'escalada de dosi al volum de tractament, per exemple amb la incorporació de la FDG-PET i la RM funcional (21–23). Aquesta estratègia, anomenada "dose painting", aporta el raonament i la manera de tractar aquests subvolums selectivament amb una dosi més alta sense augmentar la dosi als teixits veïns.

1.3 Aspectes consolidats al tractament del càncer de cap i coll: *el que hem après de la recerca clínica prèvia*

1.3.1 Fraccionaments alterats en radioteràpia

Són estratègies de tractament que aprofiten les diferents sensibilitats entre el tumor i els teixits sans utilitzant fraccionaments diferents al convencional (24). Els fraccionaments

alterats en radioteràpia (RT) han demostrat tenir millor control loco-regional (CLR) amb un petit impacte en supervivència global. Quan es consideren totes les localitzacions del CCC, els assajos clínics que han investigat la RT primària sola han demostrat que l'hiperfraccionament o la RT primària accelerada o amb boost concomitant tenen millor CLR que la RT normofraccionada. Així queda reflectit a l'estudi RTOG 90-03, que també confirma que existeix una sensibilitat diferent al fraccionament entre el tumor i els teixits sans de resposta tardana. A partir d'aquest estudi, l'esquema accelerat amb boost concomitant esdevé un referent al tractament dels estadis intermitjos de càncer de cap i coll (T2 i T3 favorable, N0-1) i es recomana incorporar-lo a futurs estudis de malaltia més avançada (25). Una metanàlisi indica que els esquemes amb fraccionaments alterats poden comportar guanys en supervivència (8% als 5 anys) (26). Per altra banda, l'ús d'esquemes amb 6 fraccions per setmana està avalat per l'estudi DAHANCA (27) i s'ha convertit en un estàndar comú arreu.

1.3.2 Radio-quimioteràpia concomitant en CCC

Els resultats de múltiples publicacions recents indiquen que la radio-quimioteràpia (RQT) concomitant millora el control loco-regional i la supervivència del CCC localment avançat (28–32). Idealment, les combinacions resultants estarien basades en els mecanismes d'interacció entre la radiació i el fàrmac però, malauradament, el mecanisme d'acció de la majoria de fàrmacs no és prou conegut. Aquesta limitació dificulta poder adreçar aspectes específics, com per exemple quin seria el fàrmac més adequat, el moment i l'esquema d'administració. El cost afegit de l'ús d'un fàrmac amb la irradiació és la toxicitat. Als primers estudis es va utilitzar el cisplatí a una dosi de 100 mg/m², 3 dosis durant la irradiació (aproximadament la tercera part dels malalts no podia tolerar la tercera dosi de cisplatí) i, malgrat tot, segueix sent el més utilitzat. En aquest sentit l'ús de la quimioteràpia neoadjuvant al tractament del CCC s'ha estudiat extensivament (33–35). De manera abreujada, no ha conseguit un benefici en supervivència però en molts casos sí que pot aconseguir preservació d'òrgan. La taxa de resposta a quimioteràpia és alta i en alguns estudis ha tingut un efecte de control sobre la malaltia a distància (36–38). En qualsevol cas, no ofereix millor control loco-regional que la radioteràpia sola. El seu interès rau investigacional i de controvèrsia. La RQT concomitant ha esdevingut l'estàndar de tractament al CCC localment avançat amb major guany en supervivència tal i com es reflexa en l'actualització de la Metanàlisi de Quimioteràpia en Combinació amb Radiacions per Càncer de Cap i Coll (Meta-Analyses of Chemotherapy in Head and Neck Cancer, MACH-NC), que va concloure que la addició de quimioteràpia concomitant a la irradiació augmenta la supervivència absoluta als 5 anys en un 6.5% (39). A la **Figura 4** es representa el resultat de la comparació directa entre quimioteràpia concomitant i d'inducció.

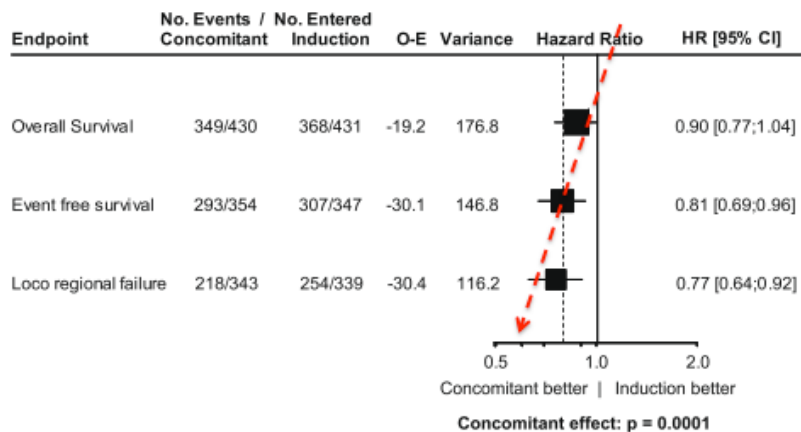


Figura 4. Comparació directa de quimioteràpia concomitant i d'inducció al MACH-NC (39)

La darrera actualització del MACH-NC, del 2011, afegeix una avaluació per localitzacions i conclou que totes les localitzacions es beneficien de la RQT concomitant (**Taules 2, 3**) (40).

Taula 2. Hazard ratios per mort i benefici absolut als 5 anys (SG) associats a l'ús de quimioteràpia segons localització i moment d'administració

		Quimioteràpia			Test d'interacció
		Adjuvant	Neoadjuvant	Concomitant	
Cavitat oral	HR (IC 95%)	0.94(0.76;1.17)	0.93(0.82;1.05)	0.80(0.72;0.89)	p=0.15
	Benefici als 5a(IC)	+0.4%(-7.6;8.4)	+2.2%(-2.9;7.3)	+8.9%(4.4;13.4)	
Orofaringe	HR (IC 95%)	1.15(0.92;1.44)	1.00(0.90;1.11)	0.78(0.72;0.85)	p<0.0001
	Benefici als 5a(IC)	-0.4%(-9.6;8.8)	+1.4%(-2.9;5.7)	+8.1%(4.8;11.4)	
Laringe	HR (IC 95%)	1.05(0.83;1.33)	1.00(0.81;1.23)	0.80(0.71;0.90)	p=0.05
	Benefici als 5a(IC)	+0.1%(-8.5;8.7)	+3.8%(-4.6;12.2)	+5.4%(0.5;10.3)	
Hipofaringe	HR (IC 95%)	1.06(0.82;1.38)	0.88(0.75;1.02)	0.85(0.75;0.96)	p=0.31
	Benefici als 5a(IC)	-2.3%(-13.7;9.1)	+5.3%(-0.8;11.4)	+4%(-1.1;9.1)	

Taula 3. Hazard ratios per progressió o mort i benefici absolut als 5 anys (Supervivència Lliure de Progressió, SLP) associats a l'ús de quimioteràpia segons localització i moment d'administració

		Quimioteràpia			Test d'interacció
		Adjuvant	Neoadjuvant	Concomitant	
Cavitat oral	HR (IC 95%)	0.83(0.69;1.01)	0.94(0.84;1.06)	0.81(0.73;0.90)	p=0.16
	Benefici als 5a(IC)	+5.5%(-2.1;13.1)	+3.8%(-1.1;8.7)	+6.9%(2.8;11.0)	
Orofaringe	HR (IC 95%)	1.09(0.87;1.36)	1.05(0.94;1.16)	0.74(0.69;0.81)	p<0.0001
	Benefici als 5a(IC)	-0.5%(-9.5;8.5)	-0.6%(-4.9;3.7)	+8.4%(5.1;11.7)	
Laringe	HR (IC 95%)	1.06(0.85;1.32)	1.13(0.92;1.38)	0.78(0.70;0.87)	p=0.002
	Benefici als 5a(IC)	-1%(-9.4;7.4)	-1.4%(-9.6;6.8)	+5.4%(0.7;10.1)	
Hipofaringe	HR (IC 95%)	0.97(0.75;1.25)	0.94(0.81;1.09)	0.83(0.73;0.93)	p=0.31
	Benefici als 5a(IC)	+0.5%(-10.5;11.5)	+3.3%(-2.4;9.0)	+3.2%(-1.7;8.1)	

L'esquema de ràdio-quimioteràpia més extensivament utilitzat en el maneig del càncer de cap i coll localment avançat és la combinació de radioteràpia normofraccionada (70 Gy en 35 fraccions en 7 setmanes) i cisplatí 100 mg/m² cada 3 setmanes, motiu pel qual la majoria d'oncòlegs de cap i coll consideren aquest esquema concomitant com a tractament estàndar de referència pel tractament no quirúrgic del càncer de cap i coll localment avançat. Això no obstant, diversos estudis han avaluat esquemes alternatius d'administració de cisplatí (**Taula 4**), tots ells demostrant benefici en control loco-regional i/o supervivència (32,41–43) i diversos estudis randomitzats estan en curs (**Taula 5**).

Taula 4. *Estudis randomitzats de RQT amb esquemes alternatius de cisplatí publicats*

	N	QT	RT	CLR per RQT vs RT	SG per RQT vs RT
Bachaud 1996	83	Cisp 50mg/setm	70 Gy	4a: 77% vs 59%	2a: 72% vs 46%
Jeremic 1997	130	Cisp 6mg/m ² /d	HF 77 Gy	5a: 50% vs 36% p=0.041	5a: 46% vs 25% p=0.0075
Huguenin 2004	224	Cisp 20mg/m ² /d	HF 74.4 Gy	5a: 51% vs 33% p=0.039	5a: 46% vs 32% p=0.15
Wee 2005	221	Cisp 25mg/m ²	70 Gy	-----	3a: 80% vs 65% HR=0.51

HF: hiperfraccionament

Taula 5. *Estudis randomitzats de RQT amb esquemes alternatius de cisplatí en curs*

	N	Estudi	Població	Esquema
ECOG 3311	377	Fase II	Orofaringe p16+	RT+cisp setm vs RT
HN 002	296	Fase II	Orofaringe p16+	RT+cisp setm (per alt risc postop)
RTOG 1216	675	Fase II/III	Alt risc postop	RT+[cisp setm vs docetaxel setm vs docetaxel/cetuximab setm]
RTOG 1221	144	Fase II	Orofaringe VPH _{neg}	[CIR+tract postop segons risc] vs [RT+cisp setm]

La radio-quimioteràpia concomitant basada en platí és el tractament estàndar en totes les localitzacions del càncer de cap i coll localment avançat.

1.3.3 Condicionants de l'eficàcia de la radioteràpia

1.3.3.1 Compliment del protocol d'irradiació

Un tractament de radioteràpia comporta una sèrie de condicionants per tal d'obtenir el màxim benefici possible. La manera més simple d'enfocar-ho és entendre que la irradiació és un procés i no només un event en el tractament oncològic dels malalts. Com a procés requereix un abordatge general, monitorització, disposar de recomanacions basades en informació, demostració de bona praxis, innovació àgil, protocols compartits i eines d'ús d'àmplia

distribució. És per això que sobta que mentre una bona part dels esforços de la dècada prèvia es van centrar en aquests objectius i bona part d'ells segueixen evolucionant favorablement, en una investigació recent sobre la influència del compliment del protocol d'irradiació previst en un estudi clínic fase III internacional es va fer palès l'impacte crític del compliment del protocol d'irradiació. El no compliment va suposar un 24% més de recaigudes loco-regionals (54% vs 78%; HR=2.37; p<.001) i una reducció de la supervivència del 20% (50% vs 70%; HR=1.99; p<.001) (44).

Aquests aspectes adquireixen molta més rellevància quan es fan plantejaments dirigits a preservar la qualitat de vida dels malalts sense detriment de l'eficàcia. Un exemple és l'ús de tècniques de IMRT (*revisat a l'apartat 1.2*) que poden ser guiades per la imatge (IGRT) per tal de controlar els moviments interpacient i interfracció. Més recentment s'està avaluant la incorporació de tècniques funcionals d'imatge (PET, RM) en la planificació i durant el tractament (anomenat radioteràpia adaptativa). En fases menys evolucionades s'estudia la utilització de diverses partícules amb eficàcia biològica relativa superior a la dels fotons, essent la més avançada els protons.

1.3.3.2 La importància del radiosensibilitzador

El grau de compliment del radiosensibilitzador utilitzat és fonamental pels resultats, tant d'eficàcia com de tolerància. Tot i que el cisplatí és el citotòxic més utilitzat com a radiosensibilitzador al CCC, es disposa d'informació limitada sobre la importància de la seva dosi acumulada durant la irradiació. En una revisió sistemàtica recent, que inclou 11 assajos clínics randomitzats amb malalts tractats amb radioteràpia i cisplatí concomitant vs radioteràpia sola, es relaciona major supervivència amb major dosi acumulada de cisplatí (45). L'estudi no permet fer distincions entre altres paràmetres d'eficàcia. Tota la informació coneguda és indirecta, mai s'ha adreçat de manera directa. L'únic estudi del MACH-NC sense efecte en supervivència va ser el que tenia la dosi acumulada de cisplatí més baixa (140 mg/m²).

Al 2004 es va qüestionar el valor de la tercera dosi de cisplatí 100 mg/m², que no es podia administrar en un alt nombre de casos per toxicitat, i es va suggerir que podria no haver benefici afegit més enllà d'una dosi acumulada de cisplatí de 200 mg/m² (46). Més recentment, els resultats de l'estudi RTOG 01-29, on no hi ha diferències en supervivència entre 2 cicles de cisplatí 100 mg/m² i RT accelerada vs 3 cicles i RT normofracionada, fan pensar que l'efecte de la irradiació més intensiva equival a un cicle de cisplatí de 100 mg/m² (47). En una revisió recent s'ha identificat una millora en la supervivència amb una major dosi acumulada de cisplatí en estudis que utilitzen la RQT com a tractament definitiu (41,48–52):

un benefici del 2.2% (IC 95%=0.4-4%) entre RQT i RT sola per cada 10 mg d'augment en la dosi acumulada de cisplatí. És important, doncs, aclarir les raons/situacions que relacionen la dosi acumulada de cisplatí i supervivència, donat que les majors dosis acumulades del fàrmac podrien només reflectir un millor estat de salut dels malalts (53).

Finalment, hi ha 3 situacions pendents de contextualitzar per tal de poder aprofitar millor l'efecte radiosensibilitzador del cisplatí.

- Esquema de fraccionament RT. La major eficàcia dels fraccionaments alterats podria compensar parcialment l'efecte del cisplatí i no oferir beneficis addicionals, com seria el cas al RTOG 01-29 o a l'estudi de Jeremic amb cisplatí diari i RT normofraccionada vs hiperfraccionada; o bé arribar a un extrem on esquemes molt accelerats sols no poguessin compensar l'efecte del cisplatí i RT normofraccionada, com és el cas de l'estudi GORTEC 99-02.
- Esquema d'administració del cisplatí. Dosis setmanals de 30-40 mg/m², o diàries de 5-7 mg/m², o de 100 mg/m² repartits en uns dies es van utilitzant progressivament més amb la intenció de millorar el compliment i augmentar la dosi acumulada de cisplatí. Una experiència recent avaluant 6 mg/m² de cisplatí diari i RT accelerada aconsegueix administrar la quimioteràpia prevista al 90% de casos, comporta més mucositis i necessitat d'alimentació enteral, aconsegueix un 90% de respostes completes del primari, però no aconsegueix una millora del control loco-regional (54). De manera preliminar el registre LORHAN ha reportat l'ús i resultats de cisplatí concomitant amb RT en CCC i ha copsat que la dosi acumulada de cisplatí va ser major als casos tractats amb cisplatí a altes dosis que als tractats a dosis baixes, sense poder aclarir les causes ni l'impacte resultant (55). Segueixen sense ser prou clars els resultats però l'interès en aclarir-los és creixent. Aspectes a considerar són l'estat general, edat i comorbilitats dels malalts; el pronòstic de les diferents localitzacions; i la biologia tumoral.
- Influència de l'estat VPH del tumor. És destacable que aquest aspecte podria afectar no només als tumors d'orofaringe sinó a altres localitzacions del cap i coll (56). El valor pronòstic positiu ben documentat del CCC VPH_{pos}, amb millor supervivència, ha estimulat el plantejament d'estudis de desescalada de la dosi de RT on, si més no, crida l'atenció que en cap cas s'utilitza com a plantejament cisplatí a dosis baixes i RT d'intensitat reduïda vs RT de dosi estàndar (57).

En resum, la impressió és que la dosi acumulada de cisplatí és un aspecte rellevant en els protocols de RQT concomitant. La dosi acumulada de cisplatí que es recomana administrar durant la irradiació

és ≥ 200 mg/m², bé sigui cada 3 setmanes, setmanalment o diària. La competència existent amb altres àrees de recerca al CCC fa que el progrés en aquesta àrea sigui molt lent.

1.4 Recerca traslacional en càncer de cap i coll

1.4.1 Rellevància clínica de la biologia molecular al càncer de cap i coll

El receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR) és un receptor transmembrana de la família erbB amb activitat tirosin-quinasa, sobreexpressat fins al 90% dels càncers de cap i coll (58). Un elevat nombre de còpies del gen EGFR s'ha descrit en el 10% a 58% de càncers de cap i coll (59,60). En contrast al càncer de pulmó, les mutacions activadores de EGFR són rares al CCC. La sobreexpressió de EGFR i un elevat nombre de còpies del gen s'han associat a pitjor pronòstic i radioresistència (59,61–64). L'activació de EGFR en resposta a un ligand (TGF- α o EGF) provoca la fosforil·lació del domini intracel·lular tirosin-quinasa, desencadenant-se un seguit de transduccions de senyal intracel·lulars que finalment comportaran síntesi de DNA, proliferació cel·lular, anti-apoptosi i transcripció de factors de creixement com per exemple mol·lècules pro-angiogèniques (65). EGFR és un substrat d'interès al CCC ja que el seu bloqueig és una estratègia antitumoral efectiva. Cetuximab, un anticòs monoclonal IgG₁ contra EGFR, ha demostrat augmentar la resposta a la radiació en models preclínics.

1.4.2 EGFR i ràdio-resposta

Un estudi correlatiu que va avaluar les mostres tumorals dels malalts tractats al braç de radioteràpia estàndar de l'estudi RTOG 90-03 (*revisat a l'apartat 1.3.1*) va confirmar que els malalts amb expressió de EGFR, per immunohistoquímica, superior a la mediana tenien una SG i SLP significativament menors ($p=0.0006$ i $p=0.0016$, respectivament) secundàries a un augment significatiu de fallida loco-regional (FLR) ($p=0.0031$). A l'anàlisi multivariada l'expressió de EGFR va resultar un fort predictor independent per la SG i la FLR post-radioteràpia (62). Encoratjats per la potencial aplicabilitat clínica, es va fer un estudi de continuació emprant el teixit tumoral dels malalts tractats al braç de boost concomitant de l'estudi RTOG 90-03 amb la intenció de valorar la reproductibilitat dels resultats quantitius de la immunohistoquímica, validar el valor predictiu de EGFR, i avaluar-lo com a marcador mitogènic. En aquest estudi es va obtenir una alta reproductibilitat de la tècnica i es va confirmar l'absència de relació amb els factors pronòstic clínics; els resultats validaven els previs indicant que una alta expressió de EGFR comportava pitjor SG, SLP i major FLR amb hazard ratios de 1.97, 2.15 i 3.12, respectivament. Una anàlisi combinada va observar que

l'expressió de EGFR tenia un impacte encara superior pel control tumoral al braç tractat amb boost concomitant, que obtenia millors resultats interferint amb la repoblació accelerada. Aquests resultats fan pensar que l'expressió de EGFR és un indicador major de la radiosensibilitat del tumor més que no pas de la proliferació de clonògens tumorals (66).

Aquesta hipòtesi es va confirmar en un assaig internacional fase 3 comunicat per primera vegada el 2004, on la combinació de radioteràpia i cetuximab va tenir millor control loco-regional i supervivència sense toxicitats afegides, hematològiques o de mucoses, en comparació a la radioteràpia sola. Les dades a 5 anys mantenen el benefici observat (**Taula 6**) (67). Aquest estudi s'ha convertit en la pedra de toc de la radioteràpia en demostrar la viabilitat del concepte teòric i ha propulsat l'interès en el concepte de radiosensibilització "selectiva".

Taula 6. Resultats a 5 anys de l'estudi fase III de RT+/-cetuximab

Endpoint	RT + cetuximab (n=211)	RT (n=213)	HR (IC 95%)	p-valor
CLR	24.4m	14.0m	0.68(0.52-0.89)	0.005
SG	49.0m	29.3m	0.74(0.57-0.97)	0.03

Representa una reducció del 32% del risc de FLR i del 26% del risc de mort

Cetuximab-RT és per tant considerada una alternativa a radio-quimioteràpia; no obstant, fins aquí no existeixen dades de comparació directa entre radio-quimioteràpia i cetuximab-RT.

1.5 Aportacions més recents en recerca clínica

1.5.1 Estudis moderns de radio-quimioteràpia concomitant amb llarg seguiment

Els estudis amb llarg seguiment permeten identificar "buits" en el coneixement per tal d'apreciar millor les àrees que requereixen més recerca. Un dels estudis més rellevants de RQT en CCC, i de referència en les estratègies de preservació laríngica és el RTOG 91-11, un assaig fase III en càncer de laringe T3 i alguns T4 seleccionats, que comparava l'eficàcia relativa de radioteràpia normofracionada 70 Gy + cisplatí 100 mg/m² trisetmanal vs quimioteràpia neoadjuvant (cisplatí-5FU) + radioteràpia normofracionada 70 Gy vs radioteràpia normofracionada sola 70 Gy amb l'objectiu de preservació de laringe. Els resultats intermitjts indiquen que la taxa de preservació laríngica més alta s'aconsegueix amb l'esquema concomitant però les diferències entre neoadjuvència i concomitant, i neoadjuvència i radioteràpia sola no eren significatives, pel que no podia haver una conclusió definitiva (68). Amb una mediana de seguiment de 10 anys els resultats es mantenen: la

millor estratègia per aconseguir CLR i preservació laríngica és la RQT concomitant mentre que la supervivència sense laringectomia era similar per la RQT concomitant i la inducció (Taula 7). Es va detectar un excés de morts no relacionades amb el CCC als malalts tractats amb RQT concomitant (30.8%, concomitant vs 20.8%, inducció). Per tant, el millor CLR es pot aconseguir amb RQT però s'han de buscar estratègies que redueixin la morbiditat acompanyant (69).

Taula 7. Hazard ratios pels objectius d'eficàcia als 10 anys de l'estudi RTOG 91-11 per la comparació RQT concomitant vs QT-RT seqüencial

Objectiu	HR	IC 95%	p-valor
Supervivència sense laringectomia	1.05	0.83-1.34	0.68
Preservació laríngia	0.58	0.37-0.89	0.005
Control local	0.66	0.47-0.93	0.006
Control loco-regional	0.66	0.48-0.92	0.0037
Control a distància	1.11	0.66-1.86	0.88
Supervivència sense malaltia	0.98	0.78-1.24	0.88
Supervivència global	1.25	0.98-1.61	0.08

1.5.2 RQT concomitant amb fraccionaments accelerats

Més recentment s'ha adreçat en estudis clínics el paper dels esquemes accelerats de radioteràpia amb quimioteràpia concomitant, que no han aportat millores clíniques. Tant a l'estudi RTOG 01-29 com al GORTEC 99-02, la quimio-radioteràpia accelerada no ha estat superior a la normofraccionada (47,70). L'estudi RTOG 01-29 comparava RT accelerada vs normofraccionada amb cisplatí 100 mg/m², i l'estudi GORTEC 99-02 RT normofraccionada amb cisplatí-5FU x3 vs RT accelerada amb cisplatí-5FU x2, vs RT molt accelerada sola. La conclusió dels dos assajos és que l'acceleració no sembla capaç de compensar l'absència de quimioteràpia concomitant.

1.5.3 Estudis amb inhibidors de EGFR

Dos estudis han avaluat l'addició d'un agent anti-EGFR a RQT concomitant, i tampoc han demostrat benefici clínic (71,72). Un d'ells, RTOG 05-22, avaluant l'addició de cetuximab a RT accelerada 70 Gy amb cisplatí a altes dosis i l'altre, incorporant erlotinib (inhibidor tirosín quinassa de EGFR) a un esquema de RT normofraccionada 70 Gy amb cisplatí a altes dosis. Dos estudis més han avaluat de manera directa RT amb anti-EGFR (panitumumab) vs RT amb cisplatí 100 mg/m² (73,74) però tampoc han demostrat benefici clínic. Panitumumab és un anticòs monoclonal IgG₂ anti-EGFR humanitzat, amb moltes semblances a cetuximab i un perfil de toxicitat esperada més favorable. Un d'ells, CONCERT-2, comparava RT accelerada 70-72 Gy amb cisplatí a altes dosis o panitumumab. L'altre, HN-6, comparava RT normofraccionada 70 Gy amb cisplatí a altes dosis vs RT accelerada 70 Gy amb panitumumab.

1.5.4 Replantejament de la QT d'inducció

Queda fora de l'àmbit d'aquest treball tractar els aspectes relacionats amb la QT d'inducció però s'afegeixen algunes dades recents en el context del treball. L'interès de la QT d'inducció ha reaparegut després de la incorporació de taxans a l'esquema tradicional de cisplatí-5FU (75), en base a superiors taxes de resposta post-QT i al possible efecte sobre malaltia a distància. Aquests esquemes s'han incorporat com a opció de preservació laríngica, tot i no ser aquesta la opció majoritària en l'àmbit oncològic. Cap estudi s'ha plantejat amb l'objectiu principal de control a distància. De manera intuïtiva s'ha extrapolat aquesta informació a escenaris de malaltia irressecable o de qualsevol altra localització al cap i coll i s'han plantejat estudis incorporant QT d'inducció. Típicament, aquests estudis plantegen administrar diversos cicles de QT abans de contemplar el tractament local definitiu. En aquests estudis, fins un 35% de malalts poden tenir compromesa la irradiació post-QT per toxicitat, l'efecte a distància no s'ha pogut aclarir i els objectius d'eficàcia escollits no tenen en compte el control loco-regional (76,77). Els resultats ofereixen dades similars de SG i de SLP a la RQT concomitant. Als condicionants d'eficàcia de la radioteràpia revisats prèviament (*apartat 1.3*) s'afegeix l'ampli desconeixement dels canvis que suposen a la malaltia tumoral macroscòpica o microscòpica el tractament de QT ja rebut. De manera empírica es recomana tractar els volums inicials de malaltia (78), fet que impedeix incorporar diverses estratègies de RT que avaluen la intensificació de la irradiació (79). Dos estudis recents han intentat avaluar de manera directa el paper de l'addició de la QT d'inducció a un règim de RQT concomitant (37,38). Els dos han hagut de tancar prematurament per manca de reclutament. Les dades que s'han pogut avaluar no suggereixen un benefici clínic.

En resum, els estudis a llarg seguiment indiquen que la RQT concomitant ofereix les millors opcions de control local i que la morbiditat dels tractaments adquireix gran rellevància. La recerca clínica feta als darrers anys no ha suposat cap benefici clínic, la qual cosa no és negativa: la recerca en cap i coll, igual que en altres àrees de la oncologia, necessita ser intensiva per poder progressar. Finalment queda per decidir si l'objectiu de control loco-regional segueix sent d'interès al CCC: amb taxes de recaiguda local de fins el 50%, inclús amb medis actuals, sembla raonable tenir-lo en consideració. Els resultats recents indiquen que els plantejaments estudiats potser no tinguin capacitat real de tenir impacte, si més no de manera universal, en la població de CCC on les comorbilitats i segons tumors competeixen com a causa de mort de manera rellevant.

1.6 Aportacions més recents en recerca traslacional: *la radiobiologia moderna*

La radiobiologia pretén conèixer els mecanismes bàsics que contribueixen a la radiosensibilitat tumoral. Per tal de poder-ho fer és necessari definir els objectius mol.leculars d'interès, conèixer els mecanismes de transducció de senyals i identificar marcadors genètics de radiosensibilitat, entre d'altres perspectives de futur.

1.6.1 Família de receptors erbB

L'estudi intensiu de la família de receptors erbB (EGFR, HER2, HER3, HER4) ha demostrat que el bloqueig de EGFR és una terapèutica oncològica ben validada durant la darrera dècada (65,80). Això no obstant, només una minoria de malalts amb CCC es beneficiaran dels anticossos monoclonals anti-EGFR, i la taxa de resposta objectiva en monoteràpia oscil.la entre el 6% i el 13% (81). Malauradament, molts dels pacients que inicialment responen a teràpies amb anti-EGFR eventualment manifestaran progressió tumoral (82,83). És de gran rellevància conèixer els mecanismes subjacents de resistència adquirida a inhibidors de EGFR. Diversos estudis preclínics han apuntat que HER3 podria compensar funcionalment l'efecte del bloqueig de EGFR/HER2 (84,85,2,86). S'ha estudiat en models de càncer de mama dependents de HER-2 on es va veure que un bloqueig incomplet de HER-2 facilitava la reactivació de la via PI3K/Akt mediat per HER3 (84); de càncer de pulmó amb mutacions activadores de EGFR on es va veure que la resistència a anti-EGFR s'associava a amplifícció de cMET i que aquest dimeritzava amb HER3 per promoure la via PI3K/Akt (85); i de càncer de cap i coll amb p53 funcionant on a partir d'un model de resistència adquirida es va identificar l'activació de HER3 en les clones resistents (87) i que es va relacionar amb dimerització amb EGFR (2); també s'ha investigat en models on la senyalització de EGFR és funcional però no contribueix al creixement del tumor, on s'ha bloquejat la funcionalitat de EGFR farmacològicament, i s'ha vist que la dependència funcional deixava de ser de EGFR per passar a estar mediada per HER3 (86).

1.6.2 Modulació dels sistemes de transducció de senyals

De les moltes cascades de senyals regint la resposta cel.lular a diversos estímuls una de les millor estudiades i que ha demostrat un paper clar en la resposta i sensibilitat a radiacions ionitzants és la de PI3K/Akt, considerada com a sistema de supervivència. És també el sistema de senyalització intracel.lular millor caracteritzat per HER3. L'activació de PI3K/Akt per fosforil.lació està mediada per receptors de factors de creixement, i conseqüentment provoca la fosforil.lació i activació d'un ventall de proteïnes implicades en processos com la progressió del cicle cel.lular, supressió de l'apoptosi, i captació de glucosa i metabolisme (88,89). Aquest sistema pot estar inapropiadament actiu en tumors per diversos mecanismes, com la sobreexpressió de receptors (cas de EGFR), pèrdua del gen supressor PTEN,

mutacions oncogèniques en NRAS i KRAS i altres mecanismes, tots ells associats amb major radioresistència en models d'investigació (90). Els mecanismes pels quals aquests sistemes actuen sobre la radiosensibilitat no són ben coneguts. Per exemple, el sistema PI3K/Akt pot inhibir la resposta apoptòtica que seguiria al dany al DNA (88). Això no obstant, correlacions entre inducció d'apoptosi i supervivència clonogènica o retràs del creixement tumoral són dèbils (91). Més recentment s'han identificat connexions amb la reparació del DNA, particularment amb els trencaments de doble cadena per NHEJ i HR (92–94). La inhibició d'aquests sistemes de reparació provoca un marcat augment de la radiosensibilitat i podria ser el mecanisme més meritori que relacionés la transducció de senyals amb la mort cel·lular post-irradiació. Malgrat la relació amb la radiosensibilitat sigui clara i hagi diversos punts clarament tractables farmacològicament, la seva idoneïtat com a objectius depèn de si hi ha altres maneres més específiques d'augmentar la radiosensibilitat tumoral, de si hi ha altres maneres menys tòxiques d'aconseguir el mateix efecte, i del grau de dependència que tingui el tumor per aquella via. Al moment present no és una opció viable per un tumor individual durant el procés de decisió del tractament.

A la part distal d'aquesta via es troba *mammalian or mechanistic target of rapamycin* (mTOR), una proteïna quinassa amb funció reguladora del creixement i la divisió cel·lulars en resposta a la suficiència d'energia i de nutrients. mTOR es troba formant part de 2 macrocomplexes, mTOR complex 1 (mTORC1) i complex 2 (mTORC2), que interactuen amb diferents substrats (95). Els dos substrats millor caracteritzats de mTORC1 són la proteïna ribosomal S6 quinassa (S6K) i la proteïna d'unió al factor eucariòtic 4E d'inici de la traducció (4E-BP). La fosforil·lació d'ambdós afecta l'eficiència de la traducció i per tant són mediadors de mTORC1 (96). L'activitat de mTOR està incrementada al CCC i té un rol bàsic en el control de factors que promouen la fallida local i la supervivència al CCC, com pot ser el metabolisme (97).

Experiències amb rapamicina, un immunosupressor utilitzat amb glucocorticoids i ciclosporina en la prevenció del rebuig post-trasplantament, han demostrat efectes en el retard del creixement i antiangiogènics en diversos models tumorals inclòs el CCC (98–100). La possible dependència del CCC en la senyalització de mTOR ha fet créixer l'interès en la seva avaluació clínica al CCC. El factor eucariòtic d'inici de la traducció 4F (eIF4E), alliberat amb l'activació de 4E-BP1, està sobreexpressat als marges lliures de tumor del CCC i és un predictor independent de recaiguda (101). Per tot això, hem estudiat l'expressió de la ruta PI3K/mTOR al CCC. La **Figura 5** representa de manera esquemàtica els principals nodes de la via.

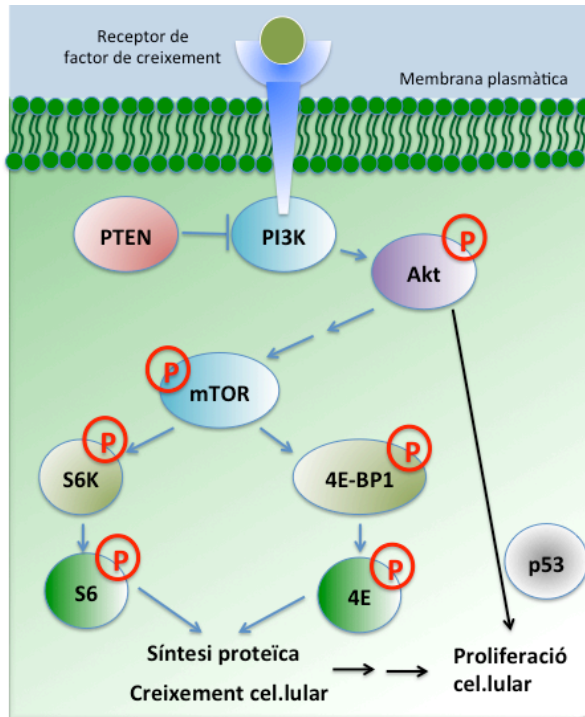


Figura 5. Representació esquemàtica dels principals nodes de la ruta PI3K/mTOR

1.6.3 Seqüenciació genòmica dels tumors

El coneixement i creixement progressius en genòmica permeten conèixer patrons de mutacions i d'altres alteracions genètiques en diferents tipus de tumors amb l'interès de poder determinar les característiques genètiques que afectin a la resposta a la radiació en un cas individual (102). Per tal d'obtenir una representació genètica àmplia 2 grups independents han realitzat recentment estudis de seqüenciació massiva en CCC que han permès disposar d'una visió panoràmica de les alteracions genètiques associades al CCC (103,104). De manera resumida, apunten que hi ha menys mutacions als casos VPH_{pos}, identifiquen mutacions de TP53 en el 47-62% de mostres, absència de mutacions de TP53 als casos VPH_{pos}, als tumors VPH_{neg} predominen les mutacions en gens supressors (89%) vs oncogens (18%), i la identificació d'un nou gen associat al CCC (NOTCH-1).

Amb aquest rerafons s'expandeixen considerablement les possibilitats d'entendre i dissenyar estudis adaptats a les diverses condicions del CCC.

1.7 Causa vírica

1.7.1 VPH com a factor pronòstic

Recentment, les anàlisis secundàries de diversos assajos clínics multicèntrics han confirmat l'estat de VPH al tumor com un important factor pronòstic als malalts amb càncer de cap i

coll. En l'únic estudi que avaluava prospectivament l'efecte en supervivència de l'estat de VPH al tumor, els investigadors reporten que la taxa de respostes a un règim d'inducció (carboplatí i paclitaxel) va ser superior als malalts VPH_{pos} que als VPH_{neg} (105). La RQT administrada posteriorment era amb paclitaxel setmanal i RT normofraccionada 70 Gy. Amb una mediana de seguiment de 40 mesos, la SLP i la SG eren superiors als malalts VPH_{pos}. En una anàlisi restringida als tumors d'orofaringe, els casos VPH_{pos} tenien menys del 50% de risc de mort que els VPH_{neg}, tot i ser una mostra petita i només es va ajustar per l'estat general en fer la comparació. En un estudi de la Universitat de Michigan s'informa de taxes de resposta superiors després d'un únic cicle de cisplatin i 5-FU en malalts VPH_{pos} que als VPH_{neg}. Després de completar la RQT amb cisplatin a altes dosis i 70 Gy normofraccionats, els casos VPH_{pos} tenien millor SG, però la mostra era petita per afegir altres factors pronòstic (106). A l'estudi DAHANCA 5, que tractava malalts amb tumors de faringe estadis I-IV amb 66-68 Gy normofraccionats, els tumors p16_{pos} (com a subrogat de l'estat de VPH) tenien millor CLR i SLP després d'ajustar per estadis T i N (107). En un assaig fase III que randomitzava els malalts a RQT amb cisplatin +/- tirapazamina es va observar superioritat als 2 anys en SG i SLP als pacients amb tumors d'orofaringe p16_{pos}. Havia una tendència cap a millor CLR afegint tirapazamina als casos p16_{neg} (108). En un altre estudi previ del grup DAHANCA també es suggeria una resposta diferencial al radiosensibilitzador hipòxic nimorazol als tumors p16_{neg}, però el tamany de la mostra p16_{pos} era petit i molts dels tumors p16_{pos} no eren d'orofaringe en aquesta anàlisi (109). Aquestes dades es resumeixen a la **Taula 8**.

Taula 8. Estat VPH tumoral i dades de supervivència reportat en assajos clínics prospectius

Assaig	N	RT (Gy)	Inducció	Concom.	Seguim.	VPH+ o p16+	Aval.	SG		p	HR
								VPH+	VPH-		
Gillison RTOG 9003	190	70	No	No	>60m	39%	5a	49%	19.6%	<0.0001	0.43
Fakhry ECOG	96	70	CBP/PCT	PCT, wk	39m	40%	2a	95%	62%	0.005	0.36
Rischin TROC	195	70	No	Cisp +/- TPZ	27m	28%	2a	94%	77%	0.007	0.29
Gillison RTOG 0129	323	70-72	No	Cisp	4.8a	64%	3a	79%	46%	0.002	0.44
Settle TAX324	119	70-74	TPF	CBP, wk	67m	50%	5a	93%	35%	<0.01	0.2
Lassen DAHANCA 5	156	62-68	No	Nimorazol, d	>60m	22%	5a	62%	26%	0.003	0.44
Lassen DAHANCA 6&7	794	66-68	No	Nimorazol, d	60m	23%	5a	66%	28%	<0.0001	0.54
Rosenthal IMCL-9815	182	70	No	Cetux, wk	60m	41%	5a	-----	-----	-----	0.27

Concom: concomitant; Seguim: seguiment; Aval: avaluació; SG: supervivència global; CBP: carboplatí; PCT: paclitaxel; wk: setmanal, cisp: cisplatin; TPZ: tirapazamina; TPF: docetaxel, cisplatin, 5-FU; HR: Hazard Ratio VPH+ vs VPH-.

En totes aquestes sèries el HR entre VPH_{pos} i VPH_{neg} per supervivència oscil·la entre el 0.20 i 0.54, indicant de manera homogènia una reducció substancial del risc de mort associat als tumors VPH_{pos}.

1.7.2 VPH com a factor pronòstic independent?

Una metanàlisi d'estudis retrospectius ha reportat la relació entre infecció VPH i SG / SLP en CCC. Els pacients amb tumors VPH_{pos} van reduir el seu risc de mort el 15% (HR=0.85; 95%CI: 0.7-1.0) i el de progressió de la malaltia el 38% (HR=0.62; 95%CI: 0.5-0.8). Avaluat per localitzacions, els pacients amb tumors VPH_{pos} d'orofaringe van reduir el seu risc de mort el 28% (HR=0.72; 95%CI: 0.5-1.0) mentre que no havia diferències pels tumors VPH_{pos} no-orofaringis. Pel que fa a la SLP, pels casos VPH_{pos} d'orofaringe havia una reducció del 49% (HR=0.51; 95%CI: 0.4-0.7) del risc de progressió de la malaltia mentre que els tumors VPH_{pos} de laringe tenien un risc superior al doble de progressió de la malaltia (HR=2.45; 95%CI:0.3-23.6)(110).

Recentment s'ha reportat l'anàlisi de l'efecte de l'estat de VPH al tumor primari a l'estudi RTOG 01-29 (*revisat a l'apartat 1.5.2*). En una anàlisi restringida als tumors d'orofaringe, el 64% va tenir tumors VPH_{pos}, amb significativa superioritat en SG i SLP als 4.5 anys de mediana de seguiment. Els pacients amb tumors VPH_{pos} tenien una reducció del risc de mort del 58%, i una reducció del 51% de risc de progressió o mort després d'ajustar per altres factors (edat, estadi T, estadi N, hàbit tabàquic, tractament rebut). Igualment, els casos VPH_{pos} tenien una significativa millora en CLR i una menor incidència de segons tumors. Es va identificar una alta correlació entre l'estat de VPH i la tinció immunohistoquímica de p16, i l'estratificació dels resultats segons estat de VPH o p16 oferia resultats similars (**Figura 6**) (47). En l'anàlisi d'un altre grup es va reportar que per malalts amb tumors d'orofaringe VPH_{pos} havia menor risc de FLR i mort per altres causes (111). Aquests resultats han motivat l'avaluació en un assaig clínic fase III de la comparació IMRT accelerada 70 Gy + cisplatí altes dosis vs IMRT accelerada 70 Gy + cetuximab en tumors d'orofaringe T1-2N2a-3 o T3-4, p16_{pos} amb l'objectiu de supervivència als 5 anys (112).

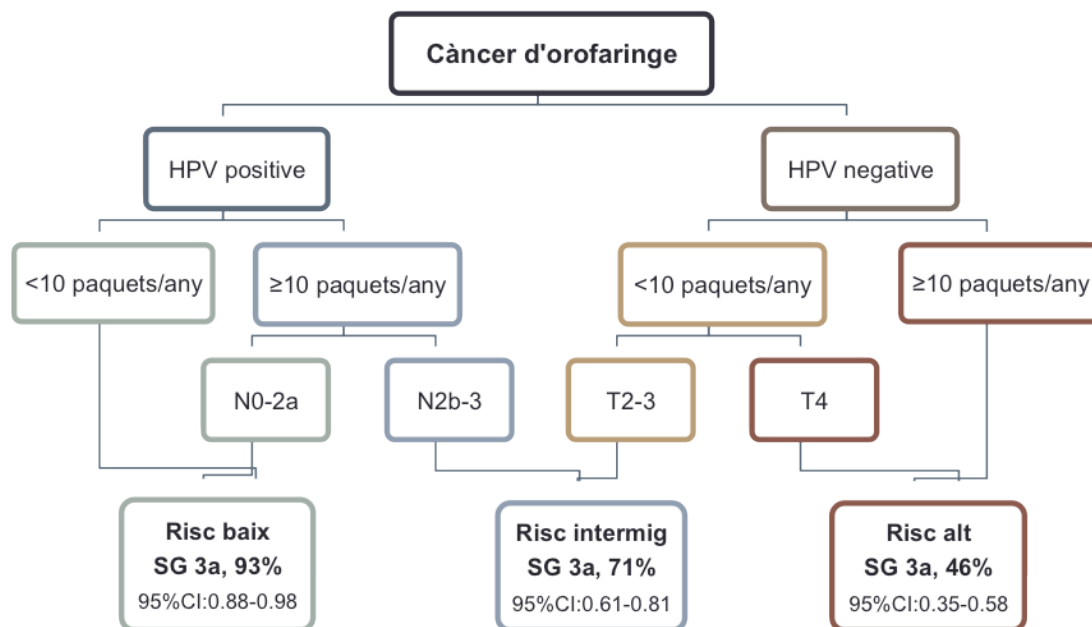


Figure 6. *Classificació en categories de risc de mort i estimacions de supervivència global segons aquestes categories*

D'aquestes anàlisis es pot concloure que els tumors VPH_{pos} tenen taxes de resposta superiors a la QT d'inducció basada en platí, a la RT sola, o a la RQT, i que les diferències de supervivència entre malalts VPH_{pos} i VPH_{neg} observades a les anàlisis prospectives és similar a la de les anàlisis retrospectives. Addicionalment, les millores en supervivència als malalts VPH_{pos} semblen independents del plantejament terapèutic específic plantejat. Això no obstant, cap d'aquests estudis tenia un tamany suficient per demostrar que el benefici en supervivència dels malalts VPH_{pos} és independent d'altres factors pronòstic importants, inclòs l'hàbit tabàquic.

1.7.3 VPH i evolució del càncer

1.7.3.1 Patrons de recaiguda

El cas del càncer d'orofaringe VPH_{pos} ha motivat un interès sense precedents en el replantejament del seu tractament. Un dels primers treballs a recollir la possibilitat de desintensificar el tractament d'aquests tumors orofaríngis és una revisió retrospectiva de 505 casos tractats amb RT (55%) o RQT (45%) amb una alta proporció de tumors localment avançats i una mediana de seguiment de 3.9 anys, on es confirma que el CLR és superior als tumors VPH_{pos} sense diferències en control a distància. Una anàlisi recursiva de particions suggereix que els tumors VPH_{pos} dels estadis T1-3N0-2c tenen un risc molt baix de fallida a

distància (control a distància, 93%). El control a distància dels casos amb afectació ganglionar era similar entre els que rebien RT o RQT, excepte pels casos N2c tractats només amb RT (control a distància, 73% vs 92%, $p=0.02$) (113). Un assaig clínic fase II està testant aquesta hipòtesi en tumors d'orofaringe T1-3N0-2b, p16_{pos} i no fumadors, randomitzats a IMRT accelerada 60 Gy vs IMRT 60 Gy amb cisplatí setmanal (114).

1.7.3.2 Influència del rescat

Tradicionalment, la fallida loco-regional és la manera més freqüent de fracàs al càncer de cap i coll i quan es produeix, la supervivència remanent acostuma a ser molt limitada. Per aquesta raó els resultats de l'estudi EXTREME en malaltia recurrent o metastàsica, incorporant cetuximab al tractament de quimioteràpia, amb resultats favorables i un petit nombre de llargs supervivents ha resultat d'àmplia transcendència a la oncologia de cap i coll (115). En la idea global de millor pronòstic dels tumors d'orofaringe VPH_{pos} s'ha revisat recentment l'eficàcia del salvament en una anàlisi conjunta dels assajos clínics RTOG 01-29 i 05-22 (116). Els resultats suggereixen un temps fins a la recaiguda similar per tumors VPH_{pos} i VPH_{neg}, amb millor supervivència als 2 anys pels casos VPH_{pos} (54.6% vs 27.6%, $p<0.001$) amb una HR de 0.48 per risc de mort després de salvament. Aquests resultats apunten que l'estat VPH del tumor s'ha de contemplar igualment en les recaigudes o progressions de la malaltia .

1.7.3.3 Fallida a distància

En un estudi retrospectiu es va identificar un grup de tumors orofaringis amb risc molt baix de fallida a distància (113). Els investigadors van observar que mentre la gràfica per tumors VPH_{neg} s'estabilitzava al voltant dels 2 anys, la dels VPH_{pos} continuava caient fins al voltant dels 5 anys. En una anàlisi més detallada, els mateixos investigadors van observar que només als tumors VPH_{pos} havia un 13% de fallida a distància 3 anys post-tractament i que el 33% de fallides a distància afectaven a >2 òrgans, suggerint una història natural pròpia i diferent pels tumors orofaringis VPH_{pos} (117). Si aquesta informació es confirmés, podria significar que l'anàlisi de la primera progressió seria insuficient per copsar els events tardans en aquests tumors. La **Taula 9** compara la primera progressió en les 3 sèries publicades per càncer d'orofaringe.

Taula 9. Comparació de la primera recaiguda a les 3 sèries publicades

1 ^a recaiguda	RTOG 0129 / 0522 (116)		Princess Margaret (117)		Washington Univ. (118)	
	p16 pos	p16 neg	p16 pos	p16 neg	p16 pos	p16 neg
	(n=450) N (%)	(n=187) N (%)	(n=382) N (%)	(n=123) N (%)	(n=41) N (%)	(n=25) N (%)
rec T	21 (20)	25 (32.9)	10 (15.6)	17 (36.2)	0 (0)	2 (8)
rec N	32 (30.5)	14 (18.4)	10 (15.6)	7 (14.9)	4 (9.8)	0 (0)
rec T+N	4 (3.8)	4 (5.3)	7 (10.9)	8 (17)	1 (2.4)	2 (8)
rec T+M	3 (2.9)	3 (3.9)	0 (0)	2 (4.3)	1 (2.4)	4 (16)
rec N+M	2 (1.9)	1 (1.3)	1 (1.6)	3 (6.4)	4 (9.8)	1 (4)
rec M	43 (41)	29 (38.2)	35 (54.7)	10 (21.3)	29 (70.7)	13 (52)
rec T+N+M	0 (0)	0 (0)	1 (1.6)	0 (0)	2 (4.9)	3 (12)

rec:recidiva

1.8 Resum: Perspectiva actual del càncer de cap i coll localment avançat

En resum, l'epidemiologia del CCC (*revisada a l'apartat 1.1*) està evolucionant i segons la relació entre tabaquisme i infecció per VPH podem trobar-nos tumors amb pronòstics diferents. Tot i així, la supervivència als 5 anys es manté estable, al voltant del 60%, des de fa varies dècades i els progressos han estat desiguals en les diferents sublocalitzacions del cap i coll, sent les més altes al càncer de laringe (al voltant del 65%), les més baixes al càncer d'hipofaringe (al voltant del 30%) i les millores sobretot en el càncer de cavitat oral i d'orofaringe.

El paper de la radioteràpia al tractament del càncer de cap i coll s'ha consolidat als darrers 20 anys (*revisat als apartats 1.2 i 1.3*) amb la validació dels conceptes de la radiobiologia clàssica, afavorint els esquemes accelerats, i la radiosensibilització amb quimioteràpics, afavorint els esquemes concomitants. La creixent revolució científica i tecnològica dels darrers anys no ha transcorregut a la mateixa velocitat entre el desenvolupament farmacològic i el tecnològic, afavorint una ràpida implementació de fàrmacs basats en el nou coneixement de la biologia mol.lecular del càncer, fet que ha possibilitat canvis importants en el tractament i pronòstic del càncer. Els dos grans grups d'avenços recents en radioteràpia tenen a veure amb la precisió i velocitat amb alta seguretat de l'administració dels tractaments, amb repercussió directa sobre els estadis inicials de malaltia (en competència amb la cirurgia) i sobre els estadis finals de malaltia (intensificació dels tractaments pal.liatius), ambdós en fase d'expansió i consolidació. La situació de malaltia avançada, la més freqüent en CCC, ha quedat relativament al marge d'aquests progressos, d'aquí que la supervivència hagi variat poc en dècades, i el que s'ha produït és un "refinament" dels tractaments utilitzats. Crida l'atenció

que només s'hagi pogut establir un cas en què la biologia mol.lecular hagi pogut modificar un plantejament establert de radioteràpia, i aquest és el cas del CCC localment avançat tractat amb radioteràpia i inhibidors de EGFR (*revisat a l'apartat 1.4*). Com a resultat, la recerca clínica feta més recent, amb base empírica poc contrastada, no ha obtingut benefici clínic en cap de les modalitats testades (*revisat a l'apartat 1.5*).

L'única manera de poder aconseguir millorar els resultats obtinguts fins ara en CCC és amb el millor coneixement de la biologia tumoral de les diferents entitats que conformen la regió del cap i coll i adaptant el tractament als requeriments específics. No ha estat fins fa molt poc que la comunitat científica ha optat per incorporar la informació genètica del CCC a la seva àrea d'estudi (*revisat a l'apartat 1.7*) per revelar que les alteracions genètiques del CCC són molt complexes. Un cas especial és el dels tumors VPH_{pos}, amb millor pronòstic globalment, on s'haurà de determinar si corresponen a una malaltia diferent. El treball restant haurà d'esbrinar com millor integrar aquesta informació en les diverses modalitats de tractament del CCC localment avançat.

CAPITOL 2

Hipòtesi de recerca i objectius de la tesi

2 Hipòtesi de recerca i objectius

Un cop revisada la literatura disponible i exposat l'estat actual sobre el tractament del càncer de cap i coll localment avançat, s'ha posat de manifest la limitada efectivitat dels tractaments habitualment utilitzats.

2.1 Hipòtesi de recerca

Per tot el que s'ha exposat fins aquest punt, resulta evident que les alternatives terapèutiques actualment consolidades poden aconseguir uns resultats clínics limitats en el tractament del càncer de cap i coll localment avançat. L'única situació distintiva identificada recentment és la dels tumors de cap i coll VPH_{pos}, associats a millor pronòstic en general i amb desigual representació geogràfica. És necessari intensificar la recerca traslacional per tal de poder identificar millors estratègies de tractament adaptades a les situacions pròpies de cada tumor de cap i coll. La senyalització associada a HER3 i PI3K/mTOR s'ha relacionat amb resistència a radiacions i és un focus de recerca intensiva en tumors epitelials. Aquest treball de tesi doctoral proposa que la informació clínica de llarg seguiment d'una cohort de pacients amb càncer de cap i coll localment avançat i la relacionada amb la senyalització associada a HER3 i PI3K/mTOR en aquesta cohort mostraran associacions significatives amb possibilitat d'aplicació a la pràctica clínica així com interès suficient per avaluar la seva inclusió en assajos clínics que tractin malalts amb càncer de cap i coll.

2.2 Objectius

2.2.1 Objectiu general de la tesi doctoral

L'objectiu general d'aquesta tesi és descriure els resultats a llarg termini d'un programa de tractament de càncer de cap i coll. A partir de les variables estudiades s'identificaran paràmetres que avaluin els resultats clínics obtinguts.

2.2.2 Objectius específics de la tesi doctoral

2.2.2.1 Objectiu específic 1

Descriure les principals característiques epidemiològiques i clíniques dels malalts amb càncer de cap i coll tractats de manera concomitant amb radioteràpia i tractament sistèmic.

2.2.2.2 Objectiu específic 2

Identificar i analitzar les variables estudiades que es relacionen amb l'efectivitat del tractament concomitant de radioteràpia i tractament sistèmic en malalts amb càncer de cap i coll.

2.2.2.3 Objectiu específic 3

Identificar i analitzar les variables estudiades que es relacionen amb els biomarcadors avaluats a la recerca traslacional efectuada en malalts amb càncer de cap i coll.

CAPITOL

3

Material i mètodes

3 Material i mètodes

En aquest secció es descriuen els recursos, registres i la metodologia emprades per dur a terme aquest treball.

3.1 Disseny de l'estudi

El treball en què es basa aquesta tesi doctoral és un estudi observacional retrospectiu, en condicions de pràctica clínica habitual. El període de l'estudi ocupa 12 anys, des de novembre de 1999 fins a octubre del 2011. Tots els malalts encara vius van signar un consentiment informat acceptant la utilització de la seva biopsia diagnòstica a l'estudi. El Comitè Ètic de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron va aprovar aquest estudi.

3.1.1 Pacients avaluats

La mostra utilitzada en aquest estudi la componen casos de tumors avançats de cap i coll després d'un procés de selecció per garantir que complien tots els criteris d'inclusió i cap d'exclusió.

3.1.1.1 Criteris d'inclusió

- Diagnòstic de carcinoma escatós de cavitat oral, orofaringe, hipofaringe o laringe estadis III-IV.
- Estadiatge clínic amb exploració física, TC/RM de cap i coll, radiografia de tòrax i analítica general.
- Tractament de radioteràpia concomitant amb cisplatí 100 mg/m² o anticòs monoclonal anti-EGFR.
- Dosi de radioteràpia ≥ 60 Gy.
- Edat ≥ 18 anys.
- ECOG 0-1
- Disposar de material histològic suficient per realitzar estudis de marcadors.
- Donar la conformitat per a participar a l'estudi (en cas d'estar viu).

3.1.1.2 Criteris d'exclusió

- No completar el tractament inicialment previst.
- No disposar d'informació per avaluar la resposta al tractament.
- Haver rebut altres tractaments oncològics prèviament a la irradiació.
- No disposar de material histològic suficient per realitzar estudis de marcadors.

3.1.2 Font de dades de l'estudi

3.1.2.1 Registre de malalts tractats al Servei de Radioteràpia

El Servei de Radioteràpia de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron (HUVH) disposa d'un registre amb el conjunt mínim de dades clíniques dels malalts tractats. Es tracta d'un aplicatiu informàtic en format Access® dissenyat específicament pel personal del Servei. Les variables recollides en aquesta base de dades fan esment a la filiació dels malalts, a la localització anatòmica del tumor i a les característiques del tractament de radioteràpia administrat. Des del 2008, en relació a una ampliació del Servei de Radioteràpia, aquesta informació queda registrada electrònicament en un aplicatiu de la xarxa informàtica pròpia del Servei de Radioteràpia (ARIA®). La recollida de dades es va iniciar el 1997 i conté informació de més de 2000 malalts diagnosticats d'un tumor de cap i coll i tractats amb radioteràpia. Aproximadament 650 d'aquests malalts tenien un càncer de cap i coll localment avançat. En els casos dels altres centres hospitalaris participants, la informació s'ha extret de les seves corresponents bases de dades.

3.1.2.2 Obtenció de les dades

Les dades per aquest estudi s'han obtingut de l'aplicació informàtica referida prèviament i quan ha calgut s'ha completat amb les històries clíniques dels malalts (aproximadament des del 2009 el HUVH disposa d'un aplicatiu informàtic per tenir la història clínica informatitzada, SAP®). La informació relativa al seguiment dels malalts s'ha extret de les històries clíniques.

3.1.2.3 Obtenció de mostres de tumors

Les mostres de teixit tumoral utilitzades en aquest estudi provenen de la selecció inicial de casos obtinguda a partir de la base de dades clíniques. El Departament d'Anatomia Patològica del HUVH de Barcelona revisa el material histològic arxivat al seu banc de tumors¹ i determina si el material corresponent a la biòpsia diagnòstica del tumor primari és adequat per l'estudi. En el cas de les mostres provinents d'altres hospitals, cada centre segueix el mateix procediment i el Departament d'Anatomia Patològica del HUVH de Barcelona fa una revisió final de les mostres. Aquesta validació prèvia suposa confirmar la presència de teixit tumoral a la mostra arxivada i una estimació de la qualitat i quantitat disponibles de teixit. Els casos amb suficient material histològic disponible conformen la mostra final a estudi.

¹ Biobanc del HUVH (amb el suport de la Xarxa de Bancs de Tumors de Catalunya (XBTC) i de la xarxa RETICS de Biobancos (ISCI))

3.1.2.4 Confidencialitat de les dades

Pel registre de les variables pertinents a aquest estudi es va dissenyar un aplicatiu específic en format Access® on es recollia la informació sobre cada un dels episodis de la malaltia oncològica de cada malalt. Aquests registres informàtics restaven sota custòdia del Servei de Radioteràpia. Per tal de preservar la confidencialitat dels registres només es conservava el número d'història clínica de l'hospital, eliminant altres informacions identificatives dels malalts. L'arxiu amb totes les dades ha restat ubicat al servidor de l'hospital amb accés restringit als metges participants a l'estudi i únicament s'ha utilitzat per a practicar l'anàlisi estadística objecte d'aquest estudi.

3.1.2.5 Autorització dels malalts

En tractar-se d'un estudi observacional retrospectiu en condicions de pràctica clínica habitual i garantint les condicions d'anonimitat i confidencialitat de les dades no es va considerar necessari sol·licitar l'autorització específica dels malalts objecte de l'estudi. Això no obstant, es disposa d'un consentiment informat signat per tots els malalts encara vius en el moment de l'estudi en el que accepten expressament la utilització de la seva biòpsia diagnòstica pels estudis de marcadors.

3.1.2.6 Consideracions ètiques

Tots els procediments de l'estudi van ser aprovats pel Comitè Ètic de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron. Aquest estudi s'ha realitzat seguint les normes de bona pràctica clínica amb plena acceptació de les normes ètiques vigents (Declaració de Helsinki, revisió d'Edimburg de 2000) i respectant tots els aspectes establerts a la legislació vigent en matèria de recerca clínica.

3.2 Definicions i variables

Del total de dades recollides s'han seleccionat unes variables determinades que aporten informació epidemiològica, oncològica, del tractament, evolutiva, i la pròpia dels marcadors analitzats. Les variables incloses es descriuen tot seguit, agrupades en blocs.

3.2.1 Variables socio-demogràfiques

Aquest grup fa referència a la informació sobre filiació personal dels pacients, els antecedents clínics i la seva comorbilitat. Les variables s'especifiquen a la **Taula 10**.

Taula 10. Variables socio-demogràfiques

Nº de biòpsia	Enolisme
Edat	Antecedents patològics
Sexe	ACE-27
Tabaquisme	

3.2.1.1 Variable "Edat"

- *Definició:* edat del malalt en el moment del diagnòstic del tumor de cap i coll.
- *Mesura de la variable:* anys.

3.2.1.2 Variable "Sexe"

- *Definició:* gènere de cada malalt.
- *Mesura de la variable:* home/dona.

3.2.1.3 Variable "Tabaquisme"

- *Definició:* avalua l'hàbit tabàquic de cada malalt.
- *Mesura de la variable:* els possibles resultats d'aquesta variable són fumador actiu, no fumador, o ex-fumador. S'ha considerat fumador actiu aquell malalt que consumeix ≥ 10 paquets/any. S'ha considerat ex-fumador aquell malalt que porta ≥ 12 mesos sense fumar.

3.2.1.4 Variable "Enolisme"

- *Definició:* avalua l'hàbit enòlic de cada malalt.
- *Mesura de la variable:* els possibles resultats d'aquesta variable són consumidor de risc elevat, no consumidor de risc elevat, ex-consumidor. S'ha considerat consumidor de risc elevat aquell malalt que ingereix >60 g/d d'alcohol. S'ha considerat ex-consumidor aquell malalt que porta ≥ 12 mesos sense ingerir alcohol.

3.2.1.5 Variable "Antecedents patològics"

- *Definició:* registra malalties rellevants que figuren a l'història del malalt.
- *Mesura de la variable:* es recull l'episodi més greu que el malalt ha patit en relació a cadascuna de les patologies de base que presenta.

3.2.1.6 Variable "Índex de comorbiditat ACE-27"

- *Definició:* És un instrument validat pel reconeixement de comorbiditats en malalts amb càncer que fa una gradació de la severitat de les malalties acompanyants al moment del diagnòstic del càncer (119).
- *Mesura de la variable:* avalua individualment la presència d'un event lleu (Grau 1), moderat (Grau 2) o greu (Grau 3) en cadascun dels sistemes orgànics. La puntuació global de comorbiditat es defineix per la major gradació aïllada en un dels sistemes

orgànics avaluats. En el cas d'existir un Grau 2 en ≥ 2 sistemes orgànics, la puntuació final serà Grau 3. Els sistemes orgànics avaluats a l'índex de comorbiditat ACE-27 queden reflectits a la **Taula 11**. El formulari complet es pot consultar en el següent enllaç: <http://otooutcomes.wustl.edu/Portals/35/Ace-27%20CTR%202013.pdf>

Taula 11. Mesura de la variable ACE-27

Sistema cardiovascular	Psiquiàtric
Sistema respiratori	Reumatològic
Sistema gastrointestinal	Sistema immunològic
Sistema renal	Càncer
Sistema endocrí	Abús de substàncies
Sistema neurològic	Massa corporal

3.2.2 Variables oncològiques

Aquest grup fa referència al diagnòstic, localització, i estadiatges clínic i radiològic del tumor de cap i coll. S'especifiquen les variables a la **Taula 12**.

Taula 12. Variables oncològiques

Data de diagnòstic	Sublocalització anatòmica
Àrea anatòmica	Estadiatge inicial

3.2.2.1 Variable "Data de diagnòstic"

- *Definició:* data de confirmació histològica del càncer de cap i coll.
- *Mesura de la variable:* dia, mes i any.

3.2.2.2 Variable "Àrea anatòmica"

- *Definició:* identifica l'àrea anatòmica del tumor primari.
- *Mesura de la variable:* els possibles resultats per aquesta variable es reflecteixen a la **Taula 13**.

Taula 13. Variable "Àrea anatòmica"

Cavitat oral	Hipofaringe
Orofaringe	Laringe

3.2.2.3 Variable "Sublocalització anatòmica"

- *Definició:* identifica la sublocalització anatòmica del tumor primari.

- *Mesura de la variable:* els possibles resultats per aquesta variable es reflecteixen a la **Taula 14**.

Taula 14. Variable "Sublocalització anatòmica"

Terra de boca	Paladar tou
Llengua mòbil	Paret lateral de faringe
Paladar dur	Hipofaringe
Geniva-trígon retromolar	Si piriforme
Mucosa iugal	Supraglotis
Base de llengua	Glòtis
Amígdala	Subglòtis

3.2.2.4 Variable "Estadiatge inicial"

- *Definició:* avalua l'extensió loco-regional del tumor de cap i coll en base a l'exploració clínica i radiològica (TC/RM) apropiades. En tots els casos es disposa d'una radiografia de tòrax per descartar malaltia a distància.
- *Mesura de la variable:* l'avaluació es fa seguint el sistema TNM / AJCC 7^a edició.

3.2.3 Variables de tractament i valoració de resposta

Aquest grup fa referència als tractaments de radioteràpia i sistèmic, a la possibilitat d'associar tractament quirúrgic, i a la valoració de resposta al tractament.

3.2.3.1 Variable "Radioteràpia"

- *Definició:* recull les variables relacionades amb l'administració del tractament de radioteràpia.
- *Mesura de la variable:* els paràmetres recollits es reflecteixen a la **Taula 15**.

Taula 15. Mesura de la variable "Radioteràpia"

Data d'inici RT	Dosi RT
Data de fi RT	Nº fraccions RT
Tècnica RT	Interrupcions RT
Volums RT	Durada interrupcions RT
Esquema RT	

- Paràmetre "Data d'inici RT": expressat en forma de dia, mes i any.
- Paràmetre "Data de fi RT": expressat en forma de dia, mes i any.

- Paràmetre "Tècnica RT": la tècnica utilitzada pot ser 3D-CRT o IMRT.
- Paràmetre "Volums RT": en tots els casos es defineixen un volum d'alta dosi (≥ 60 Gy) per tractar la malaltia macroscòpica i un volum electiu (50-54 Gy) per tractar la malaltia microscòpica. En alguns casos es defineix un volum electiu addicional (< 60 Gy) per tractar zones considerades de major risc.
- Paràmetre "Esquema RT": els esquemes utilitzats poden ser normofraccionament, boost concomitant o boost integrat.
- Paràmetre "Dosi RT": expressat en Gy.
- Paràmetre "Nº fraccions RT": expressat numèricament.
- Paràmetre "Interrupcions RT": sí/no. La positivitats d'aquest paràmetre identifica problemes tècnics o mèdics durant la irradiació.
- Paràmetre "Durada interrupcions RT": expressat en dies.

3.2.3.2 Variable "Tractament sistèmic"

- *Definició*: recull les variables relacionades amb l'administració del tractament sistèmic.
- *Mesura de la variable*: els paràmetres recollits es reflecteixen a la **Taula 16**.

Taula 16. Mesura de la variable "Tractament sistèmic"

Data d'inici de tract. sistèmic	Nº de dosis de tract. sistèmic
Data de fi de tract. sistèmic	Retard administració de tract. sistèmic
Esquema de tract. sistèmic	

- Paràmetre "Data d'inici de tract. sistèmic": expressat en forma de dia, mes i any. Aquest paràmetre defineix l'inici del tractament concomitant de manera òptima. La planificació estableix que els tractaments de radioteràpia i sistèmic comencin el mateix dia. S'han acceptat fins a 5 dies de diferència en l'inici d'ambdós tractaments.
- Paràmetre "Data de fi de tract. sistèmic": expressat en forma de dia, mes i any.
- Paràmetre "Esquema de tract. sistèmic": els esquemes utilitzats poden ser cisplatí 100 mg/m² trisetmanal, cetuximab 400 mg/m² dosi de càrrega seguit de 250 mg/m² setmanal, o panitumumab 9 mg/kg trisetmanal.
- Paràmetre "Nº de dosis de tract. sistèmic": expressat numèricament. Planificat administrar 3 dosis de cisplatí, 8 dosis de cetuximab, o 3 dosis de panitumumab.
- Paràmetre "Retard administració de tract. sistèmic": expressat en dies. La positivitats d'aquest paràmetre identifica problemes tècnics o mèdics durant l'administració del tractament sistèmic.

3.2.3.3 Variable "Cirurgia"

- *Definició:* en alguns casos, en funció del judici clínic fet en acabar els tractaments de radioteràpia i sistèmic, es plantejava fer un procediment quirúrgic a manera de validació de la resposta clínica.
- *Mesura de la variable:* els paràmetres recollits es reflecteixen a la **Taula 17**.

Taula 17. Mesura de la variable "Cirurgia"

Data de cirurgia	Tipus de cirurgia del coll
Tipus de cirurgia del primari	

- Paràmetre "Data de cirurgia": expressat en forma de dia, mes i any.
- Paràmetre "Tipus de cirurgia del primari": La cirurgia del primari pot ser una biòpsia, una resecció localitzada, una cirurgia radical, o no realitzar-se.
- Paràmetre "Tipus de cirurgia del coll": La cirurgia del coll pot ser homolateral o contralateral al tumor primari. En ambdós situacions el buidament pot ser supraomohioïdal, funcional o radical, o no realitzar-se.

3.2.3.4 Variable "Anatomia Patològica"

- *Definició:* revisió patològica en els casos que s'ha realitzat cirurgia.
- *Mesura de la variable:* els paràmetres recollits es reflecteixen a la **Taula 18**.

Taula 18. Mesura de la variable "Anatomia Patològica"

Data d'anatomia patològica	Marges de resecció del tumor
Tipus histològic	Nº de ganglis ressecats
Extensió de la invasió tumoral	Nº de ganglis afectes
Invasió limfovascular	Afectació extracapsular
Invasió perineural	

- Paràmetre "Data d'anatomia patològica": expressat en forma de dia, mes i any.
- Paràmetre "Tipus histològic": identifica la histologia del tumor. En aquest treball, tots són carcinomes escatosos.
- Paràmetre "Extensió de la invasió tumoral": identifica l'extensió en profunditat i per contigüitat de la lesió tumoral.
- Paràmetre "Invasió limfovascular": sí/no.
- Paràmetre "Invasió perineural": sí/no.

- Paràmetre "Marges de resecció del tumor": els possibles resultats són marges negatius (tumor a ≥ 5 mm del marge de resecció), pròxims (entre 0-5 mm del marge de resecció), o positius (marge de resecció afectat).
- Paràmetre "Nº de ganglis ressecats": expressat numèricament.
- Paràmetre "Nº de ganglis afectes": expressat numèricament.
- Paràmetre "Afectació extracapsular": sí/no.

3.2.3.5 Variable "Valoració de resposta"

- *Definició:* informa de l'eficàcia del tractament rebut.
- *Mesura de la variable:* L'avaluació s'ha fet seguint els criteris RECIST 1.1 (120). Els criteris RECIST 1.1 proporcionen una informació bidimensional de les lesions considerades de referència en cada cas i constitueixen una eina àmpliament utilitzada per fer una estimació dels canvis al tumor post-tractament.

3.2.4 Variables d'evolució

Aquest grup fa referència al seguiment clínic i radiològic que es fa als malalts. S'especifiquen les variables recollides a la **Taula 19**.

Taula 19. Variables d'evolució

Data d'últim control	Viu amb malaltia al coll
Exitus	Viu amb malaltia metastàsica
Exitus per càncer de cap i coll	Viu sense malaltia
Viu amb malaltia	Viu amb malaltia per segon tumor
Viu amb malaltia del primari	Exitus per segon tumor

3.2.4.1 Variable "Data d'últim control"

- *Definició:* expressa la data en què s'ha efectuat l'últim registre de dades del malalt. El registre dels successius episodis oncològics de cada malalt és iteratiu de manera que queden registrades les dates de cada event oncològic així com la data de l'últim control.
- *Mesura de la variable:* dia, mes i any.

3.2.4.2 Variable "Exitus"

- *Definició:* identifica la mort del malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.3 Variable "Exitus per càncer de cap i coll"

- *Definició:* identifica la mort per càncer de cap i coll del malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.4 Variable "Viu amb malaltia"

- *Definició:* identifica la persistència de malaltia del càncer de cap i coll al malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.5 Variable "Viu amb malaltia del primari"

- *Definició:* identifica la persistència de malaltia primària del càncer de cap i coll al malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.6 Variable "Viu amb malaltia al coll"

- *Definició:* identifica la persistència de malaltia al coll del càncer de cap i coll al malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.7 Variable "Viu amb malaltia metastàsica"

- *Definició:* identifica la presència de malaltia metastàsica del càncer de cap i coll al malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.8 Variable "Viu sense malaltia"

- *Definició:* identifica l'absència de malaltia del càncer de cap i coll al malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.9 Variable "Viu amb malaltia per segon tumor"

- *Definició:* identifica la presència de malaltia per segon tumor al malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.4.10 Variable "Exitus per segon tumor"

- *Definició:* identifica la mort per segon tumor del malalt en seguiment.
- *Mesura de la variable:* sí/no.

3.2.5 Variables de marcadors

Aquest grup fa referència a l'avaluació dels marcadors estudiats. En aquest estudi s'han avaluat l'expressió de VPH-16 i marcadors associats a la senyalització dependent de HER3 i PI3K/mTOR a la biòpsia diagnòstica del tumor primari de cap i coll. S'especifiquen les variables recollides a la **Taula 20**.

Taula 20. Variables de marcadors

VPH	p4E-BP1
HER3	pS6
PTEN	p53
pmTOR	mutació PIK3CA

3.2.5.1 Variable "VPH"

- *Definició:* identificació de la seqüència de DNA de VPH-16 segons tècnica de PCR.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.2 Variable "HER3"

- *Definició:* intensitat (+++) de HER3 membranós.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.3 Variable "PTEN"

- *Definició:* presència/absència d'immunotinció. Considerada absent si <10% de les cèl.lules es tenyeixen.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.4 Variable "pmTOR"

- *Definició:* valors de Histoscore superiors o inferiors a la mediana per pmTOR.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.5 Variable p4E-BP1"

- *Definició:* valors de Histoscore superiors o inferiors a la mediana per p4E-BP1.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.6 Variable "pS6"

- *Definició:* valors de Histoscore superiors o inferiors a la mediana per pS6.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.7 Variable "p53"

- *Definició:* presència/absència d'immunotinció nuclear intensa. Considerada absent si <10% de les cèl.lules es tenyeixen.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.2.5.8 Variable "mutació PIK3CA"

- *Definició:* identificació de mutacions E542K (exó 9), E545K (exó 9), H1047E (exó 20) segons tècnica de PCR.
- *Mesura de la variable:* positiu/negatiu.

3.3 Avaluació de variables d'efectivitat i de biomarcadors al tractament del càncer de cap i coll

Un cop revisat amb detall el coneixement actual del tractament de cap i coll, cal identificar les característiques clíniques i epidemiològiques i relacionar-les amb els resultats que se n'obtenen a llarg termini. Posteriorment, cal identificar les variables que puguin proporcionar informació sobre aquests punts bàsics i comparar els resultats amb experiències similars per extreure'n oportunitats de millora. L'objectiu de la primera part d'aquest treball consisteix a fer una revisió sistemàtica i en profunditat de les característiques dels casos tractats de càncer de cap i coll (*Objectiu específic 1*). S'ha descrit en detall la presentació clínica habitual dels casos que són atesos amb càncer de cap i coll, les diferents estratègies terapèutiques i les principals experiències conegudes. L'anàlisi de les dades obtingudes té com a objectiu identificar aquelles variables associades als resultats clínics obtinguts (*Objectiu específic 2*). Atenent a l'experiència pròpia i a la revisió de la literatura, es planteja l'avaluació de la senyalització associada a HER3 i PI3K/mTOR com a activitat relacionada a l'efectivitat del tractament del càncer de cap i coll (*Objectiu específic 3*).

L'anàlisi principal amb la modelització de les variables més importants es farà seguint l'esquema marcat a la **Figura 7** i s'organitzarà l'exposició en funció d'aquests apartats, tenint en compte que es centrarà en les qüestions relatives a les característiques dels malalts atesos, a l'efectivitat del tractament rebut, i a la senyalització dependent de HER3 i PI3K/mTOR.

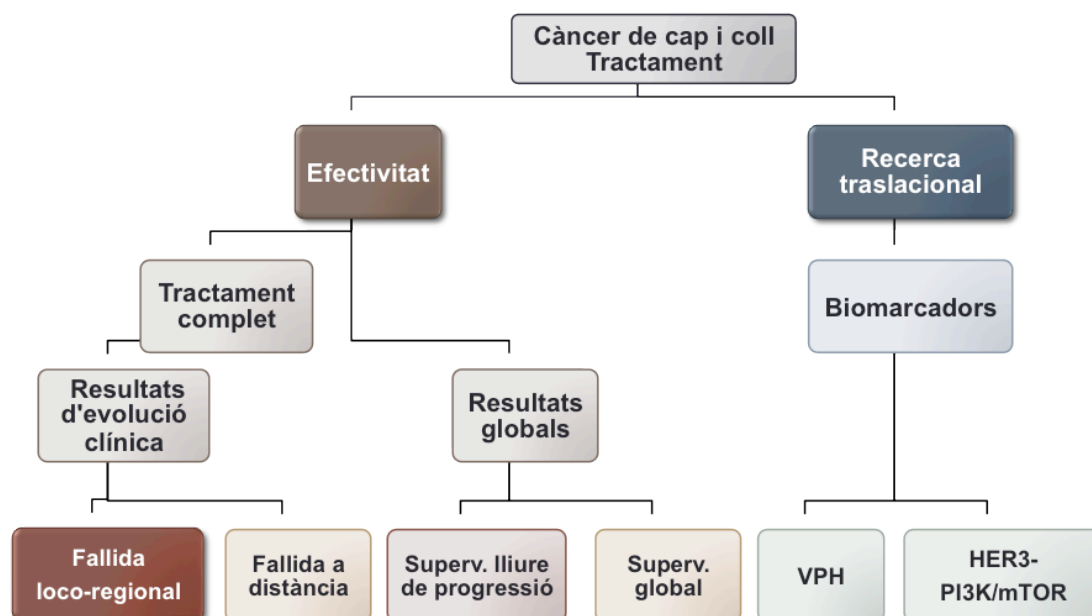


Figura 7. Qüestions fonamentals a l'avaluació del tractament del càncer de cap i coll localment avançat.

3.3.1 Estudi descriptiu

L'estudi descriptiu de les variables es farà seguint l'ordre marcat a l'*apartat 3.2*.

3.3.2 Estudi d'efectivitat

Es defineix com a efectivitat els resultats obtinguts del tractament rebut pel càncer de cap i coll. Els resultats s'han separat en dos parts, una directament relacionada al tractament rebut, anomenada "*Resultats d'evolució clínica*", on el principal aspecte avaluat és la fallida loco-regional (FLR) i secundàriament, la fallida a distància (FD). A la segona part, anomenada "*Resultats globals*", a l'efecte directe del tractament es poden superposar altres aspectes que condicionin el resultat final, on el principal aspecte avaluat és la supervivència lliure de progressió (SLP) i secundàriament, la supervivència global (SG).

3.3.2.1 Resultats d'evolució clínica

○ Fallida loco-regional (FLR)

Es defineix com el temps transcorregut entre el primer dia de radioteràpia i la recaiguda o bé la documentació de malaltia persistent a la regió del cap i coll. La fallida a distància i la mort per qualsevol altra causa diferent al càncer de cap i coll s'han tractat com a riscos competitiu per la fallida loco-regional. Si els pacients han rebut un buidament del coll en els primers 6

mesos d'haver completat el tractament loco-regional primari i presentaven malaltia al coll, aquesta no es considerava un event sinó que formava part del maneig pre-establert.

○ *Fallida a distància (FD)*

Es defineix com el temps transcorregut entre el primer dia de radioteràpia i qualsevol evidència (entesa com a confirmació histològica) de malaltia a distància (fora de la regió del cap i coll). Convé diferenciar dos possibles situacions en la fallida a distància. Per una banda, qualsevol presència de malaltia a la regió del cap i coll s'ha tractat com a risc competitiu per la fallida a distància, i s'ha anomenat "Fallida a distància exclusiva". Per altra banda, no s'ha contemplat la influència de la presència de malaltia a la regió del cap i coll, i s'ha anomenat "Fallida a distància global". La mort per malaltia loco-regional del càncer de cap i coll o per qualsevol altra causa diferent al càncer de cap i coll s'han considerat riscos competitius per la fallida a distància.

3.3.2.2 *Resultats globals*

○ *Supervivència lliure de progressió*

Es defineix com el temps transcorregut entre el primer dia de radioteràpia i qualsevol evidència (entesa com a confirmació histològica) de malaltia després del tractament loco-regional, o bé la mort. Si els pacients han rebut un buidament del coll en els primers 6 mesos d'haver completat el tractament loco-regional primari i presentaven malaltia al coll, aquesta no es considerava un event sinó que formava part del maneig pre-establert.

○ *Supervivència global*

Es defineix com el temps transcorregut entre el primer dia de radioteràpia i la mort. També s'ha calculat la supervivència excloent la mort per altra causa diferent al càncer de cap i coll tractat, anomenada "Supervivència específica".

A excepció del cas de la supervivència global, els segons tumors no s'han tractat com a events.

3.3.3 Estudi de recerca traslacional

Aquest bloc fa referència als estudis traslacionals efectuats. La decisió dels biomarcadors escollits es basa en la rellevància clínica que té la presència del virus del papil.loma humà i en la intensiva recerca que es fa de la família de receptors erbB i de les seves vies de senyalització.

3.3.3.1 *Virus del papil.loma humà (VPH)*

Atesa la seva importància pronòstica referenciada de manera creixent en la literatura recent i la desigual repartició geogràfica de la seva presència, és rellevant conèixer el grau de representació que té el virus del papil.loma humà en els tumors que habitualment tractem. En aquest treball s'ha avaluat la presència del serotip 16 (VPH-16), que és el que es detecta amb major freqüència associat als casos de càncer de cap i coll. Les determinacions s'han realitzat al Departament d'Anatomia Patològica del HUVH mitjançant tècnica de PCR. De manera resumida, s'ha estudiat la presència de DNA de VPH-16 mitjançant l'amplificació d'un fragment comú dels virus del papil.loma humà i posterior seqüenciació directa dels casos que han resultat amplificats. Per fer-ho, s'extreu el DNA de les diferents mostres parafinades seguint les instruccions del kit d'extracció de DNA EZ1® Tissue Kit (Qiagen, Valencia, CA) ajudat per un extractor semiautomàtic de DNA EZ1®. Posteriorment es quantifica el DNA mitjançant espectrofotometria i Nanodrop (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE) . Seguidament, s'amplifiquen per PCR utilitzant els primers GP5-GP6.

3.3.3.2 *Senyalització associada a HER3 i PI3K/mTOR*

El sistema erbB ha estat una via de senyalització fonamental per la biologia del desenvolupament al llarg de l'evolució. Els potents senyals proliferatius que genera són aprofitats per les cèl.lules tumorals per consolidar les mutacions oncogèniques mitjançant expansió clonal. El rol central del sistema erbB al desenvolupament de tumors sòlids i el detallat coneixement de la seva bioquímica han fet que sigui una àrea atractiva per la intervenció farmacològica. Els dos components millor caracteritzats i estudiats són HER2, sobretot en càncer de mama, i EGFR, especialment en càncer de cap i coll i de colon (121). HER3 és un receptor sense activitat quinassa, per la qual cosa necessita dimeritzar amb altres receptors per poder exercir les seves funcions a nivell intracel.lular. Aquesta característica s'ha estudiat intensivament al càncer de mama, on HER3 sembla dimeritzar amb major freqüència amb HER2 i també amb EGFR (122). Atesa l'alta expressió de EGFR als tumors de cap i coll i la limitada resposta que s'ha obtingut clínicament amb el bloqueig d'aquest receptor, bàsicament amb anticossos monoclonals, s'ha proposat que HER-3 podria dimeritzar amb EGFR i actuar com a mecanisme d'escapament al bloqueig aïllat de EGFR (2). En aquest treball s'ha avaluat la senyalització associada a HER-3 i PI3K/mTOR a la mostra diagnòstica del tumor primari. Les determinacions s'han realitzat al Departament d'Anatomia Patològica del HUVH mitjançant tècniques d'immunohistoquímica i mol.leculars. Els marcadors avaluats s'han descrit prèviament a *l'apartat 3.2.5*.

Breument, prèvia revisió dels diagnòstics histopatològics de les mostres de teixit amb suficient material disponible i dipositades al Banc de Tumors del Departament d'Anatomia

Patològica del HUVH, s'han dissenyat arrays de teixits de tots el casos avaluats. Per confeccionar els arrays de teixits a partir de les mostres originals s'han d'identificar les àrees representatives del tumor i seleccionar tres cilindres d'entre 0.6 i 1.5 mm per finalment anar traslladant cada un d'aquests cilindres a un bloc de parafina receptor. L'anàlisi de més d'una àrea per cas permet minimitzar el risc de pèrdua de casos i assegurar una adequada representativitat de la lesió. El procediment final de traslladar totes les mostres que s'aniran avaluant a un bloc de parafina receptor permet realitzar estudis immunohistoquímics sobre les àrees seleccionades preservant al màxim la integritat del bloc de parafina original (d'interès per la interpretació dels resultats) i assegura unes condicions tècniques d'homogeneïtat en fer les tincions corresponents a diferents casos sobre la mateixa preparació i en una única vegada.

La immunohistoquímica és una tècnica basada en la reacció específica antigen-anticòs, on determinats epítops antigènics proteïcs s'enfronten a anticossos específics seleccionats. Es realitza directament sobre seccions de teixit parafinat utilitzant polímers amb activitat peroxidasa pels anticossos utilitzats (EnVision, DakoCytomation). Totes les tècniques s'han realitzat de manera automatitzada amb sistema Dako Autostainer. Les condicions específiques per cada reacció s'han d'optimitzar en el cas de cada anticòs. S'han utilitzat anticossos contra fosfoproteïnes per analitzar l'expressió de proteïnes associades a la senyalització intracel·lular.

La relació d'anticossos específics utilitzats són: Kit Autostainer mouse/rabbit (Dako Cyt.), Antibody Diluent (DAKO), HER3 (Santa Cruz Biotech.), p4E-BP1 (Cell Signal. Tech.), pEIF4E (Cell Signal. Tech.), pMTOR (Cell Signal. Tech.), pS6 (Cell Signal. Tech.), PTEN (Cascade Bioscience), p53 (Ventana).

L'avaluació de les tincions immunohistoquímiques s'ha realitzat per 2 patòlegs seguint els protocols establerts al Col·legi Americà de Patòlegs. S'ha establert una puntuació basada en la intensitat i percentage d'expressió per cada una de les proteïnes estudiades per tal de poder realitzar posteriorment les comparacions adients basades en el Histoscore resultant (123).

S'han identificat mutacions somàtiques amb capacitat oncogènica al gen de la subunitat catalítica p110 α de PI3K (PIK3CA) en diferents càncers. Les mutacions identificades de PIK3CA es localitzen en un 90% als exons 9 i 20 del cromosoma 3. En aquest treball, la presència de mutacions del gen PIK3CA s'ha estudiat mitjançant tècnica de PCR. Utilitzant el DNA prèviament extret de les mostres segons explicació prèvia, s'han amplificat els exons 9 i 20 del cromosoma 3 i posteriorment s'han seqüenciat seguint el protocol del kit BigDye® 3.1 (Applied Biosystems, Carlsbad, CA). La presència de mutacions s'ha analitzat amb el

software ChromasPro (Technolysium Ltd.) o Sequence Scanner Software (Applied Biosystems, Carlsbad, CA).

3.4 Anàlisi estadística

Pel tractament estadístic de les dades s'ha comptat amb l'assessorament de la Unitat de Suport a la Recerca Clínica de l'Institut de Recerca Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona. Primer s'ha realitzat una validació i correcció de les dades obtingudes. posteriorment s'han realitzat el disseny i execució de les anàlisis

3.4.1 Mètodes estadístics. Lectura i validació de la base de dades

La lectura, manipulació, validació de la base de dades i anàlisi estadística s'han realitzat amb el software STATA v14.0 (StataCorp LP, College Station TX).

Validació de la consistència

Aquesta validació té com a objectiu assegurar que la base de dades original no conté errors. El procediment ha estat:

- Per cada variable qualitativa s'ha obtingut una taula de freqüències univariant i s'ha comprovat que no aparegui cap categoria no inclosa o bé si existeixen valors absents.
- Per cada variable quantitativa s'ha obtingut una taula amb els estadístics de resum: valors màxim i mínim, i mediana i s'ha comprovat si aquests valors estan en el rang de valors acceptats, i si existeixen valors absents.
- S'han reagrupat les categories amb freqüències relatives inferiors al 5% a la categoria més pròxima.
- S'ha fet una llista amb els errors detectats per tal de revisar-los i corregir-los.
- Les variables en què el procés de correcció d'errors no ha estat possible o la seva recollida no abastava tots els registres han estat eliminades.
- Un cop finalitzat el procés de validació s'ha tancat la base de dades i s'ha procedit a l'anàlisi estadística.

3.4.2 Resum descriptiu

S'ha fet una descripció estadística de les característiques basals dels pacients, dels tractaments i dels biomarcadors avaluats. S'han resumit les dades de les variables a estudi de la següent manera: per les variables qualitatives s'ha obtingut una taula de freqüències amb les

frequències relatives i absolutes; i per les variables quantitatives, una taula amb els estadístics N, mitja, mediana, desviació estàndar, i valors màxim i mínim.

3.4.3 Anàlisi principal

S'ha utilitzat un model de riscos proporcionals per avaluar la significació pronòstica univariada de les variables pròpies del tumor i del tractament per fallida loco-regional (FLR), supervivència lliure de progressió (SLP), fallida a distància (FD) i supervivència global (SG). L'anàlisi dels resultats s'ha fet amb el mètode de Kaplan-Meier, la regressió de Cox i el mètode de riscos competitiu. Les corbes de supervivència s'han estimat segons el mètode de Kaplan-Meier i les diferències s'han examinat amb el test log-rank i la regressió univariada de Cox. El mètode de la incidència acumulada s'ha utilitzat per estimar les taxes de fallida loco-regional i de fallida a distància. Els valors p per les hazard ratio s'han calculat amb la prova de raó de versemblança.

S'han realitzat anàlisis exploratòries per FLR, SLP, FD i SG segons categoria de biomarcador i per cadascun dels biomarcadors avaluats. Degut a que les anàlisis eren exploratòries, no s'han fet ajustos per comparacions múltiples. Les correlacions estudiades amb l'anàlisi de regressió univariada de Cox valoren els efectes pronòstics independentment del tractament rebut (la relació de cada biomarcador amb el resultat clínic agrupat dels dos tipus de tractament). Els punts de tall per comparar nivells alts i baixos dels biomarcadors estan basats en el valor de la mediana per l'assaig de referència amb l'excepció de la mutació de PIK3CA (mutat vs no mutat), PTEN (present vs absent) i p53 (punt de tall del 10%). En aquest context exploratori s'ha escollit la mediana com el millor punt de tall disponible per tal de poder assignar grups d'alt i baix nivell d'expressió dels biomarcadors.

Totes les anàlisis estan basades només en dades observades, no hi ha imputacions per casos perduts.

3.4.4 Anàlisi multivariant

Els potencials predictors identificats a les anàlisis univariades s'han incorporat als models multivariants utilitzant un valor de $p < 0.10$ per l'entrada. Les covariables incorporades a l'anàlisi multivariant amb la finalitat d'ajust s'han seleccionat a partir d'un nombre de predictors tals que maximitzin l'ajust del model de Cox, segons estimació del criteri d'informació d'Akaike. Els valors p per sota del dintell convencional del 5% s'han considerat significatius.

CAPITOL

4

Resultats

4 Resultats

4.1 Estudi descriptiu

4.1.1 Característiques dels pacients

Les característiques de 650 pacients consecutius amb càncer de cap i coll localment avançat i del seu tractament estan recollits en una base de dades del HUVH des de 1997. S'han exclòs els casos tractats primàriament amb cirurgia (N=200), els que han rebut quimioteràpia d'inducció o tractament sistèmic concomitant multiagent: cisplatí i altres fàrmacs (N=70), els que tenien un altre càncer actiu (N=5), els que han rebut un tractament paliatiu (N=215) i els que no tenien material histològic adequat per l'estudi (N=67). Després d'aquesta selecció va resultar un nombre baix de casos tractats amb radioteràpia i cetuximab, motiu pel qual la mostra es va ampliar amb casos de 3 hospitals nacionals més i es van incloure casos tractats amb radioteràpia i panitumumab (anticòs monoclonal anti-EGFR amb molta semblança a cetuximab) per tal d'ampliar la representativitat dels casos tractats amb radioteràpia i agent anti-EGFR. La població d'estudi està formada per un total de 106 malalts tractats entre novembre de 1999 i octubre de 2011 i atesos als Serveis de Radioteràpia de 4 hospitals nacionals (Hospital Universitari Vall d'Hebron (HUVH) a Barcelona, Hospitals Puerta de Hierro i La Princesa a Madrid, i Hospital Regional Carlos Haya a Màlaga), que han rebut tractament definitiu de radioteràpia i cisplatí o anticòs monoclonal anti-EGFR per un tumor localment avançat de cap i coll de recent diagnòstic. Les característiques dels pacients i dels tumors tractats es resumeixen a la **Taula 21**.

Taula 21. *Característiques dels pacients segons tractament rebut.*

Característica		RT + anti-EGFR (n=36)	RT + cisplati (n=70)	p-valor
Sexe	Home	31	63	0.55
	Dona	5	7	
Edat	<71	22	63	<0.001
	≥71	14	7	
Tabaquisme	Sí	31	51	0.31
	No	5	19	
Alcoholisme	Sí	26	48	0.21
	No	10	22	
Índex comorbilitat ACE-27	Grau 0	8	26	0.22
	Grau 1	14	18	
	Grau 2	14	26	
Tumor primari	Cavitat oral	9	25	0.53
	Orofaringe	16	26	
	Hipofaringe/Laringe	11	19	
Estadi T	T2-3	19	35	0.79
	T4	17	35	
Estadi N	N0-1	9	24	0.33
	N2-3	27	46	

Tots els malalts tenien ECOG 0-1. La mediana d'edat era de 58 anys als dos grups però una major proporció de pacients >70 anys estava representada al grup de RT+anti-EGFR. Havia bon balanç en la distribució per localitzacions del tumor primari, estant els tumors d'orofaringe una mica més representats (39.6% de la mostra global). Havia més tumors d'orofaringe tractats amb RT i cisplati sense que les diferències siguin significatives. Una àmplia majoria de la mostra estudiada tenia com a antecedents tabaquisme i/o alcoholisme severes (77% i 70%, respectivament), i havia una alta proporció de tumors molt avançats (49% tumors T4 i 69% estadis N2-3). L'índex de comorbilitat ACE-27 no demostrava diferències significatives entre els 2 grups.

4.1.2 Característiques del tractament primari rebut

Les característiques del tractament primari rebut es resumeixen a la **Taula 22**. En total, 70 malalts van ser tractats amb radioteràpia i cisplati, i 36 amb radioteràpia i anti-EGFR, dels quals 28 amb cetuximab i 8 amb panitumumab. Dels pacients tractats amb anti-EGFR, 22 havien participat al braç de radioteràpia/cetuximab de l'estudi IMCL-CP02-9815 o bé al braç de radioteràpia/panitumumab de l'estudi CONCERT-2.

Taula 22. *Característiques del tractament primari rebut (N=106)*

Característica		N (%)
Tècnica RT	3D	89 (83.9%)
	IMRT	17 (16.1%)
Esquema RT	Normofraccionat [§]	66 (62.3%)
	Fracc. accelerat [#]	40 (37.7%)
Volums RT	PTV 50-54	106 (100%)
	PTV 54-60	37 (35%)
	PTV 60-70	106 (100%)
Dosi RT (Gy)	Mediana (rang)	70 (63-74)
Durada RT (d)	Mediana (sd)	49.5 (7.8)
Interrupcions RT	Sí	58 (55%)
	No	48 (45%)
Interrupcions RT ≥5 dies	Sí	11 (10.4%)
	No	95 (89.6%)
Completen dosi planificada RT (%)	Sí	104 (98.1%)
	No	2 (1.9%)
Compliment cisplatí (N=70)	3 dosis	35 (50%)
	≥2 dosis	70 (100%)
Compliment cetuximab (N=28)	8 dosis	17 (60.7%)
	≥6 dosis	28 (100%)
Compliment panitumumab (N=8)	3 dosis	6 (75%)
	≥2 dosis	7 (87.5%)

[§]70 Gy/35f/7setm, 5f/setm. [#]Fraccionament accelerat: boost concomitant, 72 Gy/42f/6setm (1.8 Gy/d +1.5 Gy/d com a sobreimpressió a les tardes durant les últimes 12 fraccions); o boost integrat, 70 Gy/33f/6.5setm.

4.1.2.1 Radioteràpia

Una àmplia majoria va ser tractada amb tècnica 3D, donat que el període d'estudi ocupa 12 anys i que la IMRT es va començar a utilitzar durant els 3 darrers anys del període d'inclusió de malalts. De manera concordant, l'esquema d'irradiació més comú va ser el normofraccionat, seguint els criteris estandaritzats per la irradiació amb quimioteràpia concomitant. Un petit nombre de casos va rebre quimioteràpia i va ser tractat amb IMRT amb un esquema de boost integrat, i un petit nombre de casos tractat amb cetuximab, els de major edat, va rebre un tractament normofraccionat. En tots els casos es va planificar un volum d'alta dosi (PTV 60-70) i un altre electiu de menor dosi (PTV 50-54). La mediana de dosi de radioteràpia va ser de 70 Gy. El compliment de la irradiació planificada va ser excel·lent, amb només 2 malalts del grup de cisplatí que no van rebre la dosi prevista degut a toxicitat del

tractament. Un malalt va rebre 63 Gy, posteriorment es va realitzar cirurgia de confirmació de resposta i presentava resposta completa patològica. L'altre cas va rebre 68 Gy i posteriorment va seguir controls periòdics. Els dos seguien vius a l'últim control efectuat. La mediana de temps per completar la irradiació ha estat de 49.5 dies, en consonància amb un esquema normofraccionat. Les interrupcions durant la irradiació poden ser per motiu tècnic (avaria), festivitat, o toxicitat. El 55% dels casos va patir alguna interrupció durant el tractament, sent la causa més freqüent tècnica o per festivitat i sent més freqüent al grup tractat amb cisplatí (49 casos, 70% vs 6 casos, 17%). La majoria d'aquestes interrupcions no va comportar un allargament del temps d'irradiació. En una minoria de casos el tractament es va haver d'interrompre ≥ 5 dies (11 casos, 10.4%), i d'aquests només en 5 va ser degut a toxicitat (3 tractats amb RT i cisplatí i 2 tractats amb RT i anti-EGFR). Les interrupcions més llargues per toxicitat van ser de 3 setmanes i van donar-se en 2 malalts tractats amb RT i cetuximab, els 2 dins del grup 2 de l'índex ACE-27, significant un estat de salut fràgil. En resum, la irradiació dels casos ha estat plantejada i realitzada seguint les recomanacions establertes i en els períodes de temps apropiats per cada esquema d'irradiació, amb un alt grau de compliment i un baix nombre d'interrupcions que no s'hagin pogut compensar durant el temps d'irradiació.

4.1.2.2 Tractament sistèmic

Una àmplia majoria de la mostra va ser tractada amb cisplatí 100 mg/m^2 per ser la recomanació estàndar. Només el 50% dels casos tractats van poder rebre les 3 dosis previstes de cisplatí, majorment per toxicitat que motivà ingrés per insuficiència renal, sèpsia, odinodisfàgia, i/o descompensació de malaltia de base. Tots els malalts van rebre un mínim de 2 dosis de cisplatí. Els registres retrospectius no han permès esbrinar la dosi acumulada de cisplatí rebuda però, de manera aproximada, es pot estimar que la dosi acumulada de cisplatí seria de $175\text{-}200 \text{ mg/m}^2$ (no es disposa de la informació relativa a les reduccions de dosi però sí es coneix que un alt nombre de casos va requerir reducció del 20-25% després de la primera administració de cisplatí). Cal remarcar que d'haver contemplat altres contraindicacions relatives per l'administració del cisplatí, com poden ser la ototoxicitat o neurotoxicitat, el grau de compliment hauria estat sensiblement menor. En aquesta sèrie s'ha prioritzat l'administració del cisplatí sempre que no haguessin efectes adversos severes.

Ha resultat molt més complicat del que s'havia previst inicialment trobar casos tractats amb radioteràpia i anti-EGFR. Els motius que poden respondre això són que la indicació aprovada actualment és per casos en què el cisplatí estigui contraindicat, situacions associades freqüentment a malalts amb malaltia/es de base severes o d'edat avançada. En aquesta sèrie aproximadament el 60% dels casos no corresponen a cap d'aquestes situacions, donada la seva participació en assajos clínics específics. Tot i així ha resultat molt difícil trobar casos tractats

correctament i amb material disponible pels estudis. En el nostre centre aproximadament la meitat dels casos tractats amb radioteràpia i cetuximab es trobaven en alguna d'aquestes situacions i no s'han pogut utilitzar. Per aquesta raó es va plantejar durant l'estudi consultar a altres centres nacionals sobre la seva disponibilitat de casos i l'interès a col.laborar en aquest treball. Sortosament, els 3 hospitals que vam consultar han pogut aportar aproximadament la meitat dels casos amb suficient material per estudi. Per altra banda, tot i que els resultats finals no han estat els esperats amb l'ús de radioteràpia i panitumumab en càncer de cap i coll (73), i les raons no han quedat prou clares, en el període d'estudi encara no es coneixien els resultats definitius i es va plantejar que, tot i haver diferències en els efectes biològics de cetuximab i panitumumab, hi havia prou semblances per incorporar-los a aquest treball. Cal remarcar que en els casos de panitumumab, tots s'han tractat dins d'un assaig clínic i que representen aproximadament només un 20% dels casos del grup anti-EGFR.

Amb aquest marc de referència, és destacable que el nombre de malalts que van poder rebre totes les dosis previstes de cetuximab o panitumumab és superior al del cisplatí. La mediana de dosis de cetuximab administrades és de 8 (rang, 6-9), i de 3 pel panitumumab (rang, 1-3). Tots els casos tractats amb cetuximab van rebre un mínim de 6 dosis mentre que només en 2 casos de panitumumab no es van poder administrar 2 dosis (**Taula 23**).

Taula 23. *Compliment del tractament sistèmic*

Cicles rebuts	Cisplatí (N=70)	Cetuximab (N=28)	Panitumumab (N=8)
Cicle 1	70 (100%)	28 (100%)	8 (100%)
Cicle 2	70 (100%)	28 (100%)	7 (87%)
Cicle 3	35 (50%)	28 (100%)	6 (75%)
Cicle 4	-----	28 (100%)	-----
Cicle 5	-----	28 (100%)	-----
Cicle 6	-----	28 (100%)	-----
Cicle 7	-----	26 (93%)	-----
Cicle ≥8	-----	18 (64%)	-----

4.1.2.3 *Tractament complet RQT*

Aquest indicador està directament relacionat amb els resultats obtinguts. Globalment, el tractament s'ha pogut administrar de la manera planificada en 58 pacients (54.7%). En tots els casos excepte en 2 s'ha pogut administrar el tractament de radioteràpia previst (98%). En la meitat de casos no s'han pogut administrar totes les dosis planificades de cisplatí. Pel que fa als anti-EGFR no s'han pogut administrar totes les dosis planificades en aproximadament la

tercera part del casos. En un registre tan ampli com aquest, que ocupa més de 10 anys, no s'ha pogut disposar de la informació relativa a les reduccions de dosi i als retards en l'administració del tractament sistèmic en cada cas tal i com s'ha fet esment prèviament.

S'ha pogut administrar el tractament sistèmic "mínim recomanat", significat 2 dosis de cisplatí (assumint que representa els 200 mg/m², com a millor estimador disponible), 6 dosis de cetuximab (com a estimador utilitzat en altres estudis), o 2 dosis de panitumumab (com a estimador raonable), en 103 malalts (97.2%).

4.1.3 Cirurgia i valoració de resposta

A criteri del metges responsables es podia afegir un tractament quirúrgic de confirmació de la resposta al tractament primari. A la dècada de 1990 era freqüent considerar fer una revisió quirúrgica després del tractament primari amb RQT. Habitualment es repetien les proves d'imatge al voltant d'un mes post-tractament i es feia una valoració preliminar dels canvis que havia hagut en la lesió tractada. Amb freqüència es considerava fer una revisió quirúrgica del primari que podia ser només una biòpsia o bé una cirurgia àmplia si les noves proves d'imatge suggerien que havia malaltia residual. Atès el curt interval de temps transcorregut entre la fi del tractament i la valoració no era estrany que seguís quedant malaltia residual. En qualsevol cas, la persistència de malaltia a la regió del primari s'ha considerat fallida. Pel que fa al coll, era també una pràctica habitual decidir abans d'iniciar cap tractament si es faria en acabar-lo un buidament, sobretot en casos $\geq N2$, o bé que per qualsevol sospita clínica/radiològica de malaltia residual al coll a la primera valoració es fes un buidament.

4.1.3.1 Cirurgia

En el període d'estudi han pogut plantejar-se les 2 opcions: pacients que han rebut cirurgia post-tractament o que han seguit controls. Es pot consultar el què s'ha considerat fallida del tractament a l'*apartat 3.3.2*. Les característiques del tractament quirúrgic segons tractament primari rebut es resumeixen a la **Taula 24**.

Taula 24. *Característiques de les cirurgies de rescat segons grup de tractament (N=106)*

Característica		RT + anti-EGFR (n=36)	RT + cisplatí (n=70)	p-valor
Cirurgia rescat T	Sí	10	18	0.85
	No	26	52	
Tumor residual, pT+	Sí	6	12	0.92
	No	4	6	
Cirurgia rescat N	No	24	57	0.30
	≤6 mesos post-RT	11	12	
	>6 mesos post-RT	1	1	
Tumor residual, pN+	No	6	8	0.45
	≤6 mesos post-RT	5	4	
	>6 mesos post-RT	0	1	

S'ha realitzat cirurgia del tumor primari en el 26.4% dels casos, detectant-se tumor residual en el 64.3% de les revisions. S'ha realitzat cirurgia del coll en el 24% dels casos, essent el 94% dels casos en els primers 6 mesos post-RT, i s'ha detectat malaltia residual en el 44%.

4.1.3.2 *Valoració de resposta*

Seguint els criteris RECIST 1.1 per valorar la resposta a la primera avaluació feta després de completar el tractament s'obtenen els resultats resumits a la **Taula 25**.

Taula 25. *Resposta per RECIST 1.1 a la primera avaluació post-tractament*

	Resposta completa N(%)	Resposta parcial N(%)	Malaltia estable N(%)	Progressió de malaltia N(%)
Tots (N=106)	50 (47.2%)	42 (39.6%)	7 (6.6%)	7 (6.6%)
RT+cisp (N=70)	34 (48.6%)	25 (35.7%)	5 (7.1%)	6 (8.6%)
RT+anti-EGFR (N=36)	16 (44.4%)	17 (47.2%)	2 (5.6%)	1 (2.8%)

L'ús exclusiu dels criteris RECIST no permet contemplar tots els aspectes que contribueixen al resultat nèt del tractament donat que es podia plantejar una cirurgia post-RT. Aproximadament la quarta part dels pacients van tenir una cirurgia del primari i/o del coll segons s'ha detallat al paràgraf previ, sense diferències significatives entre els tractats amb cisplatí o radioteràpia. Per aquesta raó la valoració final de resposta s'ha fet afegint la informació quirúrgica.

Incorporant la informació quirúrgica a la valoració de resposta segons referit prèviament (cirurgia del primari amb malaltia residual es considera fallida local; cirurgia del coll als primers 6 mesos post-RT independentment del resultat patològic es considera com a part del

tractament; cirurgia del coll feta >6 mesos post-RT amb afectació ganglionar es considera fallida regional) es pot avaluar la fallida loco-regional.

4.2 Resultats d'efectivitat

4.2.1 Resultats d'evolució clínica

La mediana de seguiment per tots els malalts va ser de 28 mesos (5-153 mesos) i de 62 mesos (18-153) pels encara vius. En el període de seguiment 60 pacients han patit una recaiguda loco-regional, 29 una recaiguda a distància i 68 han mort.

4.2.1.1 Fallida loco-regional

El CLR va ser del 54.7% a tota la mostra. La forma més freqüent de fallida va ser local, que va ser el doble de la fallida regional i es va donar en el 32.1% de la mostra, essent al 44% dels casos tractats amb anti-EGFR i al 25.7% dels tractats amb cisplati. La fallida regional va ocórrer al 16% de la mostra, en un 27.8% dels tractats amb anti-EGFR i en un 10% dels tractats amb cisplati.

La fallida local aïllada seguia sent la forma més freqüent, afectant al 25.5% de la mostra i representant el 79.4% de totes les fallides locals i el 56.25% de totes les fallides loco-regionals. La fallida regional aïllada va afectar al 9.4% de la mostra, al 58.8% de les fallides regionals i representant el 20.8% de totes les fallides loco-regionals.

El 70% de les fallides loco-regionals s'havia produït durant el primer any de seguiment i el 91.8% al final del segon any. Es van detectar de manera similar als casos tractats amb RT i anti-EGFR o cisplati, de manera que al final del primer any s'havien detectat al 71.4% de casos d'anti-EGFR i al 64.3% de casos de cisplati.

La FLR va ser significativament més freqüent al grup de RT i anti-EGFR. La taxa de FLR als 2 i 5 anys va ser de 34% i 42% versus 60% i 71% afavorint al grup de RT i cisplati ($p=0.015$) (**Figura 8**).

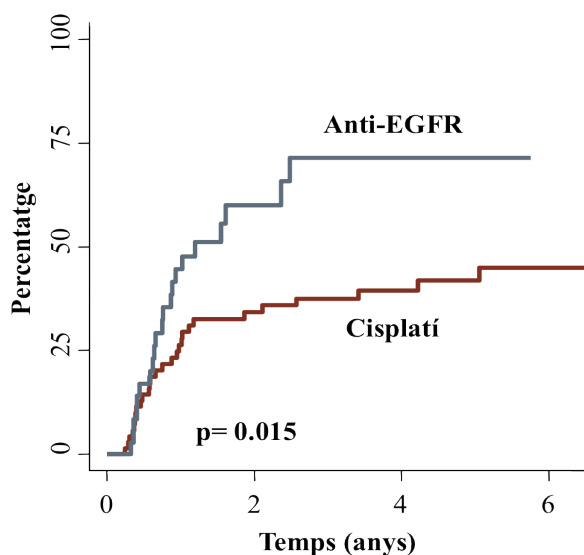


Figura 8. *Fallida loco-regional segons tractament rebut*

A l'anàlisi univariada, la característica més destacada per FLR va ser el fàrmac administrat amb la irradiació, afavorint el cisplati (**Taula 26**).

Taula 26. *Anàlisi univariada per FLR*

Característica		OR	IC 95%	p-valor
Sexe	Home	1	0.38-2.41	0.92
	Dona	0.95		
Edat	<71	1	0.38-1.75	0.61
	≥71	0.82		
Tabaquisme	Sí	1	0.47-1.79	0.79
	No	0.91		
Alcoholisme	No	1	0.52-4.36	0.75
	Sí	1.51		
ACE-27	Grau 0	1		0.75
	Grau 1	0.78	0.39-1.56	
	Grau 2	0.82	0.42-1.60	
Tumor primari	Cavitat oral	1		0.88
	Orofaringe	0.86	0.44-1.66	
	Hipofaringe/Laringe	0.85	0.40-1.79	
Estadi T	T2-3	1	0.48-1.47	0.53
	T4	0.84		
Estadi N	N0-1	1	0.60-2.02	0.76
	N2-3	1.1		
Tract. sistèmic	Anti-EGFR	1	0.28-0.88	0.02
	Cisplati	0.50		

4.2.1.2 Fallida a distància

El 27% (N=29) de la mostra va patir fallida a distància (FD). El lloc més freqüent va ser el pulmó (77%) seguit de l'os (38.5%). Aproximadament la meitat de casos es va presentar en el context d'altres recaigudes (FD total, N=14) i l'altra meitat de manera aïllada en el context de control loco-regional (FD exclusiva, N=15).

No hi va haver diferències en el temps fins a la FD total versus exclusiva. El 48% (N=14) i el 83% (N=24) versus el 53% (N=8) i el 80% (N=12) dels events totals versus exclusius havien passat durant el primer any post-RT i al final del segon any, respectivament.

La FD total va ser més freqüent al grup de RT i anti-EGFR. La taxa de fallida a distància als 2 i 5 anys va ser de de 42% i 49% versus 21% i 29%, afavorint al grup de RT i cisplatí i marginalment significatiu ($p=0.08$). La FD exclusiva als 2 i 5 anys va ser superior al grup d'anti-EGFR, 25% i 40%, vs cisplatí, 14% i 21%, respectivament, i sense significació estadística ($p=0.24$). Queda representat a les **Figures 9, 10**.

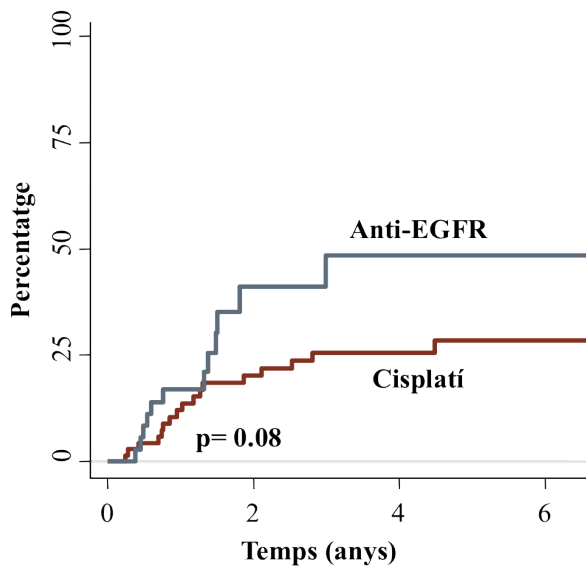


Figura 9. Fallida a distància total segons tractament rebut

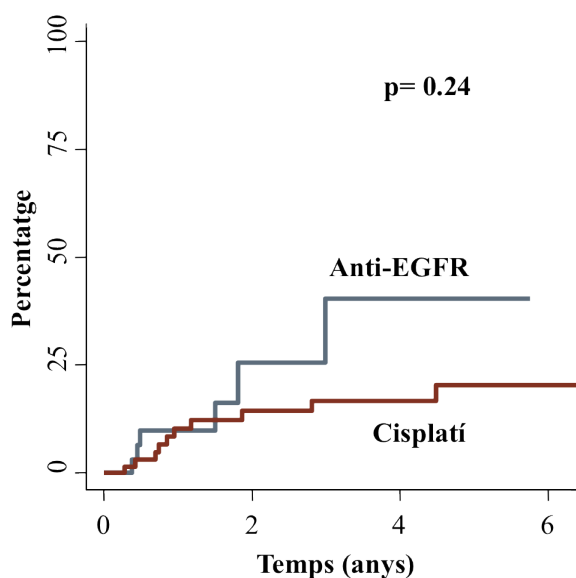


Figura 10. *Fallida a distància exclusiva segons tractament rebut*

A l'anàlisi univariada, les característiques més destacades per FD total van ser la FLR, el tumor primari i el fàrmac administrat amb la irradiació. Les característiques més destacades per FD exclusiva van ser el tumor primari i l'estadi T. Detallat a les **Taules 27, 28**.

Taula 27. *Anàlisi univariada per FD total*

Característica		OR	IC 95%	p-valor
Sexe	Home	1	0.17-3.07	0.65
	Dona	0.71		
Edat	<71	1	0.18-1.56	0.25
	≥71	0.53		
Tabaquisme	No	1	0.38-2.53	0.97
	Sí	0.98		
Alcoholisme	Sí	1	0.31-6.36	0.85
	No	1.41		
ACE-27	Grau 0	1		0.62
	Grau 1	1.19	0.42-2.90	
	Grau 2	1.36	0.75-3.02	
Tumor primari	Cavitat oral	1		0.04
	Orofaringe	0.60	0.22-1.62	
	Hipofaringe/Laringe	1.99	0.82-4.83	
Estadi T	T2-3	1	0.42-2.0	0.84
	T4	0.92		
Estadi N	N0-1	1	0.73-4.23	0.21
	N2-3	1.76		
Tract. sistèmic	Anti-EGFR	1	0.25-1.12	0.09
	Cisplati	0.52		
Fallida loco-reg	No	1	1.28-8.03	0.01
	Sí	3.21		

Taula 28. Anàlisi univariada per FD exclusiva

Característica		OR	95% CI	p-valor
Sexe	Home	1	0.05-2.99	0.36
	Dona	0.39		
Edat	<71	1	0.14-1.61	0.23
	≥71	0.47		
Tabaquisme	No	1	0.42-3.69	0.69
	Sí	1.25		
Alcoholisme	No	1	0.36-4.80	0.91
	Sí	1.32		
ACE-27	Grau 0	1		0.82
	Grau 1	1.24	0.48-3.20	
	Grau 2	0.94	0.36-2.49	
Tumor primari	Cavitat oral	1		0.01
	Orofaringe	0.53	0.17-1.67	
	Hipofaringe/Laringe	2.45	0.93-6.47	
Estadi T	T2-3	1	0.58-3.34	0.45
	T4	1.40		
Estadi N	N0-1	1	0.70-5.45	0.20
	N2-3	1.96		
Tract. sistèmic	Anti-EGFR	1	0.28-1.52	0.32
	Cisplatí	0.65		

4.2.2 Resultats globals

4.2.2.1 Supervivència lliure de progressió

La SLP va ser significativament superior al grup de RT i cisplatí. Les taxes de SLP als 2 i 5 anys van ser de 59% i 46% versus 25% i 10.5% afavorint el grup que havia rebut cisplatí (p=0.0006) (**Figura 11**).

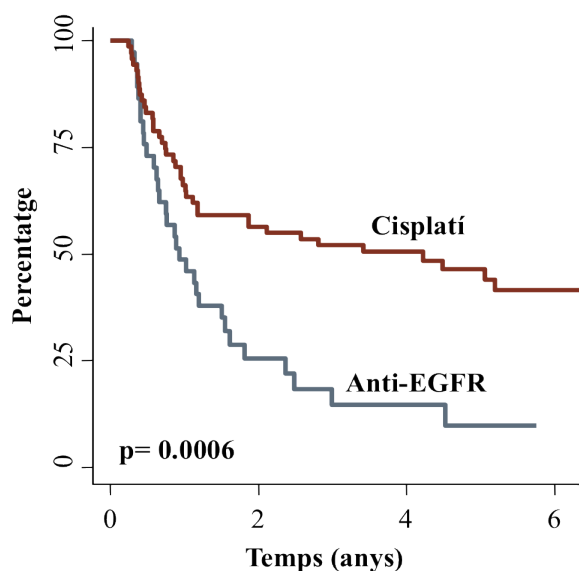


Figura 11. Supervivència lliure de progressió segons tractament rebut

A l'anàlisi univariada la característica més destacada per SLP va ser el fàrmac administrat amb la irradiació, afavorint el cisplati (**Taula 29**).

Taula 29. Anàlisi univariada per SLP

Característica		OR	IC 95%	p-valor
Sexe	Home	1	0.45-2.18	0.99
	Dona	0.99		
Edat	<71	1	0.55-1.84	0.98
	≥71	1.01		
Tabaquisme	Sí	1	0.57-2.80	0.55
	No	1.27		
Alcoholisme	No	1	0.60-3.72	0.69
	Sí	1.49		
ACE-27	Grau 0	1		0.67
	Grau 1	1.02	0.55-1.89	
	Grau 2	1.26	0.63-2.23	
Tumor primari	Cavitat oral	1		0.62
	Orofaringe	0.86	0.48-1.53	
	Hipofaringe/Laringe	1.15	0.63-2.11	
Estadi T	T2-3	1	0.62-1.60	0.97
	T4	0.99		
Estadi N	N0-1	1	0.70-1.99	0.53
	N2-3	1.18		
Tract. sistèmic	Anti-EGFR	1	0.27-0.71	0.001
	Cisplati	0.44		

4.2.2.2 Supervivència

La SG va ser significativament superior al grup de RT i cisplatí. Les taxes als 2 i 5 anys van ser de 74% i 54% versus 32% i 12.5% afavorint el grup que havia rebut cisplatí ($p < 0.0001$) (Figura 12).

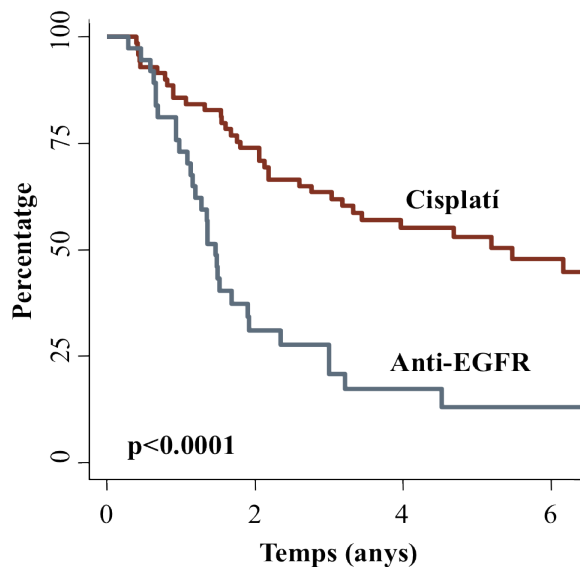


Figura 12. Supervivència global segons tractament rebut

A l'anàlisi univariada la característica més destacada per SG va ser el fàrmac administrat amb la irradiació, afavorint el cisplatí (Taula 30).

Taula 30. Anàlisi univariada per SG

Característica		OR	95% CI	p-valor
Sexe	Home	1	0.52-2.52	0.74
	Dona	1.14		
Edat	<71	1	0.70-2.30	0.43
	≥71	1.27		
Tabaquisme	Sí	1	0.46-1.51	0.54
	No	0.83		
Alcoholisme	No	1	0.51-3.38	0.83
	Sí	1.31		
ACE-27	Grau 0	1	1	0.44
	Grau 1	1.36	0.72-2.55	
	Grau 2	1.47	0.80-2.70	
Tumor primari	Cavitat oral	1		0.86
	Orofaringe	0.96	0.53-1.75	
	Hipofaringe/Laringe	1.14	0.60-2.17	
Estadi T	T2-3	1	0.71-1.90	0.55
	T4	1.16		
Estadi N	N0-1	1	0.82-2.49	0.21
	N2-3	1.43		
Tract. sistèmic	Anti-EGFR	1	0.18-0.53	0.0001
	Cisplatí	0.31		

La SE va ser significativament superior al grup de RT i cisplatí. Les taxes als 2 i 5 anys van ser de 70% i 50% versus 37.5% i 25% afavorint el grup que havia rebut cisplatí ($p < 0.0001$) (Figura 13).

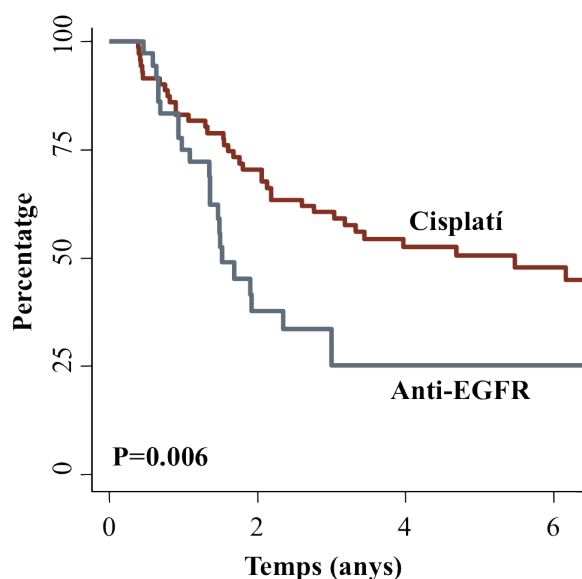


Figura 13. Supervivència específica segons tractament rebut

A l'anàlisi univariada la característica més destacada per SE va ser el fàrmac administrat amb la irradiació, afavorint el cisplatí (Taula 31).

Taula 31. Anàlisi univariada per SE


Característica		OR	IC 95%	p-valor
Sexe	Home	1	0.44-2.39	0.96
	Dona	1.02		
Edat	<71	1	0.54-2.0	0.91
	≥71	1.04		
Tabaquisme	Sí	1	0.45-1.54	0.55
	No	0.83		
Alcoholisme	No	1	0.63-2.51	0.76
	Sí	1.26		
ACE-27	Grau 0	1	1	0.81
	Grau 1	1.09	0.57-2.08	
	Grau 2	1.22	0.66-2.26	
Tumor primari	Cavitat oral	1		0.46
	Orofaringe	0.77	0.41-1.45	
	Hipofaringe/Laringe	1.15	0.60-2.19	
Estadi T	T2-3	1	0.53-2.97	0.19
	T4	1.48		
Estadi N	N0-1	1	0.78-2.47	0.26
	N2-3	1.39		
Tract. sistèmic	Anti-EGFR	1	0.25-0.83	0.03
	Cisplatí	0.46		

4.2.3 Anàlisi multivariada

L'anàlisi multivariada es va construir seleccionant les variables que minimitzaven el criteri d'informació d'Akaike per cada un dels objectius d'eficàcia avaluats. La característica més clarament relacionada amb la fallida loco-regional i la supervivència va ser el fàrmac administrat amb la radioteràpia, afavorint el cisplatí. Els resultats indiquen aproximadament la meitat de risc de FLR i el doble de supervivència específica amb l'administració de cisplatí concomitant amb la irradiació (FLR, HR=0.53, IC 95%: 0.31-0.92, p=0.02; CSS, HR=2.07, IC 95%: 1.21-3.55, p=0.008). La informació es resumeix a la **Taula 32**.

Taula 32. Anàlisi multivariada pels diversos objectius d'eficàcia avaluats

Característica	FLR	SLP	FD total	FD exclusiva	SG	SE
Edat (>70 vs ≤70a)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Fàrmac (cisp vs anti-EGFR)	0.53 (0.31-0.92) 0.02	0.44 (0.27-0.71) 0.01	N.S.	N.S.	2.99 (1.80-4.97) <0.001	2.07 (1.21-3.55) 0.008
Tumor primari (HF/lar vs altra)	N.S.	N.S.	2.73 (1.03-7.22) 0.01	5.13 (1.5-17.51) 0.01	N.S.	N.S.
Estadi N (N0-1 vs N2-3)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Estadi T (T4 vs T2-3)	N.S.	N.S.	N.S.	2.95 (1.05-8.31) 0.041	N.S.	N.S.
FLR (Sí vs no)	-----	NA	3.14 (1.25-7.88) 0.015	NA	NA	NA



↑
HR
IC 95%
p-valor
↓

4.3 Estudi traslacional

4.3.1 VPH

Es va poder tenir informació de l'estat de VPH en 84 de les mostres estudiades, un 79% de la mostra a estudi. Només es va detectar presència de VPH en 12 casos, un 14% de la mostra. Aquesta dada confirma la baixa presència encara de VPH en la nostra població. Pel que fa només als casos d'orofaringe havia un 21% de casos VPH_{pos}, essent el 26% primaris de base de llengua o amígdala.

Les característiques clíniques segons l'estat de VPH són comparables als dos grups i similars a les descrites prèviament segons grup de tractament. Únicament destaca que als casos VPH_{pos} la proporció de malalts >70 anys era major (p=0.001) i que s'havien tractat més freqüentment amb anti-EGFR (p=0.003, **Taula 33**).

Taula 33. Estat VPH segons grup de tractament (N=84)

Característica		RT + anti-EGFR (n=28)	RT + cisplatí (n=56)	p-valor
VPH	Negatiu	19	53	0.003
	Positiu	9	3	

Les característiques del tractament rebut eren similars als 2 grups. La **Taula 34** descriu els casos i la seva evolució. La característica més destacable és la localització atípica dels tumors VPH_{pos}: en 5/12 casos el tumor primari era de laringe o hipofaringe (s'ha descrit que aquestes localitzacions podrien comportar pitjor pronòstic). Es pot veure que una causa freqüent de mort segueix sent el CCC índex, igual que als casos VPH_{neg}. No s'han realitzat més anàlisis en aquest grup atesa la baixa presència de casos VPH_{pos}.

Taula 34. Casos VPH_{pos}

Cas	Edat	Fumador	Localització	Estadiatge	Tractament	Resposta	Evolució
#1	72	Ex-fum	Hipofaringe	T2N2b	Cetuximab	RC	Segon tumor i exitus
#2	59	Sí	Hipofaringe	T4N2b	Panitumumab	RC	Prog. met i exitus
#3	79	Ex-fum	Orofaringe	T4N1	Cetuximab	FLR	Exitus
#4	76	Ex-fum	Hipofaringe	T3N1	Cetuximab	FLR	Exitus
#5	54	Sí	Laringe	T2N1	Cetuximab	RC	Prog. met i exitus
#6	72	No	Laringe	T3N1	Cetuximab	FLR	Prog. met i exitus
#7	75	Sí	Orofaringe	T2N2b	Cetuximab	RC	Segon tumor i exitus
#8	74	Ex-fum	Orofaringe	T4N2b	Cetuximab	RC	Viu
#9	76	Fum	Orofaringe	T4N2c	Cetuximab	FLR	Exitus
#10	65	Ex-fum	Orofaringe	T4N1	Cisplatí	RC	Prog. met i exitus
#11	48	Ex-fum	Orofaringe	T3N2c	Cisplatí	RC	Viu
#12	61	Ex-fum	Orofaringe	T4N0	Cisplatí	RC	Viu

Per tant, aquesta sèrie comprén fonamentalment tumors VPH_{neg}. Les característiques i els resultats excloent els casos VPH_{pos} no presenten diferències remarcables (no es mostra).

4.3.2 Senyalització HER3-PI3K/mTOR

Es va obtenir material suficient per realitzar els estudis plantejats en 46 casos, un 43.4% de la mostra a estudi. La meitat dels casos s'havien tractat amb radioteràpia i anti-EGFR i l'altra meitat amb radioteràpia i cisplatí. Els marcadors estudiats i les definicions utilitzades en aquest treball s'han descrit a l'*apartat 3.2.5*. Les característiques dels marcadors de la senyalització de HER3-PI3K/mTOR avaluats es resumeixen a la **Taula 35**.

Taula 35. Característiques dels marcadors avaluats (N=46)

Característica		RT + anti-EGFR (n=23)	RT + cisplatí (n=23)	p-valor
HER3 (n= 43)	Negatiu	15	18	0.80
	Positiu	5	5	
PTEN (n= 43)	Negatiu	13	9	0.09
	Positiu	7	14	
pmTOR (n= 45)	≤mediana	12	10	0.30
	>mediana	9	14	
pS6 (n= 45)	≤mediana	9	14	0.30
	>mediana	12	10	
p4E-BP1 (n= 45)	≤mediana	7	15	0.05
	>mediana	14	9	
p53 (n= 45)	Negatiu	9	6	0.20
	Positiu	12	18	
Mut PIK3CA (n= 21)	No	7	11	0.43
	Sí	1	2	

Es va detectar immunoexpressió de p53 en el 65% dels casos estudiats, activació de la senyalització intracel·lular associada a mTOR en el 51% dels casos, expressió de PTEN en el 48.8%, expressió de HER3 en el 23%, i es va detectar la mutació de PIK3CA en 3 casos (es va detectar també en un cas addicional que es va retirar de l'estudi per no poder completar el tractament previst). Només va haver una petita diferència en la distribució de p4E-BP1, amb una lleugera superioritat en el grup de RT+anti-EGFR. En la resta de marcadors avaluats no hi havia diferències significatives entre els 2 grups.

L'objectiu inicial en plantejar aquest treball era avaluar potencials diferències en els marcadors a estudi en malalts tractats amb radioteràpia i cisplatí o anti-EGFR amb la intenció de poder suggerir millors estratègies a estudiar pel tractament del càncer de cap i coll. En el moment del plantejament la informació clínica destacava que els efectes antitumorals de radioteràpia i cetuximab eren similars als de radioteràpia i cisplatí però amb millor tolerància i compliment del tractament. En el temps que s'ha efectuat aquest treball s'ha fet palesa la importància pronòstica de VPH i s'han publicat 4 estudis retrospectius suggerint una major efectivitat de cisplatí vs cetuximab. En la present avaluació també s'ha copsat una major efectivitat de cisplatí vs anti-EGFR, s'ha identificat una baixa presència de VPH convertint aquesta sèrie majoritàriament en VPH_{neg}, i la meitat dels casos VPH_{pos} tenen localitzacions atípiques i no presenten el millor pronòstic que se'ls atribueix (no tenen supervivències de l'ordre del 80% o superiors). Tot i existir diferències notables entre els casos que han rebut cisplatí o anti-EGFR, la SG als 5 anys no supera el 50% en cap cas, fent que la oportunitat de millora sigui extensa en tots els casos. Per aquests motius, la resta d'anàlisis s'han efectuat de manera global en el grup amb material histològic suficient (n=46).

Les mutacions de PIK3CA suposen una activitat constitutiva de la senyalització de PI3K, s'han relacionat amb pitjor pronòstic i existeixen dades que suggereixen que serien especialment sensibles als inhibidors de PI3K/mTOR. Es va poder avaluar la seva presència en 21 casos i es van detectar en 3, el que suposa un 14% de casos. També es va detectar en un quart cas que es va retirar de les anàlisis per no poder completar el tractament planificat (**Taula 36**). S'observa que només 1 cas té una evolució favorable i confirmaria el pitjor pronòstic d'aquests casos. Aquesta informació no s'ha incorporat a la resta d'anàlisis fetes.

Taula 36. Casos amb mutació de PIK3CA

Cas	Edat	Fumador	Localització	Estadiatge	Tractament	Resposta	Evolució
#1	73	Fumador	COD [#]	TxN3	Cetuximab	Prog	Exitus
#2	55	Fumador	Orofaringe	T4N2c	Cetuximab	No acaba tract* Prog	Exitus
#3	56	Fumador	Orofaringe	T2N2b	Cisplatí	RC	Viu
#4	76	Fumador	Cav. oral	T2N2b	Cisplatí	Prog	Exitus

[#]COD: càncer d'origen desconegut; *Exclós de les anàlisis.

Seguidament s'ha avaluat l'efecte de l'activació de mTOR mediada per HER3 i via PI3K als resultats d'efectivitat obtinguts prèviament. A aquests efectes s'ha considerat activa si ≥ 3 components de la ruta de senyalització eren presents (HER3 positiu, PTEN negatiu, pmTOR positiu, pS6 positiu, p4E-BP1 positiu). Seguint aquest criteri, el 35% dels casos presentava activació de PI3K/mTOR. A la **Figura 14** es pot observar que l'activació de PI3K/mTOR està fortament associada a la fallida loco-regional i a la supervivència global. Aquest fet suggereix que la intervenció sobre PI3K/mTOR podria ser efectiva en aquests tumors.

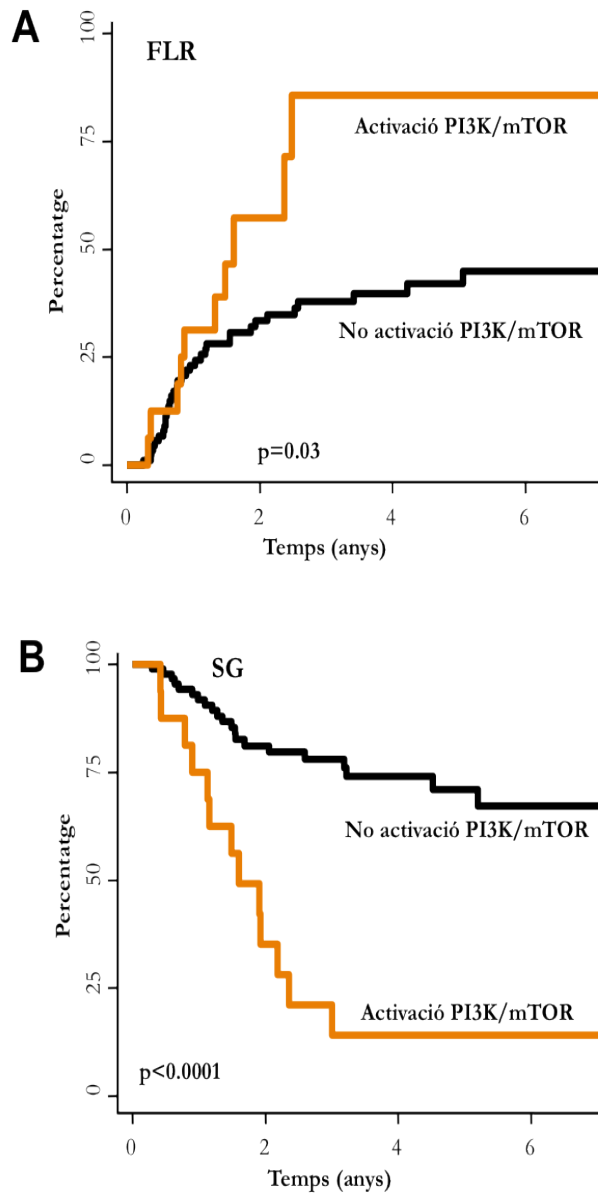


Figura 14. Efecte de l'activació de PI3K/mTOR en els resultats clínics obtinguts.

A: Fallida loco-regional (FLR). B: Supervivència global (SG).

A continuació s'ha analitzat la relació de cadascuna de les variables de marcadors amb els resultats clínics estudiats. Els resultats es presenten a la **Figura 15** en forma de forest plot per cadascun dels objectius avaluats. Es pot veure que els components més significats de la ruta HER3-PI3K/mTOR són pS6 i HER3, i adicionalment p53. Així, l'efecte més important de pS6 seria sobre la FLR (HR=3.78; IC 95%:1.42,10.08) amb repercussió sobre la SLP (HR=2.11; IC 95%:0.98,4.54). El cas de p53 seria similar, amb major efecte sobre la FLR (HR=1.86; IC 95%:0.72,4.81) i també repercussió sobre la SLP (HR=1.59; IC 95%:0.76,3.35). En el cas de HER3, el major efecte podria ser sobre la fallida a distància. Podria arribar a haver un efecte més significat en el cas de la fallida a distància exclusiva, tot i que el nombre

de casos resulta massa petit per fer especulacions. Per la fallida a distància global el HR per HER3 és de 2.20 amb un IC 95% entre 0.59 i 8.17, tot mantenint un lleuger impacte en la SLP (HR=1.40; IC 95%:0.62,3.19). Aquestes dades podrien suggerir que pS6 seria el node amb major capacitat discriminativa de l'activació de PI3K/mTOR i que estaria fortament implicat en la FLR, mentre que HER3 estaria especialment relacionada amb la fallida a distància. Tot i no ser òptima l'avaluació de p53 per immunotinció, és concordant que el seu efecte predominant sigui sobre la FLR, especialment en casos VPH_{neg}.

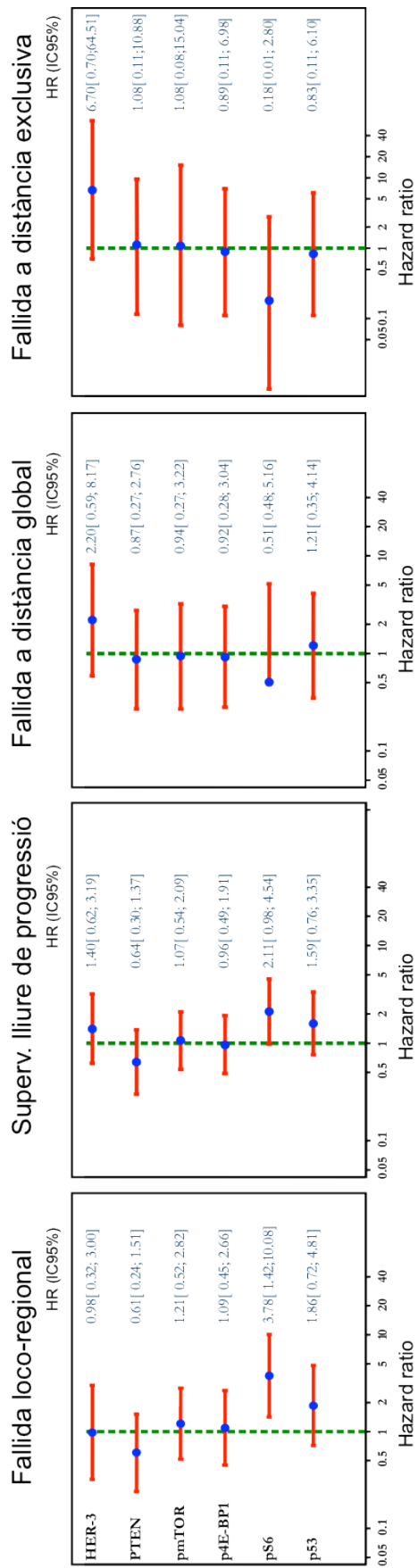


Figura 15. Forest plot de l'associació entre marcadors d'activació de PI3K/mTOR i els resultats clínics obtinguts.

CAPITOL

5

Discussió

5 Discussió

5.1 Estudi descriptiu

Al concepte de treball oncològic multidisciplinar, on totes les especialitats que participen en algun aspecte oncològic del tractament d'un pacient amb càncer coordinen els seus esforços i la seva àrea d'expertesa per tal d'oferir la millor orientació i estratègia de tractament al malalt (124), se li van afegint altres aspectes que van redimensionant l'abast oncològic del tractament del càncer. En aquest treball s'ha optat per un enfoc multiinstitucional, que ha permès enriquir la mostra a estudi i obtenir una visió més panoràmica de les característiques, tractaments i resultats del càncer de cap i coll localment avançat. Aquest podria ser només el primer pas donat que els darrers avenços en el coneixement de la biologia mol.lecular del càncer estan canviant la nostra manera d'entendre el càncer i de plantejar el seu tractament. El concepte del càncer com a procés mutagènic on les cèl.lules tumorals adquireixen una sèrie de característiques bàsiques com capacitat proliferativa il.limitada, autosuficiència i resistència a la mort cel.lular està ben establert i està fent reconsiderar i reorganitzar la classificació dels tumors en funció de les seves característiques mol.leculars. Conseqüentment, l'enfoc terapèutic es veurà també afectat. Un enfoc que està prenent una gran volada és la creació d'iniciatives internacionals de recerca com l'Atlas del Genoma del Càncer (TCGA) (125) o el Consorci Internacional del Genoma del Càncer (ICGC) (102) amb la intenció d'adquirir un millor coneixement de les característiques bàsiques dels diferents tumors. Sembla prou clar que les decisions dels comitès de tumors hauran de poder incorporar tota aquesta informació a mida que es vagi clarificant i entenent millor.

Així com els comitès de tumors incorporen el màxim d'informació oncològica específica a la presa de decisions, resulta igualment rellevant poder valorar la comorbilitat dels pacients. Tradicionalment s'han utilitzat l'escala ECOG i la de de Karnofsky per tenir una mesura pràctica de la qualitat de vida del malalt en el moment fer la valoració. Una informació més completa la donen els índexs de comorbilitat, que estimen l'esperança de vida d'un malalt transcorregut un període de temps. Un dels més coneguts és l'índex de comorbilitat de Charlson, que fa una estimació de la mortalitat a 10 anys en funció de l'edat i de 19 ítems. Amb tot, té varies limitacions com poden ser l'excessiu pes que dona a la malaltia cardiovascular i a la SIDA i l'absència de paràmetres funcionals. L'índex de comorbilitat ACE-27 és un sistema de classificació de comorbilitats basat en 27 ítems amb capacitat pronòstica i que inclou comorbilitats greus freqüents als malalts de càncer. En un estudi recent en càncer d'orofaringe s'ha observat que, després de l'estat VPH, la comorbilitat segons

l'índex ACE-27 és un paràmetre crític per discriminar els casos de més risc (126). Serà d'interès que s'avaluï en més estudis. En aquest treball, tot i que l'evolució era una mica pitjor pels casos amb ACE-27 grau 2, no va ser significatiu.

Pel que fa a la distribució de la malaltia avançada, aquesta sèrie es distribueix de manera similar a la dels estudis recents amb major seguiment (TAX-324, TROG 02-02, RTOG 01-29, GORTEC 99-02) amb aproximadament la meitat de casos amb estadi T4 i aproximadament 2/3 amb estadis N2-3, i en contraposició als estudis recents amb menor seguiment (Paradigm, DeCIDE, RTOG 05-22, HN.6) amb aproximadament 1/4 de casos amb estadi T4 i >80% amb estadis N2-3 (**Figura 8**). Pel que fa a la localització orofaríngeica aquesta és l'única sèrie recent que està per sota del 50%, i també és la que té menor presència de tumors VPH_{pos} (per sota del 15%).

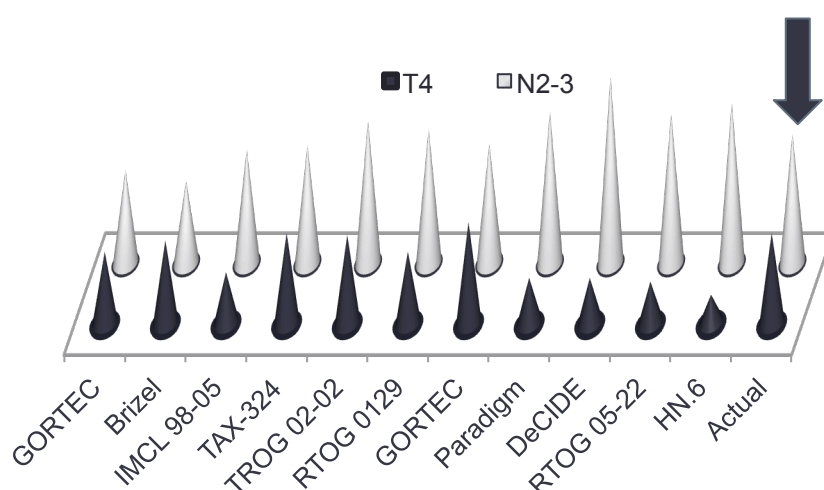


Figure 16. Comparació amb altres estudis

En aquesta línia, un objectiu bàsic lligat a qualsevol tractament loco-regional d'un càncer de cap i coll és la possibilitat de completar el tractament planificat. Afecta a qualsevol de les possibilitats terapèutiques i estaria indicat que figurés en tots els treballs que es facin, de la mateixa manera que es demana incloure un diagrama CONSORT per clarificar el fluxe que han seguit els malalts durant el tractament. En l'apartat quirúrgic el tractament complet representa l'èxit de la cirurgia oncològica programada (a banda de que el resultat patològic pugui mostrar signes adversos); en l'apartat de la RQT concomitant significa poder administrar l'esquema d'irradiació previst i en un temps adequat, i l'administració del fàrmac radiosensibilitzant a les dosis recomanades; i pel que fa als casos on es planteja fer QT d'inducció inclou no comprometre el tractament local donat que no se li atribueix un efecte local propi (s'insisteix en l'efecte sobre la malaltia a distància). En aquest treball s'han obtingut uns resultats similars als d'altres sèries. Aproximadament la meitat de casos tractats

amb cisplatí i la tercera part dels tractats amb anti-EGFR no han pogut rebre el tractament previst. En canvi, també com a la majoria de sèries, gairebé tots els malalts (97%) han pogut rebre el "mínim" tractament sistèmic recomanat. Gairebé tots els malalts van rebre la irradiació segons s'havia planificat.

El patró or per mesurar l'efecte d'un tractament al CCC és la supervivència global perquè ofereix poca discrepància en la seva avaluació. És ben sabut però que no és un objectiu ideal perquè requereix molt més temps i més pacients per poder identificar les diferències entre dos tractaments. La iniciativa del MACH-NC ha utilitzat la informació de >15.000 malalts avaluats per proposar una variable subrogada de resposta (127). Les variables avaluades eren supervivència lliure d'events i durada del control loco-regional. Els seus resultats indiquen que pels tractaments de radioteràpia hi ha una forta relació entre ambdues variables i supervivència global, mentre que pels tractaments de quimioteràpia la relació era més forta amb la variable supervivència lliure d'events. En el mateix text indiquen que *"aquestes troballes són compatibles amb la noció que la radioteràpia actua sobre el control loco-regional mentre que la quimioteràpia té un efecte sobre la malaltia metastàsica"*. Segueixen indicant que aquest és l'estudi més extens avaluant variables subrogades per un particular tipus de càncer i mai abans efectuat. Afegeixen que consideren vàlids aquests resultats per qualsevol classe de quimioteràpia testada en un assaig clínic entre 1968 i 2003. Posteriorment afegeixen unes consideracions estadístiques que suggereixen que per ambdues situacions la variable subrogada més favorable seria la supervivència lliure d'events. Basat en aquests resultats la RTOG ha decidit utilitzar com a variable subrogada de supervivència global la supervivència lliure de progressió entenent que possibilitarà fer comparacions amb les dades reportades a la metanaàlisi francesa, que exclou els segons tumors com a causa de fallida i que permet excloure les limitacions per establir progressió loco-regional post-radioteràpia en relació als casos en què persisteix edema, canvis estructurals associats al tumor previ o canvis fibròtics. De la mateixa manera que per malaltia metastàsica s'accepta com a criteri subrogat d'eficàcia la SLP enlloc de la SG i es considera que addicionalment permet evolucionar molt més ràpidament i incorporar els nous coneixements en successives aprobacions traduint-se globalment i continua en un major benefici clínic (128,129), la consideració proporcionada al cas de malaltia loco-regional, i el cas del CCC en seria un bon exemple, seria utilitzar el CLR enlloc de la SLP, si més no en els estudis on el tractament principal segueixi sent la irradiació. D'altra banda, l'Agència Europea del Medicament (EMA) només reconeix SLP i SLM com a variables de resposta en assajos confirmatoris (fase III) (130). De la mateixa manera, la EMA reconeix en les seves recomanacions que la SLP és una composició de diferents events (noves lesions, progressió de lesions preexistents, mort) i que seria recomanable acompanyar-la d'informació dels diferents events i d'estratègies de riscos competitius. També es fa esment

específicament de la importància de la magnitud del benefici com a condicionant bàsic de l'aprovació de nou medicaments (131). En el cas del càncer de cap i coll localment avançat tractat amb radioteràpia el plantejament actual està adaptat a la normativa vigent donat que la majoria de plantejaments incorporen fàrmacs però és necessari construir un entorn que respongui millor a la realitat del càncer de cap i coll. La perspectiva clínica actual és prou diferent a la reflectida a l'estudi francès on no es considera la particularitat dels casos VPH_{pos}, ni la intensificació de la radioteràpia, o la incorporació d'agents mol·leculars, a banda de la perllongada latència que pot haver abans d'esbrinar el resultat de l'efecte loco-regional del tractament. És a dir, la heterogeneïtat és molt àmplia. Un factor afegit és la confusió addicional generada per la inclusió de paràmetres funcionals (supervivència lliure de laringectomia, supervivència lliure de disfunció faringolaríngica), la no discriminació específica per comorbilitats, edat o localització, o la dificultat en integrar els potencials valors afegits d'un tractament (per exemple, amb la neoadjuvència, on les atribucions de benefici en control de la malaltia a distància no s'han plantejat de manera directa en cap dels estudis clínics plantejats fins ara). En consonància, els objectius dels estudis fase III no són homogenis (**Taula 37**).

Taula 37. Objectius d'estudis fase III en CCC localment avançat i el seu assoliment

Estudi (Publicació)	Esquema de tractament	Objectiu / Assoliment
GORTEC 94-01 (1996)	SF RT+/-CBP/5FU x3	SLM / ✓
Brizel (1998)	HF RT+/-Cisp/5FU/d x2	CLR / ✓
RTOG 90-03 (2000)	AF vs SF RT	CLR / ✓
DAHANCA6&7 (2003)	RT 5 vs 6 f/setm+ nimorazol	CLR / ✓
IMCL-9805 (2006)	RT +/- Cetuximab/setm	CLR / ✓
TAX-323 (2007)	TPF vs PF (+ SF RT)	SLP / ✓
TAX-324 (2007)	TPF vs PF (+ SF RT + CBP/setm)	SG / ✓
TROG 02-02 (2010)	SF RT+Cisp q3w x3+/-Tirapazamina	SG / ✗
RTOG 01-29 (2010)	Cisp q3w x3+SF o AF RT	SG / ✗
GORTEC 99-02 (2012)	SF RT+CBP/5FU/d x3 vs AF RT+CBP/5FU/d x2 vs VAF RT	SLP / ✗
ARO 04-01 (2012)	HART + Cisp/5FU vs MMC/5FU	CLR / ✓
Paradigm (2013)	RQT(diversos esquemes)+/-TPF	SG / ✗
DeCIDE (2014)	HF RT+PQT+/-TPF	SG / ✗
RTOG 05-22 (2014)	AF RT+Cisp q3w x2+/-Cetuximab	SLP / ✗
HN.6	SF RT+Cisp q3w x3 vs AF RT+Panit q3w x3	SLP / ✗
RTOG 10-16	OF VPH_{pos} : AF RT+Cisp q3w x2 or Cetuximab/setm	SG / en curs
ARTSCANIII	Cisp/setm vs Cetuximab/setm (+AF RT)	SG / en curs
ESCALOX	SF RT VS AF RT (+Cisp/setm)	CLR / en curs

EORTC 1219	VPH_{neg} : AF RT+Cisp+/-nimorazol	CLR / en curs
NIMRAD	AF RT+/-nimorazol	CLR / en curs
INTERCEPTOR	TPF+SF RT+Cetuximab vs SF RT+Cisp q3w	SG / en curs
QUARTERBACK	OF VPH_{pos} : CBP/setm+/-SF RT (56 Gy vs 70 Gy)	SLP / en curs

SF: fraccionament estàndar; ; CBP: carboplatí; 5FU: 5 fluorouracil; SLM: supervivència lliure de malaltia; HF: hiperfraccionament; Cisp: cisplatí; AF: fraccionament accelerat; CLR: control loco-regional; TPF: docetaxel-cisplatí-5-fluorouracil; PF: cisplatí-5-fluorouracil; SLP: supervivència lliure de progressió; SG: supervivència global; q3w: trisetmanal; VAF: fraccionament molt accelerat; HART: RT hiperfraccionada accelerada; MMC: mitomicina C; RQT: radioquimioteràpia; PQT: poliquimioteràpia; Panit: panitumumab.

Aquestes consideracions no són alienes a la comunitat científica, que les qüestiona i procura adaptar progressivament. Un exemple seria l'adaptació dels criteris RECIST utilitzats per valoracions de resposta típicament en assajos clínics fase II. Proposada la primera versió l'any 2000 i l'actual el 2009, existeixen diverses modificacions donat que el principal criteri d'avaluació és la imatge i no hi ha una tècnica d'imatge universal en oncologia i que no considera els canvis que poden patir les diferents lesions (necrosi, hemorràgia, inflamació) o càncers (variacions en les dimensions com a únic paràmetre). Així, existeix la versió RECIST modificada (mRECIST) per hepatocarcinoma, els criteris de Choi per GIST, el RECIST immunològic (IR-RECIST) per melanoma, o el RECIST que incorpora la informació metabòlica del PET (PERCIST) (132). És a dir, es busquen maneres adaptades a les característiques dels canvis que el tractament suposa per les diferents condicions tractades. Resulta obvi, doncs, que conèixer "com de bé" ha funcionat el tractament per avaluacions posteriors és un criteri rellevant. Així doncs, és necessari i rellevant trobar una adaptació que pertoqui als tractaments amb radioteràpia en CCC.

5.2 Estudi d'efectivitat

Hi ha dos situacions clarament en discussió en el càncer de cap i coll localment avançat, una en relació a l'efectivitat de cisplatí i cetuximab en combinació amb radioteràpia i l'altra relativa a l'efectivitat d'ambdós segons l'estat VPH del tumor.

Pel que fa a la primera, hi ha el seguiment de l'estudi IMCL-9805 indicant que el benefici amb cetuximab es manté als 5 anys amb un guany en supervivència del 9% i l'afegit de no incrementar les toxicitats pròpies de la irradiació (67). En aquest estudi també se suggereixen factors clínics relacionats amb el benefici de cetuximab i es diu que els tumors T4, els tractats amb RT normofraccionada, els estadis N0, malalts amb KPS \leq 80, dones i edat \geq 65 anys no obtenen cap benefici del tractament amb cetuximab. Tot i no ser una comparació directa vs

cisplatí i el fet de ser un únic assaig clínic favorable, se li assigna evidència de nivell I i constitueix una alternativa a les contraindicacions de cisplatí (ototoxicitat, neurotoxicitat, insuficiència renal o altres comorbilitats importants, i sobretot l'edat avançada). Per tant està desplaçat a una segona línia d'acció, fet que mai el permetrà tenir un desenvolupament ampli. Les estratègies més "simples" i clarament més "arriscades" d'incorporar-lo en tots els formats possibles a les possibilitats terapèutiques establertes no han aclarit res tampoc.

Pel que fa al valor de l'estat VPH en l'efectivitat de cisplatí o cetuximab, la informació és més complexa i menys clara. Al ja establert millor pronòstic dels tumors VPH_{pos} s'han afegit diversos factors de confusió. La història natural més dilatada en el temps dels tumors VPH_{pos} fa que els resultats a 2-3 anys post-tractament tinguin un valor relatiu en aquests tumors (133), i precisament per aquesta raó alguns grups han plantejat reduir la intensitat del tractament local, qüestió no ben entesa quan es valora el tractament local perquè no hi ha cap base substantiva per justificar-ho. Probablement una dada condicionant pels qui donen suport a aquesta idea sigui que mentre la situació pugui ser rescatada amb d'altres medis la repercussió estimada en supervivència serà mínima i podrà mantenir-se el concepte. Una àrea típicament explotada a aquests efectes és la dels tumors laríngics, on els successius rescats permeten obtenir unes dades de supervivència millors que en altres localitzacions i que, amb aquesta mena de raonament, tampoc han aconseguit millorar-la en els darrers 20 anys. Pel que fa en concret a cetuximab i càncer de laringe, s'ha plantejat la opció d'utilitzar-lo en la part local del tractament (134), amb radioteràpia, després de fer QT d'inducció i amb la finalitat d'aconseguir millor compliment de la part local del tractament, un dels principals esculls d'aquesta estratègia. El que hem pogut aprendre d'aquesta manera de fer és que les fallides loco-regionals del tractament del càncer de laringe són més freqüents amb cetuximab i que són rescatables quirúrgicament amb major probabilitat si la irradiació s'ha fet amb cetuximab que no pas amb cisplatí. Una vegada més, si aquesta informació es consolida, representaria una opció únicament en els casos de millor pronòstic que poguessin ser rescatables i posa en judici el concepte de preservació d'òrgan donat que amb probabilitat l'òrgan es perdrà o no serà funcional després de la cirurgia. Totes són situacions d'altíssima complexitat, amb múltiples encreuaments i solapaments, per acabar aconseguint uns resultats similars.

Des de 2011 s'han reportat les dades de 4 estudis retrospectius adreçant les diferències observades entre cisplatí i cetuximab en combinació amb RT. En tots ells s'observa una menor efectivitat de cetuximab i es qüestiona el seu ús. En tots els estudis hi ha un excés de gent d'edat avançada en el grup de cetuximab, sent el grup ≥ 71 anys el 40.8% de la mostra en un d'ells. La proporció de tumors T4 és similar a la reportada en altres assajos (13-22.5%) i en un d'ells és del 44.8%; una part considerable tenen KPS < 80 (entre el 40% i el 74%), l'estudi

que en té menys (27.6%) és el que té més tumors T4. En 2 estudis s'inclouen 22%-34% de dones, i no hi ha un percentatge elevat de casos sense afectació ganglionar (N0). Addicionalment, 2 dels estudis que inclouen una valoració de la comorbilitat indiquen que havia un excés de casos amb major comorbilitat tractats amb cetuximab. Tots els estudis indiquen que el tractament es va fer amb IMRT i que es va poder completar segons estava plantejat en >90% dels casos, tot i que un dels estudis afegeix que els casos més "fràgils" els tractava amb RT normofraccionada.

El quart estudi és el més recent, inclou més pacients que els altres, i ofereix informació més detallada (135). És una revisió retrospectiva de 265 casos d'un centre francès, aproximadament el 75% tractats amb cisplatí i la resta amb cetuximab. El principal factor per indicar cetuximab era la comorbilitat, el 30% eren bebedors en el moment del diagnòstic i el 40% eren fumadors, el 20% es va tractar amb IMRT i el fraccionament va ser convencional, el 20%-30% eren estadis N0 i el 25-30% eren tumors T4. Amb una mediana de seguiment curta, de 29 mesos, i similar als altres estudis, destaca que aproximadament el 70% eren tumors d'orofaringe. En aquest context, la dada que ofereix més contrast és que no troben diferències en la supervivència actuarial als 2 anys entre cisplatí i cetuximab (75% vs 63%; HR=1.6, p=0.054 a l'anàlisi multivariant) però cisplatí era un predictor independent de CLR (76% vs 61%; HR=2.9) i FD (19% vs 32%; HR=2). El CLR es veia clarament compromès als tumors T4 tractats amb cetuximab (74% vs 28%). Les característiques associades de manera més consistent als diferents objectius d'eficàcia eren: tumors T4 (SG, HR=3.6; CLR, HR=3; FD, HR=2.4), estadis N2-3 (SG, HR=2.3; CLR, HR=3.3; FD, HR=2.9), fumadors (SG, HR=3.4; CLR, HR=7.8; FD, HR=7.7). Seria necessari conèixer l'estat VPH d'aquests tumors per poder posar en millor context aquestes dades. Els autors expliquen que no preveuen diferències en base a l'estat VPH perquè el 80% de la seva sèrie són o han estat fumadors (tot i que només ho són el 40% al diagnòstic). Amb tot, un estudi epidemiològic francès recent estima que el 57% de tumors d'orofaringe serien VPH_{pos} (136), la qual cosa seria concordant amb els resultats presentats. Els autors diuen que els casos de la seva sèrie són de pitjor pronòstic que els de les altres sèries reportades prèviament i que tot i així les diferències entre cisplatí i cetuximab són marginals. Probablement, les diferències epidemiològiques i la selecció de tractaments siguin grans condicionants del que tots aquests estudis amb mostres petites descriuen. En la present sèrie els casos són encara de molt pitjor pronòstic, com s'ha descrit prèviament, amb un 77%/70% de fumadors/bebedors actius severes, 38% amb comorbilitats greus (vs 28% a la sèrie francesa), 49% de tumors T4 (vs 25-30%), 69% N2-3 (vs 40-55%), i especialment un 40% d'orofaringe (vs ≈70%) amb una presència molt baixa de casos VPH_{pos} (14% de la mostra, 21% dels d'orofaringe). Amb probabilitat aquestes diferències hauran condicionat les diferències observades entre cisplatí i anti-EGFR. És

remarcable que les dades dels casos tractats amb cisplatí són similars amb les de HUVH: SG als 2a, 74% (HUVH) vs 75%; FLR als 2a, 34% vs 24%; FD als 2a, 21% vs 21%. En canvi, són prou diferents pel que fa als tractats amb anti-EGFR. Es podria especular que amb un rerafons de tan mal pronòstic i les grans diferències observades entre els fàrmacs, els factors comunment associats al pronòstic com tumors T4, estadis N2-3, o malalts fumadors haurien perdut la seva discriminació a favor del fàrmac utilitzat.

En aquest treball, igual que en les sèries prèvies, també s'ha observat una efectivitat diferent amb l'ús de cisplatí o anti-EGFR, a favor de cisplatí. S'ha observat una major fallida loco-regional, menor supervivència lliure de progressió i menor supervivència. El factor més determinant per la fallida a distància va ser la fallida loco-regional. En relació a les característiques clíniques considerades no beneficiades de l'ús de cetuximab a l'estudi IMCL-9805, en aquest estudi també hi ha un excés de malalts d'edat avançada (≥ 71 anys) tractats amb anti-EGFR, tot i només representar el 14%; tots els casos tenien KPS ≥ 80 ; el 49% eren tumors T4; gairebé no havia estadis N0 i la presència de dones era baixa, sense excés de comorbilitats als tractats amb anti-EGFR. És a dir, a banda de malalts de més edat, el fet destacat era la presència de tumors T4. Aquestes característiques de mal pronòstic per cetuximab estaven representades de manera similar en els dos grups llevat d'un lleuger nombre de malalts d'edat més avançada.

En aquesta sèrie, el tractament amb anti-EGFR és el factor més destacat per la fallida loco-regional, amb traducció en supervivència lliure de progressió i supervivència, i representant aproximadament el doble de fallides loco-regionals i la meitat de supervivència específica. Donada una distribució similar de les característiques clíniques dels malalts entre els 2 grups, les diferències en edat no justifiquen aquests resultats. La FLR als 2 anys és molt alta, del 60%. El compliment del tractament ha estat similar al reportat als diversos estudis publicats, i malgrat que una part dels casos tractats amb cisplatí no ha pogut rebre les 3 dosis previstes amb la irradiació, tots n'han rebut 2 dosis; mentre que el compliment amb anti-EGFR ha estat molt millor. Per tant, l'efecte observat no pot relacionar-se al compliment del tractament amb anti-EGFR.

De manera tradicional, no s'ha reparat gaire en la fallida a distància en el càncer de cap i coll donada la freqüent fallida loco-regional com a causa de mort. Si més no, els treballs que l'han adreçada indiquen que està en l'ordre del 10-20%, tot i que les maneres de fer el diagnòstic són prou diferents i poden influir en l'estimació. Per exemple, una situació de dubte recurrent és la presència d'un nòdul pulmonar en un pacient tractat d'un CCC. En aquest treball, un 27% dels malalts va ser diagnosticat de fallida a distància, i un cop diagnosticada la supervivència

va ser generalment curta. Una dada que va resultar interessant en aquest treball és que la meitat de fallides a distància es presentaven aïllades, sense fallida loco-regional. Tot i ser xifres petites i no poder fer anàlisis detallades, resulta rellevant tenir-ho present donades les dificultats inherents al tractament del càncer de cap i coll. Els resultats de l'anàlisi per la fallida a distància indiquen que la FLR és el principal factor associat, multiplicant gairebé per 4 el seu risc, i que els tumors d'hipofaringe/laringe gairebé la tripliquen. És ben conegut que la FLR és un factor de risc per la fallida a distància i que la curabilitat dels tumors d'hipofaringe és de les més baixes al CCC i que roman inalterada des de fa varies dècades. Per tant, aquest resultat són concordants amb la literatura existent. El que és remarcable és que la FLR dels malalts tractats amb anti-EGFR en aquesta sèrie és molt alta. En relació a la FD dels casos tractats amb cisplatí, al voltant del 20% als 2 anys, segueix sent elevada però similar a la reportada a la literatura. Una dada destacada és que, a diferència dels estudis amb més seguiment que presenten una proporció de tumors T4 similar a la d'aquesta sèrie, els assajos clínics més recents (RTOG 05-22, HN.6, DeCIDE, Paradigm), que reporten una FLR al voltant del 15%, que és substancialment menor, tenen una proporció de tumors T4 molt menor i en canvi una altíssima proporció de estadis $\geq N2$, fet que ho podria explicar.

En relació al petit grup amb fallida a distància aïllada, però que representa la meitat de les fallides metastàsiques, els resultats d'aquest treball indiquen que els tumors d'hipofaringe multiplicarien el seu risc per 5 i que els tumors T4 ho farien gairebé per 3. Si aquesta informació es confirmés en altres estudis implicaria un comportament clínic diferent en un grup de CCC que s'hauria de tenir present en la proposta de tractament al malalt.

La **Figura 17** ho resumeix.

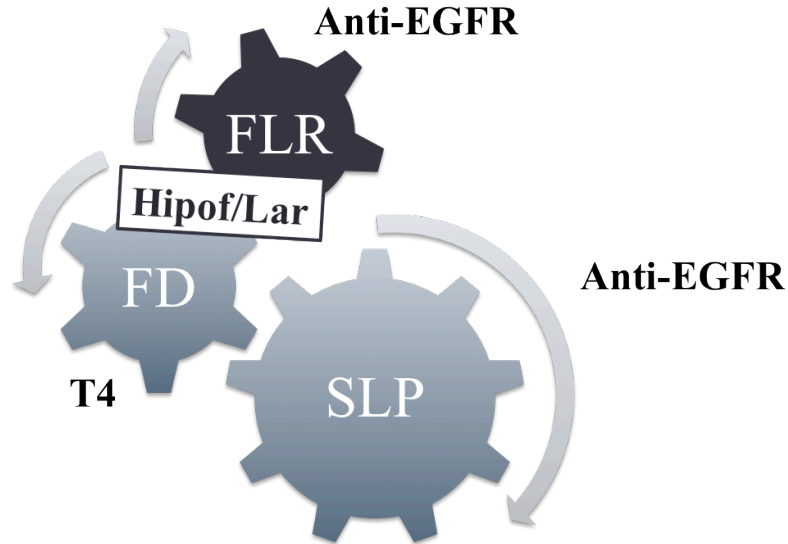


Figura 17. Factors clínics de pronòstic

5.3 Estudi de biomarcadors

S'estan produïnt ràpids progressos en les teràpies dirigides i en el coneixement de les bases mol.leculars dels càncer de cap i coll que en el futur podran permetre dissenyar estratègies de tractament específiques per cada cas. Al moment present segueixen sense poder-se aplicar aquests coneixements a la pràctica clínica habitual, en bona part degut a l'absència de models preclínic amb suficiència per fer-ho. En aquest treball s'ha caracteritzat una de les vies que amb major freqüència s'observa desregulada al càncer i que es considera que podria representar un mecanisme oncogènic director i clau al càncer de cap i coll, com és la via de PI3K/mTOR.

En el moment de plantejar aquest treball es coneixien les dades clíniques d'eficàcia de cetuximab amb radiacions i es considerava que podria ser equivalent als resultats amb cisplatí i radiacions en càncer de cap i coll però amb menor toxicitat, tot i no existir una comparació directa entre cetuximab i cisplatí. En els anys que ha ocupat aquest treball s'ha generat nova informació en relació al tema d'estudi. Primer, s'ha confirmat una gran presència de casos associats a VPH i de predomini en tumors d'orofaringe. Segon, s'ha observat una avantatge substancial pels tumors VPH_{pos}, de millor pronòstic. Tercer, en base a dades retrospectives de diversos centres oncològics de prestigi reconegut s'ha plantejat que pel tractament amb radiacions del CCC podria ser més eficaç l'ús de cisplatí que no pas cetuximab (*revisat a l'apartat 5.2*). Quart, les primeres informacions genòmiques al CCC confirmen que la via

PI3K/mTOR està fortament desregulada al CCC, fonamentalment als tumors VPH_{pos}. L'estudi de biomarcadors que s'ha fet adreça cadascun d'aquests punts.

La distribució geogràfica de tumors d'orofaringe VPH_{pos} és desigual. La tendència global és cap a una major incidència de tumors d'orofaringe. En una metanàlisi de 5396 càncers d'orofaringe es va observar l'augment del 40.5% abans del 2000 fins el 72.2% el 2005, amb augments significatius a Amèrica del Nord i a Europa (137). A Austràlia va passar del 20.2% el 2005 al 63.2% el 2010 (138). A Holanda, del 5.1% el 1990 fins el 29% el 2010 (139). A Espanya es registren pocs casos però també de manera creixent. Les anàlisis poblacionals globals suggereixen que l'augment de tumors d'orofaringe està associat a VPH. A Anglaterra s'ha estimat que la incidència del càncer d'orofaringe augmentarà un 239% entre el 2011 i el 2025, moment en el qual representaria el 35% de tots els CCC (140). De la mateixa manera, als Estats Units es preveu que seguirà augmentant durant un mínim de 30 anys més (137). Igualment, sembla haver un efecte dominant exclusivament als homes.

En aquest treball es confirma la baixa presència de tumors VPH_{pos} a la població espanyola. Globalment s'ha detectat VPH en el 14% de la mostra, i en el 21% dels tumors d'orofaringe. Seria una xifra propera a la trobada a Holanda (29% de tumors orofaríngeis VPH_{pos} al 2010). El serotip oncogènic que s'ha associat a aquests tumors en el 90% de casos és el VPH-16, que és el que s'ha estudiat. Tot i així podria haver algun altre serotip que pogués associar-se al càncer d'orofaringe però encara roman es estudis preliminars la seva clarificació. D'aquesta manera, el 87% de la mostra estudiada s'ha classificat com a VPH_{neg}, la qual cosa es tradueix en els resultats d'efectivitat descrits prèviament.

La via PI3K/mTOR podria representar la ruta de senyalització més freqüentment activa al càncer de cap i coll, tant en casos VPH_{pos} com VPH_{neg}. S'ha estimat en un model *in vitro* l'activació de la via mTOR en base al percentatge de casos que expressaven pAkt i pS6 en tumors orals i faríngeis i s'ha obtingut que el 53% de casos VPH_{pos} i el 70% de casos VPH_{neg} expressaven pAkt en >50% de les cèl.lules tenyides, mentre que les xifres per pS6 eren de 72% als VPH_{pos} i 88% als VPH_{neg} (141). En un altre estudi s'ha estimat per immunohistoquímica en mostres de tumors, sense distinció d'estat VPH, i en base a la sobreexpressió de pmTOR (81.9%) i de p4E-BP1 (50%), afegint que les dades de sobreexpressió podien tenir variacions relativament àmplies depenent del marcador avaluat, la regió anatòmica i la part del tumor avaluada (142). En aquest treball, s'ha estimat la sobreexpressió de pmTOR en el 50% dels casos, la de pS6 en el 48% i la de p4E-BP1 en el 50%. PTEN és una fosfatasa que bloqueja la senyalització de PI3K, de manera que la seva pèrdua d'expressió comportaria l'activació de PI3K i acostumen a ser tumors agressius amb

pitjor evolució. S'ha estimat que aproximadament el 30% dels CCC han perdut l'expressió de PTEN per immunohistoquímica (143). En el present treball s'ha estimat la pèrdua d'expressió de PTEN en el 48% dels casos. Pel que respecta a HER3, la senyalització de PI3K/mTOR està relacionada amb freqüència a receptors tirosin quinassa dels quals HER3 n'és un dels millor caracteritzats. En el cas del CCC s'ha demostrat que HER3 pot contribuir a la resistència adquirida a inhibidors d'EGFR mitjançant heterodimerització (2,87). En aquest treball s'ha estimat la sobreexpressió de HER3 en un 23% dels casos. S'ha suggerit que $\geq 47\%$ dels CCC tenen 1 o més alteracions mol.leculars en aquesta ruta de senyalització (144). En aquest treball s'ha estimat l'activació de PI3K/mTOR mediada per HER3 en el 35% i s'ha associat a major FLR i menor SG.

Els primers estudis genòmics en CCC han permès identificar la via PI3K com la via oncogènica més freqüentment mutada en CCC (30.5%). El gen més mutat de la via era PIK3CA (12.6%) i les mutacions d'aquesta via van ser les úniques identificades en el 20% de tumors VPH_{pos}. També s'han identificat un guany del nombre de còpies (20% de casos) i sobreexpressió de mRNA (52% dels casos) del gen PIK3CA. També s'han descrit mutacions (4%) i pèrdua del nombre de còpies del gen (8.16%) de PTEN (145). Les alteracions de PIK3CA són més freqüents als tumors VPH_{pos}: en un estudi que fa una caracterització genòmica exhaustiva al CCC s'identifiquen alteracions de PIK3CA en el 34% dels casos VPH_{neg} i en el 56% dels VPH_{pos} (146). En aquest treball s'han identificat les mutacions millor caracteritzades de PIK3CA en un nombre limitat de casos i són xifres concordants amb casos VPH_{neg} (14%).

L'acumulació nuclear i detecció per immunohistoquímica del producte del gen TP53, descrit en el 50%-70% dels CCC, es fa servir amb freqüència com a marcador indirecte de la presència de mutacions que inactiven TP53 (147). Existeixen també mutacions de TP53 que no comporten la seva estabilització, o bé pot patir altres modificacions que poden influir en la seva degradació o activitat transcripcional. En aquest treball s'ha trobat que el 65% dels casos són positius per p53, en consonància amb estimacions prèvies (148). Està reconegut que l'alteració genètica més comú al CCC VPH_{neg} és la pèrdua funcional de p53 (103,104). Quan coexisteix amb l'activació de Akt poden fer sinèrgia per iniciar el desenvolupament d'un CCC i la seva progressió. També dóna suport la observació de que la desregulació de PIK3CA i de PTEN són events inicials al CCC.

Quan s'han examinat les possibles associacions dels marcadors avaluats amb els resultats clínics obtinguts s'han observat alguns fets diferencials. Les dades clíniques revelen un contrast marcat dels resultats, amb un gran percentatge de fallida loco-regional que

repercuteix en la supervivència dels malalts i un percentatge de fallida a distància que gairebé duplica les estimacions habituals recents, sent la fallida loco-regional la causa més probablement associada però on la meitat dels casos podria ser una fallida a distància exclusiva. Aquests resultats disten molt dels reportats per casos VPH_{pos} tot i restar pendent un seguiment prou llarg per conèixer millor la seva història natural. Tanmateix, s'ha de considerar que la percepció global és la d'una epidèmia en curs de tumors VPH_{pos} i una clara reducció dels tumors VPH_{neg} secundària a les efectives campanyes anti-tabac. Això significa que seguirà havent moltes zones geogràfiques on els tumors VPH_{neg} seguiran predominant, alhora que els esforços es concentren en una recerca intensiva adreçada als tumors VPH_{pos}. Un fet addicional que reforça aquesta perspectiva és que els tumors VPH_{neg} són genèticament molt més complexos que els VPH_{pos}. En aquest sentit i des d'una vessant clínica és que s'han avaluat les possibles associacions dels marcadors estudiats amb els objectius clínics. Diverses publicacions suggereixen l'interès de bloquejar la ruta mTOR al CCC. De fet, és l'àrea oncològica de recerca més intensiva, la de poder aconseguir un bloqueig complet/suficient de les rutes mitogèniques i anti-apoptòtiques tumorals amb la intenció de provocar una fallida en la plasticitat que aquestes tenen i que això suposi un col.lapse tumoral. En el cas del CCC estaria iniciant-se. El que no queda tant clar en aquests tumors tan complexos és com adreçar aquest coneixement. El que s'ha observat en aquest treball és que la ruta PI3K/mTOR condiona l'evolució de la malaltia. La proteïna S6 fosforilada (pS6), un indicador farmacodinàmic acceptat de mTOR, és el que millor reflexa les associacions amb FLR i SLP. El fet que HER3 no es relacioni amb la FLR fa pensar que participaria en una etapa més tardana associada a progressió de la malaltia en forma de fallida a distància. L'impacte de HER3 en la SLP seria menor donat que el principal patró de recaiguda en CCC és la FLR. Finalment, tot i les limitacions de la seva avaluació per immunotinció, p53 podria estar associada amb la FLR i la SLP.

En resum, aquests resultats suggereixen que la ruta PI3K/mTOR és biològicament activa al CCC, s'associa a pitjor pronòstic i que podria activar-se en base a diferents mecanismes compensatoris entre els quals estaria HER3. La **Figura 18** ho resumeix.

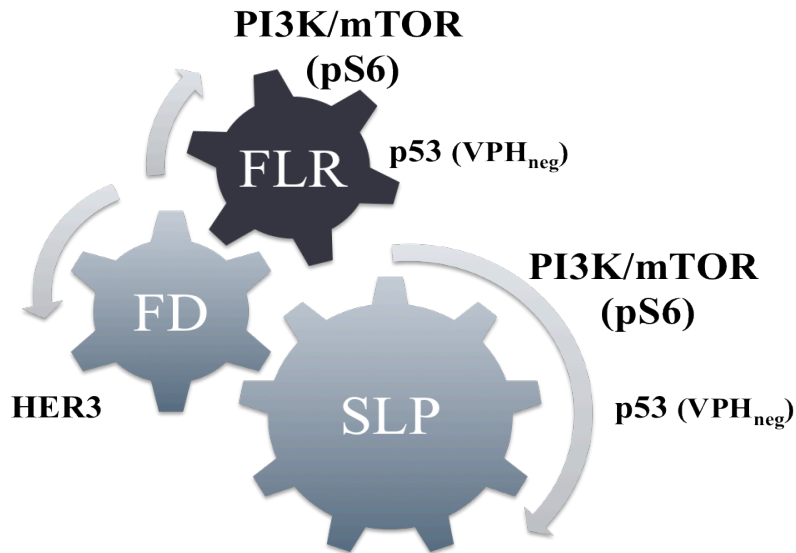


Figura 18. Resum esquemàtic de biomarcadors de pronòstic

5.4 Limitacions del treball

Aquest treball té les limitacions pròpies d'un estudi retrospectiu. No es poden evitar els biaixos de selecció, que en aquest cas venen donats per la població que es rep al HUVH per tractament i que sempre inclou malaltia molt avançada, i per la indicació d'anti-EGFR al tractament del CCC tot i que en aquesta sèrie un gran nombre de la mostra s'havia tractat en assajos clínics i la influència de l'edat avançada és menor que en altres sèries. A diferència del que passa habitualment amb estudis poblacionals, on les dades "fiables" acostumen a escasejar per la dependència de bases de dades etc, en aquest treball tota la informació està ben documentada i no s'han fet imputacions, fets que confereixen major credibilitat a la informació. Aquest treball també ha permès identificar una infrautilització dels tractaments amb cetuximab, en part degut als condicionants de la indicació aprovada però en bona mesura també a la reticència dels propis professionals que atenen aquests malalts (probablement per diverses causes). La conseqüència d'aquest fet ha estat la dificultat per poder reunir casos tractats amb cetuximab que, tot i recórrer a quatre centres nacionals, ha acabat sent menor a la inicialment prevista i ha estat limitant als estudis fets. Un aspecte important d'aquest tipus de treballs si les dades són rigoroses és que permeten adreçar aspectes que no es revisarien als assajos randomitzats. En aquest cas, el rol pronòstic que probablement tingui l'estat VPH en comparació als resultats d'altres sèries i el llarg seguiment de la mostra. Un condicionant de tots els estudis similars a aquest és l'edat avançada o l'excés de comorbiditat als casos tractats amb cetuximab, referit prèviament. El llarg seguiment pot proporcionar informació que inicialment era "oculta" o aclarir alguns aspectes dels tractaments rebuts. D'altra banda estan subjectes a diferents biaixos com la reclassificació de la malaltia en el temps, els canvis de

tractament, canvis a la biologia tumoral etc. Alguns d'ells són insalvables. En aquest treball i entenent les variacions que hagi pogut haver en el temps sobre el que es considera resposta al tractament i l'evolució posterior s'ha decidit aglutinar tots els aspectes relatius al tractament rebut, incloent la cirurgia post-RT, durant un període de 6 mesos des del diagnòstic i seguint uns criteris predefinitos classificar els casos com a fallida loco-regional o no (descriu al text). Finalment, l'estudi de marcadors s'ha pogut fer en aquells casos amb material suficient per estudi, fet que determina el petit tamany de la mostra i les conclusions que se'n puguin treure. Amb la confirmació que les dades clíniques són comparables a les comunment reportades en sèries més grans, el valor de l'estudi de marcadors és exploratori i generador d'idees que s'hauran de confirmar de manera més específica.

Conclusions

6 Conclusions

6.1 La importància del treball multidisciplinar ampli i de la dimensió del tractament seleccionat

El coneixement de la biologia tumoral i la selecció de malalts són criteris fonamentals en la presa racional de decisions. Al mateix temps es requereix poder desenvolupar un sistema que permeti la integració multidisciplinar de tots els aspectes relatius als tumors de la faringe, laringe i cavitat oral per facilitar la presa de decisions clínicament compartida. En un espai d'estancament terapèutic on el coneixement científic podrà oferir plantejaments de major eficàcia adaptada i l'èxit vindrà determinat per la capacitat integradora i crítica de què es pugui disposar, resulta fonamental conèixer la informació pròpia i tenir la capacitat per poder incorporar els nous coneixements del món oncològic.

Els conceptes bàsics relatius als canvis epidemiològics, les controvèrsies en les estratègies de tractament vigents, la importància de la recerca traslacional i els aspectes recents de la biologia tumoral en relació als tractaments amb radiacions al càncer de cap i coll localment avançat s'han presentat al **Capítol 1**. Són remarcables les dimensions de comorbiditat acompanyant, els hàbits tòxics encara molt presents al nostre medi, i la manca de conscienciació global per poder fer el diagnòstic abans.

És qüestionable la divergència que existeix entre els tractaments locals i els tractaments sistèmics, tot recordant que l'ampli creixement durant les passades dècades en els coneixements de la biologia tumoral i el desenvolupament biotecnològic han potenciat enormement la creació de fàrmacs "racionals" i que s'ha creat un sistema destinat a "aprendre racionalment", significat que hi ha la intenció de substituir progressivament la quimioteràpia clàssica per fàrmacs destinats a interferir en una funció important del tumor, i que amb el reforç constant dels nous conceptes en biologia tumoral i recolzant-se en ells fan que cada "petit èxit", potser d'uns mesos en l'objectiu d'eficàcia valorat, si la dimensió de racionalitat era proporcionada, es converteixi en un temps relativament curt en un canvi substancial en l'evolució d'una malaltia. D'exemples n'hi ha diversos i ben coneguts: el cas de la leucèmia mieloïde crònica, el dels GIST, el del càncer de mama HER2+, o el del càncer de pulmó amb mutacions d'EGFR. Per altra banda, els tractaments locals, cirurgia i radioteràpia, resten en l'àmbit de l'eficiència i "simplicitat" i romanen part significativa del tractament oncològic. És

en aquest procés de migració cap a una personalització de les malalties i del tractaments on s'ha de buscar i trobar la racionalitat. En les altres situacions, simplement és desinformació el no procedir segons les necessitats de la malaltia. Les situacions més difuses, on hi ha menys coneixement detallat, segueixen sent les més freqüents a la clínica diària, i al càncer de cap i coll en bona mesura.

Els primers a fer un seguit de reflexions segurament "incòmodes" són els mateixos especialistes que treballen en l'aspecte local dels tumors. A la part quirúrgica, el cap i coll segueix sent un bon exemple, tradicionalment s'ha valorat més com encabir els avenços quirúrgics que no pas justificar-los, basant-se en la possibilitat de rescat quirúrgic posterior (revisat de manera crítica a la ref. (149)). A la part de radioteràpia ha passat alguna cosa similar amb la selecció de malalts (revisat a la mateixa ref. prèvia). En els dos casos sembla haver hagut un cert "aïllament" durant aquestes últimes dècades de gran coneixement biològic que ha dificultat la seva adaptació. Seria paradoxal que el mateix que ha passat prèviament amb la cirurgia i la radioteràpia es repetís novament ara amb els avenços biològics. Seria responsabilitat de totes les especialitats que no fos així.

En resum, aquest capítol ha fet una reflexió sobre la necessitat de tenir valoracions completes dels casos i de poder concretar opinions no únicament de consens sinó ben dimensionades per cada cas, eixos bàsics dels resultats esperats, amb el repte afegit de ser capaços d'integrar noves aportacions biològiques i /o tecnològiques.

6.2 Possibles condicionants de l'ús d'anti-EGFR al tractament del càncer de cap i coll

Amb la hipòtesi de poder associar la senyalització de PI3K/mTOR i de HER3 als resultats clínics d'una cohort de càncer de cap i coll localment avançat tractada amb radioteràpia i cisplatí o anti-EGFR i de poder considerar els resultats d'interès suficient per plantejar el seu ús en assajos clínics que tractin malalts amb càncer de cap i coll (**Capítol 2**), s'ha dissenyat aquest estudi retrospectiu (**Capítol 3**). Amb les limitacions pròpies (revisades a l'**apartat 5.4**), les aportacions més destacades d'aquest treball són ser multiinstitucional, amb malalts de quatre centres nacionals i tractats de manera similar; presentar informació de llarg seguiment, que és relativament poc freqüent; i disposar de seguiment i valoracions complets en cada cas. La limitació més important és la d'un nombre limitat de casos amb material suficient per fer els estudis de marcadors.

Amb les publicacions al 2006 i 2010 dels resultats de cetuximab i radioteràpia en càncer localment avançat de cap i coll, juntament amb les corresponents a malaltia recurrent o metastàsica amb cetuximab i quimioteràpia, l'interès en aquesta patologia s'ha fet més aparent. Un aspecte molt discutit i gens aclarit és l'equivalència en eficàcia de cisplatí i de cetuximab associats a radioteràpia. Diversos estudis retrospectius publicats als darrers cinc anys suggereixen una major eficàcia de cisplatí (revisat a l'**apartat 5.2**). Per altra banda, durant aquest anys s'ha establert el que s'ha anomenat epidèmia de càncer de cap i coll associat al VPH, un perfil de malaltia i de malalts molt diferent del "clàssicament" associat al càncer de cap i coll. Queda també el dubte no resolt de si els casos VPH_{pos} simplement tenen millor pronòstic (que en base a dades retrospectives semblaria ser el cas) o bé si són tumors on els agents anti-EGFR tindrien major eficàcia (revisat als **apartats 1.7 i 5.3**). Aquests dubtes han generat 2 corrents divergents. Un proposa que en base al millor pronòstic dels tumors VPH_{pos} els seus tractaments no requereixen tanta agressivitat i plantegen desintensificar-los reduint la part d'irradiació del tractament (no sent aquesta la única o millor possibilitat). Un dels primers estudis avaluant aquesta possibilitat és un assaig fase II que tenia com a objectiu aconseguir una SLP $\geq 85\%$ als 2 anys per tal de considerar vàlid el concepte i seguir amb el seu desenvolupament (150). Els resultats presentats de manera preliminar han obtingut una dada "aproximada" però inferior al valor esperat per seguir endavant (90 pacients inclosos/80 analitzats/62 resposta completa, seguiment de 23 mesos que inclou 3 mesos per completar QT i re-avaluació, SLP als 2 anys del 84% al grup amb reducció dosi RT). No cal dir que els autors plantejaran un estudi fase III. Com a concepte sembla interessant però el nivell de coneixement actual i els condicionants afegits a l'interès del propi concepte recorden èpoques anteriors, amb resultats subòptims.

En l'altre extrem, i sense relació amb l'estat VPH, es proposa mantenir la intensitat del tractament mirant de reduir la toxicitat associada. Aquest plantejament ha trobat la seva oportunitat en els tractaments més intensius, els que plantegen fer QT d'inducció seguida de RQT concomitant. El confrontament existent entre la selecció de pacients amb pronòstic favorable fent QT i la pèrdua de malalts que puguin completar la part local posteriorment (per toxicitat o deteriorament majorment) ha fet necessari recórrer a la opció de cetuximab i RT amb la finalitat de reduir la toxicitat. Una vegada més, el cas s'ha plantejat per tumors que requereixen laringectomia total (és a dir, que són rescatables) en un estudi fase II francès. Els resultats mostren dades dels malalts que han pogut completar el tractament (aproximadament el 25% no el completen) i la dada més rellevant de cara a aquest treball és una major FLR (amb possibilitat de rescat quirúrgic!). A banda de les discussions específiques, són dos escenaris prou diferents que posen de manifest que la FLR no es pot infravalorar, inclús en

situacions de suposat millor pronòstic, i que cetuximab influeix en la FLR (revisat als **apartats 1.5 i 1.7**).

El **Capítol 4** mostra els resultats clínics de la present sèrie i coincideix amb la informació revisada al paràgraf previ. El factor més influent en els resultats clínics és el fàrmac administrat, amb diferències clares en FLR, SLP, SG i SE (revisat al **Capítol 4** i a l'**apartat 5.2**). Mentre els resultats obtinguts amb cisplatí són similars als d'altres sèries les dades amb anti-EGFR són bastant inferiors (revisat a l'**apartat 5.2**). Confirma l'aspecte rellevant de l'efecte dels anti-EGFR en la FLR, essent aquesta la causa més rellevant de fallida a distància. Val a dir que una majoria àmplia d'aquesta mostra era VPH_{neg} i que la presència de tumors d'orofaringe no era massa alta. Pel que fa a la FD, i amb certa distorsió pel limitat nombre de casos, podria haver un grup representatiu que presentés FD sense FLR (en aquests casos està documentat que a nivell loco-regional no havia malaltia residual). Si això es confirmés en altres estudis, serien casos a considerar de manera separada. Extrapolant la informació d'estudis similars juntament amb la d'aquest, semblaria que com més avançada sigui la malaltia, sobretot a nivell local, major dificultat per evitar la FLR amb anti-EGFR. Resten per aclarir les possibles diferències que l'estat VPH pogués condicionar.

6.3 Associant els resultats clínics a biomarcadors i estratègies de tractament

Tot i haver presentat un contrast marcat entre els resultats clínics dels tractats amb cisplatí o anti-EGFR, les dades a 5 anys del grup més favorable segueixen sent subòptimes. En el cas dels tractats amb cisplatí (als 5 anys) la SG va ser del 54%, la SE del 50%, la SLP del 46%, la FLR del 42% i la FD del 29%. Assumint que la radiosensibilització de cisplatí i anti-EGFR segueixen mecanismes d'acció diferents i alhora entenent que l'efecte propi de les radiacions és un gran condicionant dels efectes finals obtinguts, s'ha fet una anàlisi conjunta dels biomarcadors als 46 pacients amb material disponible, 23 en cada cas. La intenció és exploratòria, tot i que podria tenir una aplicació més pròxima pels anti-EGFR donat que es realitzen molt pocs estudis sobre la radiosensibilització del cisplatí a nivell mol.lecular.

En relació a l'estat VPH de la mostra, només un 14% del global i un 21% dels tumors d'orofaringe van ser VPH_{pos}, situació contraposada a la que es dona en altres àrees geogràfiques (revisat a l'**apartat 5.3**). Per tant, una àmplia majoria de la mostra és VPH_{neg}. En aquest sentit, només afegir que aproximadament la meitat dels casos VPH_{pos} identificats estaven en localitzacions atípiques (laringe/hipofaringe) i que la seva evolució va ser, en

general, desfavorable. Si es confirmés que la localització de la infecció VPH del tumor influeix en el pronòstic seria una dificultat afegida a la interpretació de l'estat VPH. És destacable que una àmplia majoria eren fumadors severs i que virtualment tots ho havien estat, sabent que ser fumador és un potent factor pronòstic.

Malgrat les teràpies anti-EGFR hagin suposat un benefici clínic en el tractament del càncer de cap i coll finalment acabarà apareixent resistència al tractament utilitzat. La resistència pot ser primària (quan no hi ha una resposta inicial al fàrmac) o adquirida (després d'haver presentat una resposta al fàrmac). I el mateix mecanisme mol.lecular pot causar els dos tipus de resistència, fet que remarca el grau de solidesa que presenta la biologia tumoral. Els plantejaments utilitzats per estudiar els mecanismes de resistència inclouen el manteniment de línies cel.lulars i xenoempelts en presència del fàrmac fins que es facin resistents, infectar línies cel.lulars sensibles amb shRNA o similar per identificar gens que amb la seva expressió o pèrdua generen resistència, o bé els anomenats "programes de biòpsia" on els tumors es biopsien sistemàticament a mida que es van fent resistents per avaluar possibles canvis mol.leculars adquirits associats a la resistència. Tots aquests sistemes tenen limitacions; habitualment els anticossos anti-EGFR s'utilitzen amb radioteràpia o quimioteràpia a la clínica però els models es generen com a agents únics. Altres plantejaments per detectar possibles mecanismes de resistència provenen d'estudis correlatius en què els pacients han estat tractats amb anticossos anti-EGFR.

L'activitat dels anticossos anti-EGFR s'ha relacionat en bona mesura a la supressió de la senyalització mediada per PI3K/AKT i MAPK. En conseqüència, molts càncer són resistents a l'efecte d'un agent únic anti-EGFR perquè si més no una d'aquestes vies segueix activa malgrat estar inhibit el receptor. Aquest mecanisme de resistència es coneix com "efecte bypass" i sembla estar present al càncer de cap i coll. En un model preclínic es va observar que la combinació d'un anticòs monoclonal amb un inhibidor de tirosin quinassa, els dos anti-EGFR, suposava una major inhibició de la senyalització de PI3K/AKT i MAPK i un major efecte antiproliferatiu (1). En un model de resistència adquirida a agents anti-EGFR es va detectar la heterodimerització de EGFR amb HER3 com a causa de la persistent activació de PI3K/AKT (2,87), i posteriorment es va observar un potent efecte antiproliferatiu amb el bloqueig de EGFR i HER3 en aquest model de resistència amb l'afegit de tenir un efecte radiosensibilitzador associat a la regulació de la reparació del dany induït, de la progressió del cicle cel.lular i de la inducció d'apoptosi (151). Tota aquesta informació fa pensar que HER3 està implicat en la resistència a EGFR i que el seu bloqueig pot aconseguir una major radiosensibilització (revisat a l'**apartat 5.3**). Una publicació recent descriu que els nivells de heregulina, un ligand de HER3, s'associen a pitjor supervivència en càncer d'orofaringe (73%

eren VPH_{pos}) i plantegen l'ús d'anti-HER3 a tumors d'orofaringe amb nivells alts de heregulina (152).

Seguint amb la idea de HER3 com a inductor de resistència a tractaments i com a mecanisme de progressió oncològica de la malaltia, s'han observat associacions entre HER3 i malaltia metastàsica. S'ha proposat que la seva identificació a la biòpsia diagnòstica de càncer rectal podria suggerir major risc de desenvolupar metàstasis (153); o bé que podria ser un factor de risc per desenvolupar metàstasis cerebrals en càncer de mama, especialment si és HER2+, i en base als canvis en la permeabilització vascular derivats de les interaccions de heregulina amb metaloproteases de la matriu extracel.lular (154). Recentment s'ha demostrat en models de càncer de pulmó que cetuximab pot estimular la síntesi de fibronectina i atenuar els seus efectes radiosensibilitzadors (155). La irradiació també indueix la síntesi proteïca i el remodelat de la matriu extracel.lular, suggerint la seva participació en els fenòmens de resistència. Es necessiten més estudis per entendre millor aquests processos.

Mentre la part proximal de la via PI3K/AKT ha centrat el gruix de l'atenció per estar profundament desregulada en múltiples càncers (revisat a l'**apartat 5.3**), la part distal de la via, centrada en mTOR, ha quedat més desplaçada. Malgrat la biologia fortament suggereixi que la interferència de les vies de PI3K hauria de ser clínicament rellevant, la dramàtica resposta esperada amb els inhibidors de PI3K no s'ha confirmat als assajos clínics. L'esforç s'ha centrat bàsicament en la inhibició de PIK3CA, bàsicament als tumors amb mutacions de PIK3CA, que representen el 11% dels tumors de cap i coll VPH_{neg} i el 33% dels VPH_{pos}. Els inhibidors pan-PI3K de classe I consecueixen inhibir totes les subunitats catlítiques de PI3K però són menys potents. Existeixen dades clíniques de l'associació de mTOR amb pitjor pronòstic al càncer de cap i coll però els fenòmens de "rebot" (inducció de senyalització compensatòria per mecanismes de retroalimentació) comprometen la seva eficàcia. Informació preliminar recent suggereix que everolimus es pot combinar amb químic i radioteràpia en CCC amb taxes de SLP de 77%-85% als 2 anys, respectivament, amb eIF4E com a potencial biomarcador d'eficàcia (156,157). 4E-BP1 i eIF4E són efectors distals de mTOR implicats en la traducció proteïca, de manera que amb la seva funcionalitat es "fabricarien" proteïnes que promouen la supervivència cel.lular. 4E-BP1 fa d'activador/repressor i eIF4E fa d'efector, i ambdós s'han relacionat amb pitjor pronòstic en diferents càncers (158,159). Altres estudis preliminars, preferentment en tumors VPH_{pos}, suggereixen que rapamicina, via inhibició de pS6 i pAKT^{S473}, és eficaç al tractament del CCC, però que combinat amb cetuximab obtenia un gran efecte en casos amb mutacions de PIK3CA o HRAS. Les mutacions de PIK3CA o qualsevol altra mecanisme que convergeixi a la senyalització de mTOR pot ser causa de resistència a cetuximab (141).

Com a exemple integrador de tota aquesta informació, en un context tumoral on hi ha una abundant expressió de EGFR i una alta activitat de la ruta PI3K/AKT; on es pot aconseguir un efecte antiproliferatiu amb inhibidors de EGFR o de PI3K/AKT; i que eventualment la seva eficàcia queda limitada (resistència); s'ha identificat HER3 com a factor limitant. S'ha proposat que el bloqueig de PI3K/AKT, EGFR i HER3 en aquest context podria obtenir una eficàcia continuada. Aquesta investigació correspon a càncer de mama triple negatiu (160).

A banda de l'associació entre l'activitat basal de la senyalització mTOR i mal pronòstic, el component avaluat que millor identifica la relació en aquest treball és pS6, un dels components distals d'aquesta via (revisat a l'**apartat 5.3**). Un mètode utilitzat per alguns grups per tal d'identificar interaccions en vies compensatòries que identifiquin potencials mecanismes de resistència adaptativa és el rastreig de combinacions de fàrmacs. Basant-se en la senyalització compensatòria induïda en resposta a un tractament dirigit com a mecanisme de resistència, i en la possibilitat de combinar el fàrmac primari amb un de "secundari" dirigit contra una via compensatòria s'ha intentat trobar combinacions sinèrgiques. Aquest sistema ha permès identificar interaccions "esperades" (de les que ja existeix certa informació) i d'altres novedoses. Per exemple, entre les esperades estaria la inhibició de EGFR i de PI3K, que combinades tindrien efecte sinèrgic. Entre les novedoses estaria la inhibició de EGFR i de pS6. Aquests estudis preclínic s'han realitzat en línies cel·lulars de CCC, incloses VPH_{neg}. Un pas més seria poder entendre el mecanisme d'interacció entre dues vies que amb el seu bloqueig combinat condicionen sinèrgia. En aquest cas s'ha observat que un mecanisme compensatori de la inhibició de pS6 seria l'activació de ERK. Aquest podria ser el cas d'un d'aquests fenòmens de rebot no ben caracteritzat. De la mateixa manera, s'ha observat que podria haver una altra interacció amb BAD (una proteïna pro-apoptòtica), de manera que el bloqueig combinat de EGFR i pS6 restauraria l'efecte pro-apoptòtic (BAD estaria "desactivada" per un efecte mediat per ERK o pS6), consistent amb major apoptosi amb la combinació (161). Com a reforç d'aquesta proposta, amb aquest sistema s'ha identificat el que es creu que podria ser el node associat a la sinèrgia del bloqueig combinat de la família HER i de la senyalització PI3K, que seria pS6. El seu bloqueig específic pot recapitular l'efecte observat amb el bloqueig combinat i suggeriria que està relacionat amb l'increment d'apoptosi. Resulta de gran interès que s'hagi identificat en un model de CCC VPH_{neg}, sense mutació de PIK3CA i amb PTEN íntegre (162), situació freqüent a la present mostra.

Les dades del TCGA confirmen el que es coneixia des de fa temps en relació a la forta implicació de les alteracions de p53 al CCC (146), essent altament complexes i determinants als casos VPH_{neg}. Degut a la seva funció supressora i a l'alt grau d'alteracions genètiques acumulades als casos VPH_{neg} no s'han pogut generar estratègies correctores. Una dada

freqüent, doncs, als estudis de resistència a anti-EGFR és la participació de p53. Així, s'ha observat en models VPH_{pos} que la pèrdua d'expressió de p53 comporta la pèrdua d'efecte dels anti-EGFR, que pot recuperar-se amb la seva restauració (3). En aquest treball, que no ha fet una avaluació dels possibles mecanismes associats, s'ha observat que la sobreexpressió de p53 (associat a p53 mutant) s'associa a pitjor control. Serà d'interès poder conèixer millor els mecanismes implicats en les alteracions de p53 i les potencials àrees d'intervenció.

6.4 Comentaris finals

La radioteràpia segueix sent, un segle després de la seva invenció i malgrat els avenços en altres disciplines, el tractament citotòxic més efectiu pel tractament de tumors sòlids localitzats. Al mateix temps requereix prendre consciència dels fenòmens associats a la irradiació per incloure intervencions biològiques dirigides que puguin ser integrades a les estratègies de tractament. Malgrat la complexitat de les respostes a la radiació s'han descrit conceptes prou sòlids sobre com múltiples rutes de senyalització poden integrar els coneixements que tenim de radiosensibilització i radiotoxicitat.

En aquest sentit, els mecanismes de reparació del DNA són dianes òbvies per intervencions dirigides a optimitzar el benefici de la irradiació. La particularitat de les radiacions ionitzants com a tractament antitumoral rau en l'habilitat en generar lesion letals. Un dels punts de trobada més interessants a la radiobiologia moderna és la relació entre senyalització de factors de creixement i reparació del DNA, exemplificada per EGFR i que ha esdevingut un paradigma de radioresistència mediada per factors de creixement. Mecanismes potencials de radiosensibilització mediada per inhibició de EGFR són l'aturada en G1 via p53 i dificultar la translocació nuclear de EGFR post-irradiació, que facilitaria la reparació del DNA. Semblaria que senyals del microambient també podrien influir en el resultat final, fent que la complexitat d'aquest nivell d'integració de senyals governat per factors de creixement i els seus receptors dificultin molt identificar biomarcadors de pronòstic fiables. És per aquest motiu que resulta d'interès un canvi de paradigma en els objectius i plantejaments de la radioteràpia de manera que coneixent la funcionalitat d'aquests mecanismes es pugui determinar de quina manera la irradiació pot contribuir a l'estratègia de tractament, bé sigui adreçada a la reparació del DNA, al bloqueig de factors de creixement, al microambient tumoral, o a d'altres aspectes rellevants.

6.5 Conclusions

Sobre l'estudi descriptiu:

- Estudi multiinstitucional retrospectiu en càncer de cap i coll avançat tractat amb radioteràpia i cisplatí (n=70) o anti-EGFR (n=36) on destaquen: malaltia molt avançada (49% T4 i 69% N2-3); limitada presència de tumors d'orofaringe (40%); extraordinari nombre de fumadors (77%) i bebedors (70%); presència important de comorbiditats greus (38%); distribució prou equilibrada entre els dos fàrmacs (només destaca presència de malalts ≥ 71 anys tractats amb anti-EGFR amb la mateixa mediana d'edat als dos grups).
- El tractament s'ha completat de la manera prevista en el 54.7%, de manera similar a d'altres sèries, sense diferències pel que fa a la irradiació (98%) i amb major freqüència pels anti-EGFR (60.7%) que per cisplatí (50%). El 97% de casos ha rebut 2 dosis de cisplatí o 6 de cetuximab/1 de panitumumab.

Sobre l'efectivitat del tractament:

- S'han observat diferències remarcables en totes les variables estudiades, a favor del cisplatí, amb aproximadament el doble de fallida loco-regional i la meitat de supervivència específica als casos tractats amb anti-EGFR. Els resultats amb cisplatí (fallida loco-regional, 42%; supervivència específica, 50% als 5 anys) són similars als d'altres sèries però no són òptims.
- La fallida a distància a la mostra ha estat del 27%; essent aproximadament el doble per anti-EGFR (42% vs 21% als 2 anys), s'ha multiplicat per 4 quan hi ha fallida loco-regional i s'ha triplicat per tumors d'hipofaringe/laringe. La meitat de les fallides a distància han estat sense fallida loco-regional, amb un risc 5 vegades major per tumors d'hipofaringe/laringe i del triple per tumors T4.

Sobre els biomarcadors avaluats:

- Molt baixa presència de VPH-16 (PCR): 14% de la mostra, 21% d'orofaringe, 42% a localitzacions atípiques, i 3/4 parts tractats amb anti-EGFR. Majorment, mala evolució (3/4 parts moren del tumor).

- Activació de HER3/PI3K/mTOR associada a fallida loco-regional i supervivència global, amb pS6 com a potencial indicador pronòstic i HER3 potencialment implicat en la fallida a distància, pendent de validació. Baixa presència de mutacions de PIK3CA (11%).
- Immunotinció de p53 associada amb fallida loco-regional.

Annex

7 Annex

7.1 Annex 1. Treballs publicats prèviament en la mateixa línia de recerca ("Interaccions EGFR/radiacions")

Publicacions associades a beca de formació en recerca (BEFI 02/9365) durant període 2003-2005 a la Universitat de Wisconsin-Madison, EUA.

Llistat de publicacions:

Dual-agent molecular targeting of the epidermal growth factor receptor (EGFR): combining anti-EGFR antibody with tyrosine kinase inhibitor. Huang S, Armstrong EA, **Benavente S**, Chinnaiyan P, Harari PM. *Cancer Res.* 2004;64(15):5355-62.

Establishment and characterization of a model of acquired resistance to epidermal growth factor receptor targeting agents in human cancer cells. **Benavente S**, Huang S, Armstrong EA, Chi A, Hsu KT, Wheeler DL, Harari PM. *Clin Cancer Res.* 2009;15(5):1585-92. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2068.

Mechanisms of acquired resistance to cetuximab: role of HER (ErbB) family members. Wheeler DL, Huang S, Kruser TJ, Nechrebecki MM, Armstrong EA, **Benavente S**, Gondi V, Hsu KT, Harari PM. *Oncogene.* 2008;27(28):3944-56. doi:10.1038/onc.2008.19.

p53 modulates acquired resistance to EGFR inhibitors and radiation. Huang S, **Benavente S**, Armstrong EA, Li C, Wheeler DL, Harari PM. *Cancer Res.* 2011;71(22):7071-9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0128.

Referències

8 Referències

1. Huang S, Armstrong EA, Benavente S, Chinnaiyan P, Harari PM. Dual-agent molecular targeting of the epidermal growth factor receptor (EGFR): Combining anti-EGFR antibody with tyrosine kinase inhibitor. *Cancer Res.* 2004;64:5355–62.
2. Wheeler DL, Huang S, Kruser TJ, Nechrebecki MM, Armstrong EA, Benavente S, et al. Mechanisms of acquired resistance to cetuximab: role of HER (ErbB) family members. *Oncogene.* 2008;27(28):3944–56.
3. Huang S, Benavente S, Armstrong EA, Li C, Wheeler DL, Harari PM. p53 modulates acquired resistance to EGFR inhibitors and radiation. *Cancer Res.* 2011;71(22):7071–9.
4. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2015.* Atlanta: American Cancer Society; 2015.
5. de Souza DLB, Bernal Pérez MM, Curado MP. Predicted incidence of oral cavity, oropharyngeal, laryngeal, and hypopharyngeal cancer in Spain and implications for cancer control. *Cancer Epidemiol.* 2011;35(6):510–4.
6. Pulte D, Brenner H. Changes in survival in head and neck cancers in the late 20th and early 21st century: a period analysis. *Oncologist* 2010;15:994-1001.
7. Sturgis EM, Cinciripini PM. Trends in head and neck cancer incidence in relation to smoking prevalence: An emerging epidemic of human papillomavirus-associated cancers? *Cancer* 2007;110(7):1429–35.
8. Marron M, Boffetta P, Zhang Z-F, Zaridze D, Wunsch-Filho V, Winn DM, et al. Cessation of alcohol drinking, tobacco smoking and the reversal of head and neck cancer risk. *Int J Epidemiol.* 2010;39(1):182–96.
9. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(9):709–20.
10. Veldeman L, Madani I, Hulstaert F, De Meerleer G, Mareel M, De Neve W. Evidence behind use of intensity-modulated radiotherapy: a systematic review of comparative clinical studies. *Lancet Oncol.* 2008;9(4):367–75.
11. Nutting CM, Morden JP, Harrington KJ, Urbano TG, Bhide SA, Clark C, et al. Parotid-sparing intensity modulated versus conventional radiotherapy in head and neck cancer (PARSPORT): A phase 3 multicentre randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(2):127–36.
12. Kam MK, Leung SF, Zee B, Chau RM, Suen JJ, Mo F, et al. Prospective randomized study of intensity-modulated radiotherapy on salivary gland function in early-stage nasopharyngeal carcinoma patients. *J Clin Oncol.* 2007;25(31):4873–9.
13. Pow EHN, Kwong DLW, McMillan AS, Wong MCM, Sham JST, Leung LHT, et al. Xerostomia and quality of life after intensity-modulated radiotherapy vs. conventional radiotherapy for early-stage nasopharyngeal carcinoma: Initial report on a randomized controlled clinical trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;66(4):981–91.
14. Feng FY, Kim HM, Lyden TH, Haxer MJ, Feng M, Worden FP, et al. Intensity-modulated radiotherapy of head and neck cancer aiming to reduce dysphagia: Early dose-effect relationships for the swallowing structures. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007;68(5):1289–98.
15. Eisbruch A, Kim HM, Feng FY, Lyden TH, Haxer MJ, Feng M, et al. Chemo-IMRT of oropharyngeal cancer aiming to reduce dysphagia: Swallowing organs later complication probabilities and dosimetric correlates. *Dysphagia* 2012;27(3):439.
16. Nuyts S, Lambrecht M, Duprez F, Daisne J-F, Van Gestel D, Van den Weyngaert D, et al. Reduction of the dose to the elective neck in head and neck squamous cell carcinoma, a randomized clinical trial using intensity modulated radiotherapy (IMRT). Dosimetrical analysis and effect on acute toxicity. *Radiother Oncol.* 2013;109(2):323–9.
17. Mendenhall WM, Amdur RJ, Palta JR. Intensity-modulated radiotherapy in the standard management of head and neck cancer: promises and pitfalls. *J Clin Oncol.* 2006;24(17):2618–23.
18. Chao KSC, Wippold FJ, Ozyigit G, Tran BN, Dempsey JF. Determination and delineation of nodal target volumes for head-and-neck cancer based on patterns of failure in patients receiving definitive and postoperative IMRT. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;53(5):1174–84.
19. Eisbruch A, Foote RL, O’Sullivan B, Beitler JJ, Vikram B. Intensity-modulated radiation

- therapy for head and neck cancer: emphasis on the selection and delineation of the targets. *Semin Radiat Oncol.* 2002;12(3):238–49.
20. Grégoire V, Ang K, Budach W, Grau C, Hamoir M, Langendijk JA, et al. Delineation of the neck node levels for head and neck tumors: A 2013 update. DAHANCA, EORTC, HKNPCSG, NCIC CTG, NCRI, RTOG, TROG consensus guidelines. *Radiother Oncol.* 2014;110(1):172–81.
 21. Daisne J-F, Duprez T, Weynand B, Lonneux M, Hamoir M, Reychler H, et al. Tumor volume in pharyngolaryngeal squamous cell carcinoma: comparison at CT, MR imaging, and FDG PET and validation with surgical specimen. *Radiology* 2004;233(1):93–100.
 22. King AD, Tse GMK, Ahuja AT, Yuen EHY, Vlantis AC, To EWH, et al. Necrosis in metastatic neck nodes: diagnostic accuracy of CT, MR imaging, and US. *Radiology* 2004;230(3):720–6.
 23. Lambrecht M, Van Herck H, De Keyzer F, Vandecaveye V, Slagmolen P, Suetens P, et al. Redefining the target early during treatment. Can we visualize regional differences within the target volume using sequential diffusion weighted MRI? *Radiother Oncol.* 2014;110(2):329–34.
 24. Withers HR. Biologic basis for altered fractionation schemes. *Cancer* 1985;55(9 Suppl):2086–95.
 25. Fu KK, Pajak TF, Trotti A, Jones CU, Spencer S a., Phillips TL, et al. A radiation therapy oncology group (RTOG) phase III randomized study to compare hyperfractionation and two variants of accelerated fractionation to standard fractionation radiotherapy for head and neck squamous cell carcinomas: First report of RTOG 9003. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;48(1):7–16.
 26. Bourhis J, Overgaard J, Audry H, Ang KK, Saunders M, Bernier J, et al. Hyperfractionated or accelerated radiotherapy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Lancet* 2006;368(9538):843–54.
 27. Overgaard J, Hansen HS, Specht L, Overgaard M, Grau C, Andersen E, et al. Five compared with six fractions per week of conventional radiotherapy of squamous-cell carcinoma of head and neck: DAHANCA 6 and 7 randomised controlled trial. *Lancet* 2003;362(9388):933–40.
 28. Wendt TG, Grabenbauer GG, Rodel CM, Thiel HJ, Aydin H, Rohloff R, et al. Simultaneous radiochemotherapy versus radiotherapy alone in advanced head and neck cancer: a randomized multicenter study. *J Clin Oncol.* 1998;16(4):1318–24.
 29. Calais G, Alfonsi M, Bardet E, Sire C, Germain T, Bergerot P, et al. Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute* 1999;91(24):2081–86.
 30. Brizel DM, Albers ME, Fisher SR, Scher RL, Richtsmeier WJ, Hars V, et al. Hyperfractionated irradiation with or without concurrent chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *N Engl J Med.* 1998;338(25):1798–1804.
 31. Denis F, Garaud P, Bardet E, Alfonsi M, Sire C, Germain T, et al. Late toxicity results of the GORTEC 94-01 randomized trial comparing radiotherapy with concomitant radiochemotherapy for advanced-stage oropharynx carcinoma: Comparison of LENT/SOMA, RTOG/EORTC, and NCI-CTC scoring systems. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;55(1):93–8.
 32. Jeremic B, Shibamoto Y, Stanisavljevic B, Milojevic L, Milicic B, Nikolic N. Radiation therapy alone or with concurrent low-dose daily either cisplatin or carboplatin in locally advanced unresectable squamous cell carcinoma of the head and neck: A prospective randomized trial. *Radiother Oncol.* 1997;43(1):29–37.
 33. Rooney M, Kish J, Jacobs J, Kinzie J, Weaver A, Crissman J, et al. Improved complete response rate and survival in advanced head and neck cancer after three-course induction therapy with 120-hour 5-FU infusion and cisplatin. *Cancer* 1985;55(5):1123–8.
 34. The Department of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study Group. Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. The Department of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study Group. *N Engl J Med.* 1991;324(24):1685–90.
 35. Adelstein DJ, Li Y, Adams GL, Wagner H, Kish JA, Ensley JF, et al. An intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003;21(1):92–8.
 36. Hitt R, Grau JJ, López-Pousa A, Berrocal A, García-Girón C, Irigoyen A, et al. A randomized phase III trial comparing induction chemotherapy followed by chemoradiotherapy versus

- chemoradiotherapy alone as treatment of unresectable head and neck cancer. *Ann Oncol.* 2014;25(1):216–25.
37. Haddad R, O'Neill A, Rabinowits G, Tishler R, Khuri F, Adkins D, et al. Induction chemotherapy followed by concurrent chemoradiotherapy (sequential chemoradiotherapy) versus concurrent chemoradiotherapy alone in locally advanced head and neck cancer (PARADIGM): A randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(3):257–64.
 38. Cohen EEW, Karrison TG, Kocherginsky M, Mueller J, Egan R, Huang CH, et al. Phase III Randomized Trial of Induction Chemotherapy in Patients With N2 or N3 Locally Advanced Head and Neck Cancer. *J Clin Oncol.* 2014;32(25):2735–43.
 39. Pignon JP, Maître A Le, Maillard E, Bourhis J. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): An update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother Oncol.* 2009;92(1):4–14.
 40. Blanchard P, Baujat B, Holostenco V, Bourredjem A, Baey C, Bourhis J, et al. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): A comprehensive analysis by tumour site. *Radiother Oncol.* 2011;100(1):33–40.
 41. Huguenin P, Beer KT, Allal A, Ruffbach K, Friedli C, Davis JB, et al. Concomitant cisplatin significantly improves locoregional control in advanced head and neck cancers treated with hyperfractionated radiotherapy. *J Clin Oncol.* 2004;22(23):4665–73.
 42. Bachaud JM, Cohen-Jonathan E, Alzieu C, David JM, Serrano E, Daly-Schweitzer N. Combined postoperative radiotherapy and weekly cisplatin infusion for locally advanced head and neck carcinoma: Final report of a randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996;36(5):999–1004.
 43. Wee J, Tan EH, Tai BC, Wong HB, Leong SS, Tan T, et al. Randomized trial of radiotherapy versus concurrent chemoradiotherapy followed by adjuvant chemotherapy in patients with American Joint Committee on Cancer/International Union against cancer stage III and IV nasopharyngeal cancer of the endemic variety. *J Clin Oncol.* 2005;23(27):6730–8.
 44. Peters LJ, O'Sullivan B, Giralt J, Fitzgerald TJ, Trotti A, Bernier J, et al. Critical impact of radiotherapy protocol compliance and quality in the treatment of advanced head and neck cancer: Results from TROG 02.02. *J Clin Oncol.* 2010;28(18):2996–3001.
 45. Stojan P, Vermorken JB, Beitler JJ, Saba NF, Haigentz M, Bossi P, et al. Cumulative cisplatin dose in concurrent chemoradiotherapy for head and neck cancer: A systematic review. *Head Neck* 2015. doi: 10.1002/hed.24026. [Epub ahead of print].
 46. Ang KK. Concurrent radiation chemotherapy for locally advanced head and neck carcinoma: are we addressing burning subjects? *J Clin Oncol.* 2004;22(23):4657–9.
 47. Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-tân PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2010;363:24–35.
 48. Quon H, Leong T, Haselow R, Leipzig B, Cooper J, Forastiere A. Phase III study of radiation therapy with or without cis-platinum in patients with unresectable squamous or undifferentiated carcinoma of the head and neck: An intergroup trial of the Eastern Cooperative Oncology Group (E2382). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(3):719–25.
 49. Jeremic B, Milicic B, Dagovic A, Vaskovic Z, Tadic L. Radiation therapy with or without concurrent low-dose daily chemotherapy in locally advanced, nonmetastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2004;22(17):3540–8.
 50. Fountzilas G, Ciuleanu E, Dafni U, Plataniotis G, Kalogera-Fountzila A, Samantas E, et al. Concomitant radiochemotherapy vs radiotherapy alone in patients with head and neck cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group phase III study. *Med Oncol.* 2004;21(2):95–107.
 51. Sharma a., Mohanti BK, Thakar a., Bahadur S, Bhasker S. Concomitant chemoradiation versus radical radiotherapy in advanced squamous cell carcinoma of oropharynx and nasopharynx using weekly cisplatin: A phase II randomized trial. *Ann Oncol.* 2010;21(11):2272–7.
 52. Ghadjar P, Simcock M, Studer G, Allal AS, Ozsahin M, Bernier J, et al. Concomitant cisplatin and hyperfractionated radiotherapy in locally advanced head and neck cancer: 10-year follow-up of a randomized phase III trial (SAKK 10/94). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(2):524–31.
 53. Loong HH, Ma BBY, Leung SF, Mo F, Hui EP, Kam MK, et al. Prognostic significance of the total dose of cisplatin administered during concurrent chemoradiotherapy in patients with locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma. *Radiother Oncol.* 2012;104(3):300–4.
 54. Hoebbers FJP, Heemsbergen W, Balm AJM, van Zanten M, Schornagel JH, Rasch CRN. Concurrent chemoradiation with daily low dose cisplatin for advanced stage head and neck

- carcinoma. *Radiother Oncol.* 2007;85(1):42–7.
55. Wong SJ, Li L, Hess LM, Chen AY, Curran WJ, Harari PM, et al. Utilization and outcomes of low dose versus high dose cisplatin in head and neck cancer patients receiving concurrent radiation. *J Clin Oncol.* 2015;33(15_suppl):6019.
 56. Chung CH, Zhang Q, Kong CS, Harris J, Fertig EJ, Harari PM, et al. p16 protein expression and human papillomavirus status as prognostic biomarkers of nonoropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2014;32(35):3930-8.
 57. Masterson L, Moualed D, Masood A, Dwivedi RC, Benson R, Sterling JC, et al. De-escalation treatment protocols for human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2014;50:2636-48.
 58. Kalyankrishna S, Grandis JR. Epidermal growth factor receptor biology in head and neck cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24:2666-72.
 59. Temam S, Kawaguchi H, El-Naggar AK, Jelinek J, Tang H, Liu DD, 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.
 60. Chung CH, Ely K, McGavran L, Varella-Garcia M, Parker J, Parker N, 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(25):4170–6.
 61. Rubin Grandis J, Melhem MF, Gooding WE, Day R, Holst V a, Wagener MM, 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(11):824–32.
 62. Ang KK, Berkey B a, Tu X, Zhang H-Z, Katz R, Hammond EH, 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(24):7350–6.
 63. Bentzen SM, Atasoy BM, Daley FM, Dische S, Richman PI, Saunders MI, et al. Epidermal growth factor receptor expression in pretreatment biopsies from head and neck squamous cell carcinoma as a predictive factor for a benefit from accelerated radiation therapy in a randomized controlled trial. *J Clin Oncol.* 2005;23(24):5560–7.
 64. Wheeler S, Siwak DR, Chai R, LaValle C, Seethala RR, Wang L, et al. Tumor epidermal growth factor receptor and EGFR PY1068 are independent prognostic indicators for head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2012;18(8):2278–89.
 65. Harari PM, Allen GW, Bonner JA. Biology of interactions: Antiepidermal growth factor receptor agents. *J Clin Oncol.* 2007;25(26):4057–65.
 66. Chung CH, Zhang Q, Hammond EM, Trotti AM, Wang H, Spencer S, 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(2):331–8.
 67. Bonner J a., Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK, 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(1):21–8.
 68. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, Pajak TF, Weber R, Morrison M, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med.* 2003;349:2091–8.
 69. Forastiere AA, Zhang Q, Weber RS, Maor MH, Goepfert H, Pajak TF, et al. Long-term results of RTOG 91-11 : A comparison of three nonsurgical treatment strategies to preserve the larynx in patients with locally advanced larynx cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(7):845–52.
 70. Bourhis J, Sire C, Graff P, Grégoire V, Maingon P, Calais G, et al. Concomitant chemoradiotherapy versus acceleration of radiotherapy with or without concomitant chemotherapy in locally advanced head and neck carcinoma (GORTEC 99-02): an open-label phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2012;13:145-53.
 71. Ang KK, Zhang QE, Rosenthal DI, Nguyen-Tan P, Sherman EJ, Weber RS, et al. A randomized phase III trial (RTOG 0522) of concurrent accelerated radiation plus cisplatin with or without cetuximab for stage III-IV head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Oncol.* 2014;32(27):2940-50.
 72. Martins RG, Parvathaneni U, Bauman JE, Sharma AK, Raez LE, Papagikos M a, et al. Cisplatin and radiotherapy with or without erlotinib in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomized phase II trial. *J Clin Oncol.* 2013;31(11):1415–21.
 73. Giralt J, Trigo J, Nuyts S, Ozsahin M, Skladowski K, Hatoum G, 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.
74. Siu LL, Waldron JN, Chen BE, Winquist E, Wright JR, Nabid A, et al. Phase III randomized trial of standard fractionation radiotherapy with concurrent cisplatin versus accelerated fractionation radiotherapy with panitumumab in patients with locoregionally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2015;33(15_suppl):6000.
 75. Posner MR, Hershock DM, Blajman DR, Mickiewicz E, Winquist E, Gorbounova V, et al. Cisplatin and Fluorouracil Alone or with Docetaxel in Head and Neck Cancer. *N Engl J Med.* 2007;357:1705-15.
 76. Lorch JH, Goloubeva O, Haddad RI, Cullen K, Sarlis N, Tishler R, et al. Induction chemotherapy with cisplatin and fluorouracil alone or in combination with docetaxel in locally advanced squamous-cell cancer of the head and neck: long-term results of the TAX 324 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(2):153–9.
 77. Sher DJ, Posner MR, Tishler RB, Sarlis NJ, Haddad RI, Holupka EJ, et al. Relationship between radiation treatment time and overall survival after induction chemotherapy for locally advanced head-and-neck carcinoma: A Subset analysis of TAX 324. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(5):813–8.
 78. Salama JK, Haddad RI, Kies MS, Busse PM, Dong L, Brizel DM, et al. Clinical practice guidance for radiotherapy planning after induction chemotherapy in locoregionally advanced head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;75(3):725–33.
 79. Vainstein J EA. Head and Neck Cancer. In: Grosu A-L, Nieder C, editors. *Target Volume Definition in Radiation Oncology.* Springer B; 2015;61–89.
 80. Mendelsohn J, Baselga J. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *Semin Oncol.* 2006;33(4):369–85.
 81. Vermorken JB, Herbst RS, Leon X, Amellal N, Baselga J. 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(12):2710–9.
 82. Riely GJ, Kris MG, Zhao B, Akhurst T, Milton DT, Moore E, et al. Prospective assessment of discontinuation and reinitiation of erlotinib or gefitinib in patients with acquired resistance to erlotinib or gefitinib followed by the addition of everolimus. *Clin Cancer Res.* 2007;13(17):5150–5.
 83. Jackman D, Pao W, Riely GJ, Engelman J a., Kris MG, Jänne P, et al. Clinical definition of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(2):357–60.
 84. Sergina N V, Rausch M, Wang D, Blair J, Hann B, Shokat KM, et al. Escape from HER-family tyrosine kinase inhibitor therapy by the kinase-inactive HER3. *Nature* 2007;445(7126):437–41.
 85. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, Song Y, Hyland C, Park JO, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science* 2007;316(5827):1039–43.
 86. Jain A, Penuel E, Mink S, Schmidt J, Hodge A, Favero K, et al. HER kinase axis receptor dimer partner switching occurs in response to EGFR tyrosine kinase inhibition despite failure to block cellular proliferation. *Cancer Res.* 2010;70(5):1989–99.
 87. Benavente S, Huang S, Armstrong EA, Chi A, Hsu K, Wheeler DL, et al. Establishment and characterization of a model of acquired resistance to epidermal growth factor receptor targeting agents in human cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2009;15(5):1585-92.
 88. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000;103(2):211–25.
 89. LoPiccolo J, Blumenthal GM, Bernstein WB, Dennis PA. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway: Effective combinations and clinical considerations. *Drug Resistance Updates* 2008;11:32–50.
 90. Kim IA, Bae SS, Fernandes A, Wu J, Muschel RJ, McKenna WG, et al. Selective inhibition of Ras, phosphoinositide 3 kinase, and Akt isoforms increases the radiosensitivity of human carcinoma cell lines. *Cancer Res.* 2005;65(17):7902–10.
 91. Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer* 2005;5(3):231–7.
 92. Dittmann K, Mayer C, Fehrenbacher B, Schaller M, Raju U, Milas L, et al. Radiation-induced epidermal growth factor receptor nuclear import is linked to activation of DNA-dependent protein kinase. *J Biol Chem.* 2005;280(35):31182–9.
 93. Toulany M, Kasten-Pisula U, Brammer I, Wang S, Chen J, Dittmann K, et al. Blockage of epidermal growth factor receptor-phosphatidylinositol 3-kinase-AKT signaling increases

- radiosensitivity of K-RAS mutated human tumor cells in vitro by affecting DNA repair. *Clin Cancer Res.* 2006;12(13):4119–26.
94. Kriegs M, Kasten-Pisula U, Rieckmann T, Holst K, Saker J, Dahm-Daphi J, et al. The epidermal growth factor receptor modulates DNA double-strand break repair by regulating non-homologous end-joining. *DNA Repair (Amst).* 2010;9(8):889–97.
 95. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011;12(1):21–35.
 96. Dowling RJO, Topisirovic I, Alain T, Bidinosti M, Fonseca BD, Petroulakis E, et al. mTORC1-mediated cell proliferation, but not cell growth, controlled by the 4E-BPs. *Science* 2010;328:1172–7.
 97. Molinolo A, Hewitt SM, Amornphimoltham P, Keelawat S, Rangdaeng S, García AM, 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(17):4964–73.
 98. Amornphimoltham P, Leelahavanichkul K, Molinolo A, Patel V, Gutkind JS. Inhibition of mammalian target of rapamycin by rapamycin causes the regression of carcinogen-induced skin tumor lesions. *Clin Cancer Res.* 2008;14(24):8094–101.
 99. Amornphimoltham P, Patel V, Leelahavanichkul K, Abraham RT, Gutkind JS. A retroinhibition approach reveals a tumor cell-autonomous response to rapamycin in head and neck cancer. *Cancer Res.* 2008;68(4):1144–53.
 100. Patel V, Marsh C a., Dorsam RT, Mikelis CM, Masedunskas A, Amornphimoltham P, et al. Decreased lymphangiogenesis and lymph node metastasis by mTOR inhibition in head and neck cancer. *Cancer Res.* 2011;71(22):7103–12.
 101. Nathan C-AO, Amirghahri N, Rice C, Abreo FW, Shi R, Stucker FJ. Molecular analysis of surgical margins in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Laryngoscope* 2002;112(12):2129–40.
 102. Hudson TJ, Anderson W, Artez A, Barker AD, Bell C, Bernabé RR, et al. International network of cancer genome projects. *Nature* 2010;464(7291):993–8.
 103. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, Chang K, Li RJ, Fakhry C, et al. Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations of NOTCH1. *Science* 2011;333(6046):1154–7.
 104. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, Kostic AD, Cibulskis K, Sivachenko A, et al. The mutational landscape of head and neck cancer. *Science* 2011;333:1157-60.
 105. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(4):261–9.
 106. Worden FP, Kumar B, Lee JS, Wolf GT, Cordell KG, Taylor JMG, et al. Chemosélection as a strategy for organ preservation in advanced oropharynx cancer: Response and survival positively associated with HPV16 copy number. *J Clin Oncol.* 2008;26(19):3138–46.
 107. Lassen P, Eriksen JG, Hamilton-Dutoit S, Tramm T, Alsner J, Overgaard J. Effect of HPV-associated p16INK4A expression on response to radiotherapy and survival in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2009;27(12):1992–8.
 108. Rischin D, Peters LJ, Sullivan BO, Giralt J, Fisher R, Yuen K, et al. Tirapazamine, cisplatin, and radiation versus cisplatin and radiation for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck (TROG 02.02, HeadSTART): A phase III trial of the Trans-Tasman Radiation Oncology Group. *J Clin Oncol.* 2010;28(18):2989–96.
 109. Lassen P. The role of human papillomavirus in head and neck cancer and the impact on radiotherapy outcome. *Radiother Oncol.* 2010;95(3):371–80.
 110. Ragin CCR, 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(8):1813–20.
 111. Rischin D, Young RJ, Fisher R, Fox SB, Le Q-T, Peters LJ, et al. Prognostic significance of p16INK4A and human papillomavirus in patients with oropharyngeal cancer treated on TROG 02.02 phase III trial. *J Clin Oncol.* 2010;28(27):4142-8.
 112. RTOG 1016. Phase III trial of radiotherapy plus cetuximab versus chemoradiotherapy in HPV-associated oropharynx cancer. www.rtog.org/ClinicalTrials/ProtocolTable/StudyDetails.aspx?study=1016.
 113. O’Sullivan B, Huang SH, Siu LL, Waldron J, Zhao H, Perez-Ordóñez B, et al. Deintensification candidate subgroups in human papillomavirus-related oropharyngeal cancer according to minimal risk of distant metastasis. *J Clin Oncol.* 2013;31(5):543–50.
 114. NRG-HN002: A randomized phase II trial for patients with p16-positive, non-smoking

- associated, locoregionally advanced oropharyngeal cancer. www.nrgoncology.org/Clinical-Trials/NRG-HN002.
115. Vermorken J, Mesía R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med*. 2008;359:1116–27.
 116. Fakhry C, Zhang Q, Nguyen-Tan PF, Rosenthal D, El-Naggar A, Garden AS, et al. Human papillomavirus and overall survival after progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2014;32(30):3365-73.
 117. Hui S, Perez-ordonez B, Weinreb I, Hope A, Massey C, Waldron JN, et al. Natural course of distant metastases following radiotherapy or chemoradiotherapy in HPV-related oropharyngeal cancer. *Oral Oncol*. 2013;49(1):79–85.
 118. Sinha P, Thorstad WT, Nussenbaum B, Haughey BH, Adkins DR, Kallogjeri D, et al. Distant metastasis in p16-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: A critical analysis of patterns and outcomes. *Oral Oncol*. 2014;50:45–51.
 119. Piccirillo JF, Tierney RM, Costas I, Grove L, Spitznagel EL. Prognostic importance of comorbidity in a hospital-based cancer registry. *JAMA* 2004;291(20):2441–7.
 120. Eisenhauer E a., Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45(2):228–47.
 121. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2(2):127–37.
 122. Narayan M, Wilken J, Harris LN, Baron AT, Kimbler KD, Maihle NJ. Trastuzumab-induced HER reprogramming in “resistant” breast carcinoma cells. *Cancer Res*. 2009;69(6):2191–4.
 123. Scheres HM, De Goeij a F, Rousch MJ, Hondius GG, Willebrand DD, Gijzen a H, et al. Quantification of oestrogen receptors in breast cancer: radiochemical assay on cytosols and cryostat sections compared with semiquantitative immunocytochemical analysis. *J Clin Pathol*. 1988;41(6):623–32.
 124. Giralt J, Benavente S, Arguis M. Optimizing approaches to head and neck cancer: Strengths and weaknesses in multidisciplinary treatments of locally advanced disease. *Ann Oncol*. 2008;19(Suppl.7):195–9.
 125. Chang K, Creighton CJ, Davis C, Donehower L, Drummond J, Wheeler D, et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nat Genet*. 2013;45(10):1113–20.
 126. Rietbergen MM, Brakenhoff RH, Bloemena E, Witte BI, Snijders PJF, Heideman D a M, et al. Human papillomavirus detection and comorbidity: Critical issues in selection of patients with oropharyngeal cancer for treatment De-escalation trials. *Ann Oncol*. 2013;24(11):2740–5.
 127. Michiels S, Le Maître A, Buyse M, Burzykowski T, Maillard E, Bogaerts J, et al. Surrogate endpoints for overall survival in locally advanced head and neck cancer: meta-analyses of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2009;10(4):341–50.
 128. Venook AP, Tabernero J. Progression-free survival: Helpful biomarker or clinically meaningless end point? *J Clin Oncol*. 2014;33(1):4–6.
 129. Booth CM, Eisenhauer EA. Progression-free survival: meaningful or simply measurable? *J Clin Oncol*. 2012;30(10):1030–3.
 130. European Medicines Agency. Guideline on the evaluation of anticancer medicinal products in man. Eur Med Agency 2012.
 131. Wharf C, Kingdom U. Methodological consideration for using progression-free survival or disease-free survival in confirmatory trials. Eur Med Agency 2011.
 132. Tirkes T, Hollar MA, Tann M, Kohli MD, Akisik F, Sandrasegaran K. Response criteria in oncologic imaging: review of traditional and new criteria. *Radiographics* 2013;33(5):1323–41.
 133. O’Sullivan B, Adelstein DL, Huang SH, Koyfman SA, Thorstad W, Hope AJ, et al. First site of failure analysis incompletely addresses issues of late and unexpected metastases in p16-positive oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(15):1707–8.
 134. Lefebvre JL, Pointreau Y, Rolland F, Alfonsi M, Baudoux A, Sire C, et al. Induction chemotherapy followed by either chemoradiotherapy or bioradiotherapy for larynx preservation : The TREMPLIN randomized phase II study. *J Clin Oncol*. 2013;31(7):853–9.
 135. Levy A, Blanchard P, Bellefqih S, Brahimi N, Guigay J, Janot F, et al. Concurrent use of cisplatin or cetuximab with definitive radiotherapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinomas. *Strahlenther Onkol*. 2014;190(9):823–31.
 136. St Guily J, Clavel C, Okaïs C, Prétet J-L, Beby-Defaux A, Agius G, et al. Human papillomavirus genotype distribution in tonsil cancers. *Head Neck Oncol*. 2011;3:6.
 137. Mehanna H, Beech T, Nicholson T, El-Hariry T, McConkey C, Paleri V, 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(7):747–55.
138. Hong A, Soon Lee C, Jones D, Veillard AS, Zhang M, Zhang X, et al. Rising prevalence of human papillomavirus–related oropharyngeal cancer in Australia over the last 2 decades. *Head Neck* 2014. doi: 10.1002/hed.23942. [Epub ahead of print].
 139. Rietbergen MM, Leemans CR, Bloemena E, Heideman D a. M, Braakhuis BJM, Hesselink AT, et al. Increasing prevalence rates of HPV attributable oropharyngeal squamous cell carcinomas in the Netherlands as assessed by a validated test algorithm. *Int J Cancer* 2013;132(7):1565–71.
 140. Louie KS, Mehanna H, Sasieni P. Trends in head and neck cancers in England from 1995 to 2011 and projections up to 2025. *Oral Oncol.* 2015;51(4):341–8.
 141. Molinolo A, Marsh C, El Dinali M, Gangane N, Jennison K, Hewitt S, et al. mTOR as a molecular target in HPV-associated oral and cervical squamous carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2012;18(9):2558–68.
 142. Clark C, Shah S, Herman-Ferdinandez L, Ekshyyan O, Abreo F, Rong X, 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.
 143. Squarize CH, Castilho RM, Abrahao AC, Molinolo A, Lingen MW, Gutkind JS. PTEN deficiency contributes to the development and progression of head and neck cancer. *Neoplasia* 2013;15(5):461–71.
 144. Pedrero JMG, Carracedo DG, Pinto CM, Zapatero AH, Rodrigo JP, Nieto CS, et al. Frequent genetic and biochemical alterations of the PI3K/AKT/PTEN pathway in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2005;114(2):242–8.
 145. Lui VWY, Hedberg ML, Li H, Lui VWY, Hedberg ML, Li H. Frequent mutation of the PI3K pathway in head and neck cancer defines predictive biomarkers. *Cancer Disc.* 2013;3:761–9.
 146. Lawrence MS, Sougnez C, Lichtenstein L, Cibulskis K, Lander E, Gabriel SB, et al. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature* 2015;517(7536):576–82.
 147. Taylor D, Koch WM, Zahurak M, Shah K, Sidransky D, Westra WH. Immunohistochemical detection of p53 protein accumulation in head and neck cancer: correlation with p53 gene alterations. *Hum Pathol.* 1999;30(10):1221–5.
 148. Boyle JO, Hakim J, Koch W, van der Riet P, Hruban RH, Roa RA, et al. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res.* 1993;53(19):4477–80.
 149. Olsen KD. Reexamining the treatment of advanced laryngeal cancer. *Head Neck* 2010;32(1):1–7.
 150. Cmelak A, Li S, Marur S, Zhao W, Westra WH, Chung CH, et al. E1308: Reduced-dose IMRT in human papilloma virus (HPV)-associated resectable oropharyngeal squamous carcinomas (OPSCC) after clinical complete response (cCR) to induction chemotherapy (IC). *J Clin Oncol.* 2014;32(18_suppl):LBA6006.
 151. Huang S, Li C, Armstrong E a., Peet CR, Saker J, Amler LC, et al. Dual targeting of EGFR and HER3 with MEHD7945A overcomes acquired resistance to EGFR inhibitors and radiation. *Cancer Res.* 2013;73(2):824–33.
 152. Qian G, Jiang N, Wang D, Newman S, Kim S, Chen Z, et al. Heregulin and HER3 are prognostic biomarkers in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2015;121:3600–11.
 153. Ho-Pun-Cheung A, Assenat E, Bascoul-Mollevi C, Bibeau F, Boissière-Michot F, Cellier D, et al. EGFR and HER3 mRNA expression levels predict distant metastases in locally advanced rectal cancer. *Int J Cancer* 2011;128(12):2938–46.
 154. Momeny M, Saunus JM, Marturana F, Reed AEM, Sala G, Iacobelli S, et al. Heregulin-HER3-HER2 signaling promotes matrix metalloproteinase-dependent blood-brain-barrier transendothelial migration of human breast cancer cell lines. *Oncotarget* 2015;6(6):3932-46.
 155. Eke I, Storch K, Krause M, Cordes N. Cetuximab attenuates its cytotoxic and radiosensitizing potential by inducing fibronectin biosynthesis. *Cancer Res.* 2013;73(19):5869–79.
 156. Fury MG, Sherman E, Ho AL, Xiao H, Tsai F, Nwankwo O, et al. A phase 1 study of everolimus plus docetaxel plus cisplatin as induction chemotherapy for patients with locally and/or regionally advanced head and neck cancer. *Cancer* 2013;119(10):1823–31.
 157. Fury MG, Lee NY, Sherman E, Ho AL, Rao S, Heguy A, et al. A phase 1 study of everolimus + weekly cisplatin + intensity modulated radiation therapy in head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;87(3):479–86.
 158. Benavente S, Vergés R, Herмосilla E, Fumanal V, Casanova N, García A, et al. Overexpression of phosphorylated 4E-BP1 predicts for tumor recurrence and reduced survival

- in cervical carcinoma treated with postoperative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;75(5):1316–22.
159. Alain T, Morita M, Fonseca BD, Yanagiya A, Siddiqui N, Bhat M, et al. eIF4E/4E-BP ratio predicts the efficacy of mTOR targeted therapies. *Cancer Res.* 2012;72(24):6468–76.
160. Tao JJ, Castel P, Radosevic-Robin N, Elkabets M, Auricchio N, Aceto N, et al. Antagonism of EGFR and HER3 enhances the response to inhibitors of the PI3K-Akt pathway in triple-negative breast cancer. *Sci Signal.* 2014;7(318):ra29.
161. Axelrod MJ, Gordon V, Conaway M, Tarcsafalvi A, Neitzke DJ, Gioeli D, et al. Combinatorial drug screening identifies compensatory pathway interactions and adaptive resistance mechanisms. *Oncotarget* 2013;4(4):622–35.
162. Axelrod MJ, Gordon V, Mendez RE, Leimgruber SS, Conaway MR, Sharlow ER, et al. p70S6 kinase is a critical node that integrates HER-family and PI3 kinase signaling networks. *Cell Signal* 2014;26(8):1627–35.

