

## Valor diagnóstico de los marcadores E-cadherina, MMP-9, MMP-13 activada y de los anticuerpos anti-p53 en el carcinoma escamoso de cabeza y cuello

Daniel Al Kassam<sup>a</sup>, César Álvarez Marcos<sup>b</sup>, Ignacio Blanco<sup>c</sup>,  
Juan Ramón de los Toyos<sup>d</sup> y José Luis Llorente<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Análisis Clínicos. <sup>b</sup>Servicio de Otorrinolaringología. <sup>c</sup>Sección de Neumología.

<sup>d</sup>Servicio de Medicina Interna. Hospital del Valle de Nalón. Langreo. Principado de Asturias.

<sup>e</sup>Unidad de Citometría. Universidad de Oviedo. Oviedo. Principado de Asturias.

<sup>f</sup>Servicio de Otorrinolaringología. Hospital Central de Asturias. Oviedo. Principado de Asturias. España.

**FUNDAMENTO Y OBJETIVO:** El cáncer escamoso de cabeza y cuello (CECC) es un tumor de origen epitelial que representa un grave problema sociosanitario, debido a que cada año en el ámbito mundial se diagnostican 500.000 nuevos casos. En España la incidencia del CECC excede los 40 casos/100.000 habitantes/año. La supervivencia de estos pacientes está condicionada principalmente por la presencia de metástasis ganglionares. Hasta la fecha ningún medio diagnóstico (técnicas de imagen, marcadores bioquímicos) ha mostrado eficacia suficiente para predecir la presencia de metástasis ganglionares. Hay nuevos marcadores relacionados con el proceso metastásico que todavía no se han evaluado suficientemente en el CECC. Mediante la determinación de diferentes marcadores tumorales de nueva aplicación, se trata de encontrar un perfil de éstos que sea aplicable en el CECC, así como tratar de predecir la evolución antes del tratamiento quirúrgico, relacionando los marcadores con la presencia de metástasis.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Se obtuvieron preoperatoriamente 39 muestras de suero, entre 2003 y 2005, y 10 muestras control, siendo los marcadores determinados, la fracción soluble de la E-cadherina, la metaloproteasa (MMP) 2, la MMP-9, la forma activa de la MMP-13 y los anticuerpos anti-p53; los 5 marcadores propuestos se determinaron utilizando un ensayo inmunoanalítico tipo ELISA.

**RESULTADOS:** Se detectaron valores elevados de E-cadherina, MMP-9, MMP-13 activada y de los anticuerpos anti-p53 frente a la población control, diferencias que fueron estadísticamente significativas. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los valores de MMP-2 por debajo de 290 ng/ml y una supervivencia peor. Hubo diferencias significativas entre valores de MMP-13 activada superiores a 685 pg/ml y la presencia de anticuerpos anti-p53 positivos frente a la presencia de metástasis ganglionares. La determinación y la valoración combinada de ambos marcadores mostraron las mejores cifras de sensibilidad (76%) y especificidad (100%) del estudio.

**CONCLUSIONES:** La determinación de marcadores tumorales múltiples puede mejorar la resolución diagnóstica actual de la presencia de metástasis ganglionares en el CECC.

**Palabras clave:** Marcador tumoral. Cáncer de cabeza y cuello. Metástasis.

Diagnostic value of E-cadherin, MMP-9, activated MMP-13 and anti-p53 antibodies in squamous cell carcinomas of head and neck

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is a malignant tumor of epithelial origin, which currently represents a major socio-sanitary problem since about 500,000 new cases are reported worldwide every year. In Spain, the HNSCC incidence exceeds 40 cases out of 100,000 individuals/year. HNSCC mortality is closely related to both local relapse and regional or distant lymphatic metastasis. A reliable tumor-specific biomarker to predict preoperatively HNSCC relapse or lymphatic spread is not currently available. To date, several diagnostic procedures (imaging technologies, biochemical markers) have not shown enough potential to predict the presence of lymph node metastasis. There are new tumor markers related to the metastatic spread that have not been yet evaluated in HNSCC. The main goals of the present study was to determine an specific and reliable serum biomarkers pattern for HNSCC diagnosis, and to predict the HNSCC evolution before surgical therapy by developing appropriate biomarkers related to local relapse and lymphatic metastasis.

**MATERIAL AND METHOD:** Thirty nine serum samples of HNSCC patients were collected during every neoplasm resection. Another 10 serum samples were collected from healthy individuals as a control group. Selected serum biomarkers were: soluble E-cadherine, metalloproteinases (MMP) 2, MMP-9, active MMP-13; and Ac anti-p53.

**RESULTS:** High serum levels of soluble E-cadherine, MMP-9, active MMP-13, and presence Ac anti-p53 were found to be significantly different from those in the control group. There was a statistic association with MMP-2 levels below 290 ng/ml and poor survival. We also found significant differences between active MMP-13 (levels > 685 pg/ml) and the presence of anti-p53 antibodies with the presence of lymph node metastasis. The multimarker analysis using both tumor markers provided the better sensibility (76%) and specificity (100%) values.

**CONCLUSIONS:** The combined determination and valuation of tumor markers could improve the potential diagnosis of lymph node metastasis in HNSCC.

**Key words:** Tumor marker. Head and neck cancer. Metastasis.

Correspondencia: Dr. D. Al Kassam.

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Valle del Nalón.

Polígono Riaño, s/n. 33194 Riaño. Langreo. Principado de Asturias. España.

Correo electrónico: danielalka@hotmail.com

Recibido el 4-10-2006; aceptado para su publicación el 16-1-2007.

El carcinoma escamoso es el tumor maligno más frecuente en cabeza y cuello. Su etiología se debe fundamentalmente al consumo de tabaco y alcohol<sup>1</sup>. El diagnóstico temprano de los pacientes con esta afección es de especial dificultad dada la escasa expresividad clínica de estos tumores, y en muchos casos se produce el diagnóstico en estadios avanzados de la enfermedad. El diagnóstico y el seguimiento clínicos se basan en la clínica, la exploración física y las técnicas de imagen. El tratamiento quirúrgico a menudo produce una distorsión anatómica que dificulta la detección de recidiva y/o segundas neoplasias. Desde los años setenta, se han estudiado diferentes marcadores tumorales en el carcinoma escamoso de cabeza y cuello (CECC), en un intento de mejorar las posibilidades en el diagnóstico y el seguimiento, sin que, hasta el momento se haya probado su eficacia clínica. Los marcadores clásicamente estudiados han sido el antígeno de célula escamosa<sup>2</sup> y los fragmentos solubles de citoqueratina 19 (cyfra 21.1<sup>3</sup>) que, pese a mostrar cierta especificidad por el epitelio escamoso, no muestran un potencial diagnóstico suficiente. Hay nuevos marcadores que aún no se han evaluado de manera precisa en el CECC.

Las cadherinas son proteínas de membrana dependientes del calcio que participan en la formación de uniones adherentes<sup>4</sup>. Hasta la fecha, se ha podido demostrar un papel supresor de invasividad para un miembro de esta familia, la E-cadherina, también conocida como L-CAM o uvomorulina<sup>5</sup>. Esta proteína, causante de la adhesión celular, puede determinarse en tejido y en suero, y su pérdida de función se puede relacionar con la invasión tumoral y las metástasis. Se piensa que el gen de la E-cadherina es un gen supresor que interviene en la diferenciación tumoral, pues la proteína no se expresa en el CECC poco diferenciado, y aumenta progresivamente en los CECC moderados y bien diferenciados. Los tumores sin expresión son más agresivos y con mayor incidencia a metastatizar<sup>6,7</sup>.

TABLA 1  
Estadificación, grado histológico, metástasis ganglionares y radioterapia

	Laringe (n = 22)			Faringe (n = 17)			Total (n = 39)
	Supraglotis	Glottis*	Total (%)	Orofaringe	Hipofaringe	Total (%)	Total (%)
Estadio							
I	2	0	2 (5)	0	0	0 (0)	2 (5)
II	3	1	4 (10)	2	1	3 (8)	7 (18)
III	4	5	9 (23)	3	0	3 (8)	12 (31)
IV	3	4	7 (18)	7	4	11 (28)	18 (46)
Grado histológico							
Pobre	8	1	9 (23)	1	3	4 (10)	13 (33)
Moderado	2	5	7 (18)	8	2	10 (26)	17 (44)
Bien	2	4	6 (15)	3	0	3 (8)	9 (23)
Metástasis ganglios							
Negativos	5	5	10 (26)	3	1	4 (10)	14 (36)
Positivos	7	5	12 (31)	9	4	13 (33)	25 (64)
Radioterapia							
Sí	5	5	10 (26)	6	5	11 (28)	21 (54)
No	7	5	12 (30)	6	0	6 (16)	18 (46)

\*Incluye glóticos, transglóticos y subglóticos, n = 39.

La forma soluble de la E-cadherina (80-84 kD) se descubrió en el sobrenadante del medio de cultivo liberado por la línea tumoral de células tumorales humanas MCF-7<sup>8</sup>. Esta forma soluble es el producto de degradación de la forma intacta de la E-cadherina (120 kD) generada por una proteólisis dependiente del calcio. También se ha demostrado su presencia en fluidos biológicos de individuos sanos, aunque los valores séricos estaban más elevados en pacientes con cáncer<sup>9-11</sup>. Las metaloproteasas o matrixinas (MMP) son endopeptidasas de matriz extracelular. Su determinación se hace en suero mediante anticuerpos específicos. Se ha establecido una clasificación de 4 grupos: colagenasas, estromelisin, gelatinasas y MMP de membrana<sup>12,13</sup>. Aunque se pensaba que intervenían sólo en la rotura física de la matriz extracelular por el tumor (invasión local), actualmente se sabe que están implicadas también en el crecimiento del tumor primario y de sus metástasis<sup>14,15</sup>. Se ha visto un aumento de la expresión de MMP-2 y MMP-9 en el CECC<sup>16</sup>. En el cáncer de laringe con sobreexpresión de colagenasa 3 (MMP-13) hay mayores tasas de progresión local y metástasis<sup>17</sup>.

La expresión de anticuerpos (Ac) anti-p53 se puede determinar en tejido y en suero. La mutación de p53 es la alteración genética más común en los cánceres humanos y se ha demostrado por inmunohistoquímica en el CECC. Los anticuerpos séricos de p53 son muy específicos, y no se expresan en individuos sin cáncer, pero no determinan el tipo de tumor<sup>18</sup>. En el suero de pacientes con CECC se ha observado Ac p53 en el 18-44%, que se ha asociado a la expresión nuclear de la proteína detectada. A pesar de tener una sensibilidad limitada, podría ser útil en el pronóstico, ya que su presencia resultó ser un marcador independiente del riesgo de recidivas y supervivencia<sup>19,20</sup>. El presente estudio tiene

como objetivo evaluar el potencial preliminar de la determinación preoperatoria de nuevos marcadores tumorales en pacientes con CECC.

## Material y métodos

Se incluyó en el estudio a los pacientes con CECC diagnosticados y tratados por los servicios de otorrinolaringología de los hospitales Central de Asturias (HUCA de Oviedo) y Valle del Nalón (HVN de Langreo) de la Comunidad Autónoma del Principado de Asturias, entre junio de 2003 y septiembre de 2005, estudio que se cerró en diciembre de 2005. El tiempo de seguimiento fue de 30 meses. Los criterios de selección fueron los siguientes: disponer de una historia que permitiera extraer los datos clínicos y de seguimiento, diagnóstico histopatológico de CECC en el tumor primario, indicación quirúrgica sobre el tumor primario y realización de vaciamiento cérvico-ganglionar, ser el primer diagnóstico de la enfermedad y no haber realizado tratamientos previos con radioquimioterapia.

El diagnóstico clínico se hizo por los procedimientos clínicos (endoscopia, biopsia) y de imagen (tomografía computarizada y resonancia magnética) habituales. Se siguieron las recomendaciones para los estudios de precisión diagnóstica STARD<sup>21</sup>. El comité ético de investigación clínica aprobó el estudio y se planteó según protocolos establecidos y consensuados. Para la clasificación del estadio tumoral se utilizó el sistema TNM (Tumor, Node, Metastasis Stage Grouping) de la Unión Internacional Contra el Cáncer. A partir de estos criterios, se seleccionó a 39 pacientes, 5 correspondientes al HUCA (12%) y 34 al HVN (88%). La toma de las muestras de sangre se realizó inmediatamente antes de la extirpación quirúrgica, durante la inducción anestésica, previo consentimiento informado. Como muestras de control se incluyeron 10 muestras de sangre procedentes de donantes del Banco de Sangre del Principado de Asturias, todos ellos mayores de 50 años y fumadores. Se realizó una consulta clínica a cada uno de ellos para descartar lesiones displásicas y/o CECC. Se obtuvo una muestra de 10 µl de sangre en un tubo, se esperó el tiempo necesario para que la muestra coagulase y, posteriormente, se centrifugó para separar el suero, se alícuotó y congeló a -80 °C hasta su procesamiento en el Servicio de Análisis Clínicos del HVN. Las variables cuantitativas se expresaron utilizando la media, que se compararon con la t de Student o mediante la U de Mann-Whitney en caso de no seguir una distribución normal. Las variables cualitativas se expresaron como porcentaje y se compararon mediante el test de la  $\chi^2$ , con corrección de continuidad de Yates en los casos de tablas de 2 x 2, o bien por la prueba exacta de Fisher en los casos de tablas poco pobladas. Se estableció como nivel de significación estadística un valor de p < 0,05. La supervivencia se analizó mediante las curvas de Kaplan-Meier, utilizando la prueba *log-rank*. Los puntos

de corte de las variables cuantitativas se determinaron utilizando curvas ROC. Los cálculos estadísticos se realizaron mediante el programa estadístico Medcalc® v8.1.1 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

## Resultados

El grupo de 39 pacientes estudiados estaba formado por 37 varones y 2 mujeres. La edad media fue de 61 años, con un rango entre 34 y 80. Casi todos eran fumadores (97,4%) y bebedores de alcohol (89,7%). En cuanto a la localización más frecuente, fue la laringe (22 casos), y en el resto, la faringe (17 casos). Otras de las características clínicas más relevantes de los pacientes se muestran en la tabla 1.

A continuación se muestran los resultados de cada marcador.

La comparación de los valores de E-cadherina entre pacientes (media 2,97 µg/ml; intervalo de confianza [IC], 2,42-3,51 µg/ml) y controles (media 1,87 µg/ml; IC, 1,66-2,07 µg/ml) mostró diferencias estadísticamente significativas (p = 0,0483). El análisis mediante curva ROC, donde se fijó como punto de corte óptimo 2,56 µg/ml, reveló una sensibilidad del 56% (IC, 34,9-75,6) y una especificidad del 71,4% (IC, 41,9-91,4) (tabla 2); no obstante, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los valores de E-cadherina de los pacientes N positivos (media 2,99; IC, 2,35-3,65) frente a los N negativos (media 2,889; IC, 1,76-4,04), donde p = 0,8691. Las concentraciones de E-cadherina no difirieron en función de la localización tumoral, el grado histológico, el estadio o la supervivencia.

Los valores de MMP-2 entre pacientes (media 355,6 ng/ml; IC, 310,1-401,1) y controles (media 430,1 ng/ml; IC, 331,9-528,3) no mostraron diferencias estadísticamente significativas (p = 0,1393). El análisis ROC fijó como punto de corte óptimo en una concentración de MMP-2 menor o igual a 290,7 ng/ml, para una sensibilidad del 48% (IC, 27,8-68,7) y

una especificidad del 78,6% (IC, 49,2-95,1) (tabla 2) para demostrar la presencia de metástasis ganglionares. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los valores de MMP-2 de pacientes con metástasis (media 330,0; IC, 284,2-375,8) frente a las que no las presentaron (media 401,3; IC, 299,2-503,5), con una  $p = 0,1292$ . Por el contrario, se observa una menor supervivencia utilizando el punto de corte ya citado, en los pacientes con concentraciones inferiores o iguales a 290,7 ng/ml, donde la mediana de la supervivencia es de 16 meses, mientras que con valores superiores alcanzó los 35 meses. El estudio comparativo de ambas curvas de supervivencia mostró diferencias estadísticamente significativas para la prueba *log-rank* ( $\chi^2 = 7,168$ ;  $gl = 1$ ;  $p = 0,0074$ ).

Las concentraciones de MMP-9 de pacientes (mediana 243,2 ng/ml; IC, 177,8-332,7 ng/ml) y controles (mediana 159,9 ng/ml; IC, 109,1-236,3 ng/ml) también mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,0445$ ). Fijando como punto de corte óptimo 473,6 ng/ml, el análisis ROC para predecir la presencia de metástasis mostró una sensibilidad del 32% (IC, 15-53,5) y una especificidad del 92,9% (IC, 66,1-98,8) (tabla 2) sin que hubieran diferencias estadísticamente significativas entre los valores de MMP-9 de pacientes N positivos (media 345; IC, 247,2-442,7) frente a los N negativos (media 246,6; IC, 160,4-332,9), tomando p el valor de 0,1697.

En cuanto a la MMP-13 activa, sus valores en pacientes (mediana 648,12; IC, 597,39-688,70) y controles (mediana 534,49; IC, 349,06-678,99) mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,0151$ ). Para tratar de predecir la presencia de metástasis con este marcador, se fijó un punto de corte óptimo en 585,15 pg/ml, con una sensibilidad del 96% (IC, 79,6-99,3) y una especificidad del 71,4% (IC, 41,9-91,4) (tabla 2). El valor predictivo positivo (VPP) fue del 86%, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) del 90%. Un total de 25 pacientes con valores superiores al punto de corte presentaron N positivo, por 4 que no. Todos los pacientes con valores superiores a 689,76 pg/ml tenían metástasis ganglionares. En este caso sí hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,0001$ ) entre los valores de MMP-13 de los pacientes con N positivo (mediana 679,63; IC, 628,6-742,6) frente a los que no las presentaron (mediana 536,62; IC, 461,3-640,7).

El último marcador evaluado individualmente fueron los Ac anti-p53. En la tabla 3 se muestran los diferentes resultados encontrados en pacientes y en controles. La presencia de estos anticuerpos fue exclusiva de pacientes, sin que se encon-

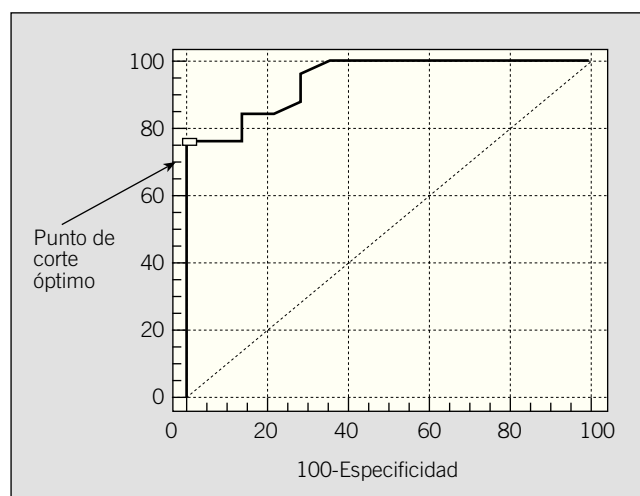


Fig. 1. Curva ROC para los valores de Z (Ac anti-p53 +MMP13 activada) frente N+, (n = 39).

TABLA 2

#### Marcadores séricos y su relación con metástasis ganglionares N+

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	ABC	Punto corte	Valor de p
E-cadherina	56	71,4	73	45	0,571	> 2,56 $\mu$ g/ml	0,8691
MMP-2	48	78,6	80	45,8	0,623	$\leq$ 290,7 ng/ml	0,1292
MMP-9	32	92,9	80	41	0,603	$\geq$ 473,6 ng/ml	0,1697
MMP-13*	96	71,4	86	90	0,887	$\geq$ 585,15 pg/ml	0,0001
Anticuerpos anti-p53	48	100	100	53,8	—	—	0,0032
Anti-p53 + MMP-13*	76	100	100	68	0,943	Z > 0,76	0,0001

\*Forma activa.

ROC, n = 39.

ABC: área bajo la curva; MMP: metaloproteasa; VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

TABLA 3

#### Valores séricos de anticuerpos anti-p53 en pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello, y controles

Anticuerpos anti-p53	Pacientes (%)	Controles (%)
Positivo	13 (33%)	0 (0%)
Negativo	26 (77%)	10 (100%)

N.º de pacientes: 39. N.º de controles: 10.

TABLA 4

#### Valores séricos de los anticuerpos anti-p53 en función de la presencia de metástasis ganglionares

Metástasis/Anti-p53	Negativo	Positivo	Total (%)
No	14	0	14 (35,9%)
Sí	12	13	25 (64,1%)
Total (%)	26 (66,7%)	13 (33,3%)	39 (100%)

n = 39.

TABLA 5

#### Valores séricos de los anticuerpos anti-p53 frente a grado histológico, estadio y metástasis

	Anti-p53 positivo	Anti-p53 negativo
Grado histológico		
Pobre	6	7
Moderado	6	11
Bueno	1	8
Estadio		
I, II	0	9
III, IV	13	17
Metástasis		
Sí	13	12
No	0	14

n = 39.

trar en controles. El análisis estadístico mostró diferencias estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 2,99$ ,  $p = 0,030$ ). En la tabla 4 se exponen los resultados de los Ac anti-p53 en función de la presencia de metástasis.

No hubo ningún paciente sin metástasis ganglionares que tuviese los Ac anti-p53 positivos, aunque hubo 12 pacientes con

metástasis ganglionares en los que no se detectaron anticuerpos séricos. La sensibilidad de la prueba para el diagnóstico de N positivo fue del 48% y la especificidad del 100%. El VPP fue del 100% y el VPN, del 53,8%. El valor de  $\chi^2$  fue 8,705, y se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,0032$ ). El resto de los resultados de los Ac anti-p53 se muestran en la tabla 5.

En cuanto a supervivencia en función de la presencia o ausencia de Ac anti-p53 en suero, la mediana de la supervivencia de los pacientes sin Ac anti-p53 séricos fue de 35 meses, mientras que si los tenían, se reducía a 17 meses. Estos resultados eran estadísticamente significativos para la prueba *log-rank* ( $\chi^2 = 5,28$ ;  $gl = 1$ ;  $p = 0,0216$ ).

Los 2 únicos marcadores con potencial para predecir la presencia de metástasis ganglionares fueron los Ac anti-p53 y la MMP-13 activa. Mediante regresión logística binaria, evaluamos el potencial de ambos marcadores de manera conjunta para el diagnóstico de metástasis ganglionares. Al utilizar los resultados obtenidos, se consiguió la ecuación siguiente:  $Z = -11,86 + 0,019 X_2 + 20,443 X_1$ , donde  $X_1 =$  Ac anti-p53 (cualitativo) y  $X_2 =$  MMP-13 activa. De cada paciente se calcularon los valores de Z y posteriormente la posibilidad de metástasis mediante la ecuación: probabilidad de  $N+ = e^Z / 1 + e^Z$ . La curva ROC obtenida utilizando ambos marcadores se puede observar en la figura 1.

La sensibilidad obtenida fue del 76% (IC, 54,9-99,6) y la especificidad del 100% (IC, 76,7-100) (tabla 2) para un valor de  $Z > 0,76$ . El VPP fue del 100% y el VPN, del 70%.

## Discusión

Uno de los principales retos en el tratamiento del cáncer es cómo poner de manifiesto la presencia de metástasis en distintos tejidos. Esto es especialmente difícil si se utilizan marcadores tumorales, los cuales son en el mayor número de casos proteínas presentes en individuos sanos. Todavía se conoce poco sobre cuáles serían los marcadores tumorales ideales en el CECC. Este hecho, unido a la inexistencia de perfiles de marcadores tumorales aplicables en el CECC, justificó este estudio.

Los valores de la fracción soluble de la E-cadherina solamente mostraron diferencias estadísticamente significativas con la población control, como parece que también ocurre en el cáncer de próstata<sup>22</sup>; en cambio, no se asoció a la presencia de metástasis, hecho que contrasta con los resultados obtenidos mediante inmunohistoquímica, donde su mayor expresión se relacionaría con su menor número de metástasis<sup>23</sup>.

Los resultados de la MMP-2 fueron algo contradictorios, no había diferencia estadísticamente significativa ni con la población control, ni con la presencia de metástasis, ni con el resto de parámetros clínicos de interés, como habían publicado otros autores<sup>24,25</sup>; sin embargo, sí hubo diferencias con la supervivencia. Pensamos que el hecho de presentar una peor supervivencia con valores bajos de MMP-2 pueda deberse al tamaño muestral. Otra posible causa de ello podría ser que la MMP-2 predominara en su forma activa en el suero de pacientes con CECC. No obstante, estos datos deben contrastarse con estudios más amplios, pues se han descrito muchas variaciones de los valores de MMP-2 en los pacientes con CECC<sup>26,27</sup>.

Los valores séricos de MMP-9 difirieron de modo estadísticamente significativo en comparación con la población control. Este hecho ya lo habían recogido diversos estudios<sup>26,28</sup>, por lo que parece claro que la MMP-9 está implicada en la patogenia del CECC; sin embargo, los valores de MMP-9 no mostraron diferencias significativas con el resto de parámetros clínicos estudiados, por lo que son necesarios nuevos estudios para confirmar estos hallazgos.

Los resultados de la forma activa de la MMP-13 mostraron diferencias significativas con el grupo control y con el grupo de pacientes con metástasis ganglionares. Hasta la fecha no hemos encontrado ningún otro estudio sobre la forma activa de la MMP-13 en CECC; sin embargo, hay otros estudios que asocian valores elevados de MMP-13 con diseminación metastásica en cáncer de próstata<sup>29</sup>, y otros que refieren que la forma activa de esta MMP predomina en pacientes con melanoma metastásico<sup>30</sup>. El hecho de que no haya datos en la bibliografía a este respecto nos hace ser prudentes en la valoración de los resultados, por lo que son necesarios estudios más amplios.

La presencia de Ac anti-p53 se ha determinado en distintos trabajos sobre CECC, en los que se han mostrado resultados contradictorios. Nuestros resultados muestran la presencia de Ac anti-p53 circulantes en el 33% de los pacientes con CECC, sin que aparecieran en ninguno de los controles. Otros trabajos publican resultados similares<sup>31,32</sup>, por lo que parece que la determinación de estos Ac podría tener cierto potencial. La presencia de estos Ac se asoció con la presencia de metástasis ganglionares, que están presentes en todos los pacientes que presentaban Ac anti-p53 circulantes; sin embargo, en 12 pacientes con metástasis no se pudo detectar su presencia. La confirmación de estos hallazgos sería de especial interés dado que ya hay precedentes que confirman estos resultados<sup>32,33</sup>.

La presencia de estos Ac circulantes también se ha asociado con tumores faríngeos, los cuales parecen mostrar mayor expresión de la proteína p53, en comparación con otras zonas como la laringe<sup>34</sup>.

También hemos encontrado una asociación positiva entre la presencia de Ac anti-p53 y estadios avanzados de la enfermedad (III y IV) frente a estadios iniciales (I y II). Nuevos estudios también podrían aclarar la relación entre la presencia de Ac anti-p53 y el grado de diferenciación histológico, debido a los resultados contradictorios encontrados en la bibliografía<sup>35</sup>.

La información pronóstica puede ser de especial utilidad en este tipo de pacientes. La presencia de Ac anti-p53 se asoció a una peor supervivencia. Estos hallazgos están en la misma dirección que otros trabajos ya publicados<sup>32</sup>. Sin embargo, otros autores no obtuvieron resultados similares<sup>36,37</sup>, por lo tanto son precisos nuevos estudios.

El análisis multimarcador nos dio la posibilidad de obtener una resolución diagnóstica mejor, en comparación con la utilización de un marcador solo. El uso combinado de la MMP-13 activa y los Ac anti-p53 mejoró nuestra capacidad para esclarecer la presencia de metástasis ganglionares, y los verdaderos positivos aumentaron del 33 al 44%, con un número de falsos negativos menor (30 al 15%). Sin embargo, todavía hay un 30% de pacientes con metástasis que no pudimos detectar. Este trabajo refleja que, si bien el trabajo con marcadores tumorales es muchas veces complicado, la utilización de marcadores de forma conjunta puede ser útil para vencer algunas de las limitaciones existentes. El contraste de estos resultados con estudios de mayor tamaño muestral y la adición de nuevos marcadores son los pasos siguientes para conseguir un conocimiento mejor del CECC.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Morales M, Llopis A, Moreno E, Martínez M, Victoria I, Givert V. Hábitos tóxicos en relación con el cáncer de laringe. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 1997;44:45-50.
- Eibling D, Johnson J, Wagner R. Radioimmunoassay for SCC antigen in the diagnosis of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope*. 1989;99:117-24.
- Dowek I, Barak M, Greenberg E, Uri N, Kellner J, Lurie M, et al. Cyfra 21.1: a new potential tumor marker for squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1995;121:177-81.
- Bracke M, Van Roy F, Mareel M. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1996;213:123-61.
- Mbalaviele G, Dustan CR, Susaki A, Williams PJ, Mundy GR, Yoneda T. E-cadherin expression in human breast cancer cells suppresses the development of osteolytic bone metastasis in an experimental metastasis model. *Cancer Res*. 1996;56:4063-70.

6. Schippker JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor differentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res.* 1991;51:6328-37.
7. Bracke M, Van Roy F, Mareel M. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996;213:123-61.
8. Wheelock MJ, Buck CA, Bechtol KB, Damsky CH. Soluble 80-kd fragment of cell-CAM 120/80 disrupts cell-cell adhesion. *J Cell Biochem.* 1987;34:187-202.
9. Katayama M, Hirai S, Kamihagi K, Nakagawa K, Yasumoto M, Kato I. Soluble E-cadherin fragments increased in circulation of cancer patients. *Br J Cancer.* 1994;69:580-5.
10. Griffiths TR, Brotherick I, Bishop RI, White MD, McKenna DM, Horne CH, et al. Cell adhesion molecules in bladder cancer: soluble serum E-cadherin correlates with predictors of recurrence. *Br J Cancer.* 1996;74:579-84.
11. Maguire TM, Shering SG, McDermott EW, O'Higgins N, Fennelly JJ, Crown J, et al. Assay of E-cadherin by ELISA in human breast cancers. *Eur J Cancer.* 1997;33:404-8.
12. Powel W, Matrisian LM. Complex roles of matrix metalloproteinases in tumor progression. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996;213:1-21.
13. Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinase in metastasis. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89:1262-70.
14. Freije JP, Díez-Itza I, Balbín M, Sánchez LM, Blasco R, Tolivia J, et al. Molecular cloning and expression of collagenase-3, a novel matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J Biol Chem.* 1994;269:16766-73.
15. Puente XS, Pendas AM, Llano E, Velasco G, López-Otin C. Molecular cloning of a novel membrane-type matrix metalloproteinase from human breast carcinoma. *Cancer Res.* 1996;56:944-9.
16. Franchi A, Santucci M, Masini E, Sardi I, Paglierani M, Gallo O. Expression of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 in carcinoma of the head and neck. *Cancer.* 2002;95:1902-10.
17. Cazorla M, Hernández L, Nadal A, Balbín M, López JM, Vizoso F, et al. Collagenase-3 expression is associated with advanced local invasion in human squamous cell carcinomas of the larynx. *J Pathol.* 1998;186:144-50.
18. Angelopoulou K, Diamandis EP, Sutheland DJ, Kellen JA, Buting PS. Prevalence of serum antibodies against the p53 tumor suppressor gene protein in various cancers. *Int J Cancer.* 1994;58:480-7.
19. Bourhis J, Lubin R, Roche B, Koscidny S. Analysis of p53 serum antibodies in patients with squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:1228-33.
20. Lavielle J, Lubin R, Soussi T, Reyt E, Brambilla C. Analysis of p53 antibody response in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res.* 1996;16:2385-8.
21. Altman D, Bossuyt P. Estudios de precisión diagnóstica (STARD) y pronóstica (REMARK). *Med Clin (Barc).* 2005;125 suppl 1:49-55.
22. Kuefer R, Hofer MD, Zorn CS, Engel O, Volkmer BG, Juárez-Brito MA, et al. Assessment of a fragment of e-cadherin as a serum biomarker with predictive value for prostate cancer. *Br J Cancer.* 2005;92:2018-23.
23. Rodrigo JP, Domínguez F, Álvarez C, Manrique C, Herrero A, Suárez C. Expression of E-cadherin in squamous cell carcinomas of the supraglottic larynx with correlations to clinicopathological features. *Eur J Cancer.* 2002;38:1059-64.
24. Kuropkat C, Plehn S, Herz U, Dunne AA, Renz H, Werner JA. Tumor marker potential of serum matrix metalloproteinases in patients with head and neck cancer. *Anticancer Res.* 2002;22:2221-7.
25. Riedel F, Gotte K, Schwalb J, Hormann K. Serum levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2000;20:3045-9.
26. Gorogh T, Beier UH, Baumken J, Meyer JE, Hoffmann M, Gottschlich S, et al. Metalloproteinases and their inhibitors: Influence on tumor invasiveness and metastasis formation in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck.* 2006;28:31-9.
27. Xu YP, Zhao XQ, Sommer K, Moubayed P. Correlation of matrix metalloproteinase-2, -9, tissue inhibitor-1 of matrix metalloproteinase and CD44 variant 6 in head and neck cancer metastasis. *J Zhejiang Univ Sci.* 2003;4:491-501.
28. Kuropkat C, Duenne AA, Herz U, Renz H, Werner JA. Significant correlation of matrix metalloproteinase and macrophage colony-stimulating factor serum concentrations in patients with head and neck cancer. *Neoplasma.* 2004;51:375-8.
29. Morgia G, Falsaperla M, Malaponte G, Madonia M, Indelicato M, Travali S, et al. Matrix metalloproteinases as diagnostic (MMP-13) and prognostic (MMP-2, MMP-9) markers of prostate cancer. *Urol Res.* 2005;33:44-50.
30. Nikkola J, Vihinen P, Vuoristo MS, Kellokumpu-Lehtinen P, Kahari VM, Pyrhonen S. High serum levels of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-1 are associated with rapid progression in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res.* 2005;11:5158-66.
31. Hofele C, Schwager-Schmitt M, Volkmann M. Prognostic value of antibodies against p53 in patients with oral squamous cell carcinoma-five years survival rate. *Laryngorhinotologie.* 2002;81:342-5.
32. Chow V, Yuen AP, Lam KY, Ho WK, Wei W. Prognostic significance of serum p53 protein and p53 antibody in patients with surgical treatment for head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2001;23:286-91.
33. Bourhis J, Lubin R, Roche B, Koscidny S. Analysis of p53 serum antibodies in patients with squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:1228-33.
34. Lavielle J, Lubin R, Soussi T, Reyt E, Brambilla C. Analysis of p53 antibody response in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res.* 1996;16:2385-8.
35. Ralhan R, Nath N, Agarwal S, Mathur M, Waslyk B, Shukla NK. Circulating p53 antibodies as early markers of oral cancer: correlation with p53 alterations. *Clin Cancer Res.* 1998;4:2147-52.
36. Wollenberg B, Jan NV, Pitzke P, Reiter W, Stieber P. Anti-p53 antibodies in serum of smokers and head and neck cancer patients. *Anticancer Res.* 1997;17:413-8.
37. Maass JD, Gottschlich S, Goeroghe T, Lippert BM, Werner JA. Head and neck cancer and p53-immunogenicity. *Anticancer Res.* 1997;17:2873-4.

## FE DE ERRATAS

En el artículo "Interés clínico de la semivida de eliminación del paracetamol como complemento al nomograma de Rumack en la valoración de la intoxicación por paracetamol" publicado en *Med Clin (Barc)*. 2007;129:501-3, se ha detectado el siguiente error:

En la última línea del resumen en castellano, *donde dice* "o cuando ésta haya sido" *debería decir* "o cuando ésta haya sido fraccionada".

En el artículo "Citogenética de la leucemia linfoblástica aguda del adulto", publicado en *Med Clin (Barc)*. 2007;129(Supl 1):23-8, se omitió el nombre de uno de los autores. La relación completa de autores es:

Isabel Granada Font y Fuensanta Millà Santos