

# ***INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA***



**Efecto del all-trans ácido retinoico sobre los niveles del factor de crecimiento neural y el desarrollo de neuropatía inducida por quimioterapia en pacientes con cáncer de pulmón avanzado**

**TESIS DE POSTGRADO**

***TRABAJO PRESENTADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA  
EN ONCOLOGÍA MÉDICA***

**PRESENTADO POR:**

***Dr. Felipe Eduardo Sánchez Rodríguez***

**ASESOR**

***Dr. Oscar Gerardo Arrieta Rodríguez***

**MÉXICO, D.F.**

**OCTUBRE 200**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	4
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1 <i>Neurotoxicidad por Quimioterapia</i> .....	6
2.2 <i>Factor de Crecimiento Neural y Neuropatía Inducida por Quimioterapia</i> .....	8
2.3 <i>Prevención de Neuropatía por Quimioterapia</i> .....	9
2.4 <i>All-trans-Ácido Retinoico y Neuroprotección</i> .....	9
2.5 <i>Interacciones entre Ácido Retinoico y Quimioterapia</i> .....	11
3. JUSTIFICACIÓN.....	12
4. HIPÓTESIS.....	13
5. OBJETIVO GENERAL.....	13
5.1 <i>Objetivos secundarios</i> .....	14
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
6.1 <i>Diseño</i> .....	14
6.2 <i>Población</i> .....	14
6.2.1 <i>Criterios de inclusión</i> .....	15
6.2.2 <i>Criterios de exclusión</i> .....	15
6.3 <i>Cuantificación del NGF sérico</i> .....	16
6.4 <i>Valoración Neurológica y Neurofisiológica</i> .....	17
6.5 <i>Análisis Estadístico</i> .....	18
7. RESULTADOS.....	20
8. DISCUSIÓN.....	24
9. TABLAS.....	27

<b>10.FIGURAS.....</b>	<b>34</b>
<b>11. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>36</b>

## RESUMEN

La neuropatía es uno de los efectos adversos más frecuentes del paclitaxel y cisplatino, que deterioran la calidad de vida del paciente oncológico. Al igual que en la neuropatía diabética, uno de los mecanismos fisiopatológicos de la neuropatía inducida por quimioterapia es la reducción del transporte y expresión del factor de crecimiento neural (NGF), citocina relacionada con la supervivencia y crecimiento neuronal. El ácido retinoico (AR) regula múltiples genes relacionados con la proliferación celular y metabolismo, también está asociado con la expresión del factor de crecimiento neural y su receptor. Algunos estudios *in vitro* y estudios fase I han sugerido que el ácido retinoico puede potenciar el efecto de la quimioterapia especialmente del paclitaxel y cisplatino. Nosotros desarrollamos un estudio prospectivo, fase II aleatorizado para determinar el efecto del all-trans retinoico sobre el desarrollo de la neuropatía inducida por paclitaxel y cisplatino en pacientes con cáncer de pulmón avanzado, además de valorar su efecto sobre los niveles del NGF en suero y estudiar su posible sinergismo con quimioterapia.

### **Pacientes y Métodos:**

Treinta y cuatro pacientes con cáncer de pulmón avanzado de células no pequeñas se incluyeron en el estudio para recibir quimioterapia paliativa a base de paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> y cisplatino 80 mg/m<sup>2</sup> cada 3 semanas. Entre las características basales de los pacientes la media de edad fue 58.9 ±12 años para el grupo placebo y 58.4 ±12 años para el grupo de AR (p 0.914). Se realizaron pruebas de sensibilidad clínica y velocidad de conducción nerviosa, así como medición de NGF en sangre previo a la aplicación de quimioterapia y después de dos ciclos. Se aleatorizaron los pacientes a recibir all-trans-ácido retinoico 20mg/día o placebo una semana previa a la quimioterapia hasta completar 2 ciclos.

### **Resultados:**

La presencia de neuropatía clínica grado I y II se incrementó significativamente en el grupo control posterior a 2 ciclos de quimioterapia (66% vs 24.1% p=0.05). El FCN disminuyó significativamente en el grupo placebo 4.89 pg/ml basal y 4.6 pg/ml (p=0.007) vs el grupo de AR 4.8 pg/ml y 4.7 pg/ml (p=0.107). En las pruebas de neurofisiología se observó que el grupo placebo tuvo mayor degeneración axonal motora en los nervios mediano derecho y en ambos tibiales. Como objetivo secundario analizamos la respuesta al tratamiento encontrando diferencias significativas en respuesta (completa y parcial) del 68.4% en el grupo de ácido retinoico versus 26.6% para el grupo placebo, con significancia estadística (RR = 2.6; 95% IC, 1.1 a 6.2; p = 0.016). se incrementó la supervivencia libre de progresión en el grupo experimental de 10.7 ± 5 meses vs 5.1 ± 0.8 meses.

**Conclusión:** El all trans ácido retinoico ejerce un efecto neuroprotector en pacientes con cáncer de pulmón avanzado tratados con quimioterapia basada en cisplatino y paclitaxel y muestra actividad en tasas de respuesta global y supervivencia libre de progresión.

## 1.-INTRODUCCIÓN

Uno de los numerosos efectos adversos que se han descrito por quimioterapia en el tratamiento de diversos tipos de cáncer es la neuropatía central y periférica. Se han descrito a la fecha efectos neurotóxicos con agentes como cisplatino, este puede causar neuropatía periférica que se manifiesta como parestesias y disestesias a dosis acumuladas mayores a 300 mg/m<sup>2</sup>. Efecto que puede permanecer hasta 5 meses después de haber completado el esquema e incluso llegar a ser irreversible. De manera similar, el paclitaxel, utilizado en cáncer de ovario, mama y pulmón, causa alteraciones sensoriales como efectos adversos a corto plazo después del tratamiento 48 horas y a partir de dosis acumulativa de 100-200 mg/m<sup>2</sup>. El factor de crecimiento neural (NGF) por sus siglas en inglés *Neural Growth Factor*, es el principal miembro de una familia de factores de crecimiento relacionados con la regeneración neural, cuyas concentraciones se encuentran reducidas en diversas neuropatías experimentales y en humanos, como en la neuropatía diabética. Hasta el momento no hay estudios que prueben que este factor sea exitoso como agente neuroprotector. Sin embargo, se ha descrito en estudios in vitro e in vivo que la administración de ácido retinoico puede potenciar el efecto neuroprotector del NGF y otras sustancias neurotróficas que comparten vías intracelulares relacionadas con el crecimiento neuronal y supervivencia.

## **2.-ANTECEDENTES**

### **2.1-Neurotoxicidad por Quimioterapia**

Uno de los numerosos efectos adversos que se han descrito por quimioterapia en el tratamiento de diversos tipos de cáncer es la neuropatía central y periférica; esta constituye un efecto adverso común de varios agentes antineoplásicos (Verstappen et al 2003). La presencia de neuropatía periférica puede delimitar la dosis máxima cuando se administra paclitaxel, vincristina y/o cisplatino. En estudios fase II en pacientes con cáncer avanzado, el paclitaxel y carboplatino ocasionó neuropatía clínica grado 3 y 4 de 11 y 9% respectivamente (Loesh et al 2002).

La importancia de la detección de neuropatía es conocer límites de toxicidad e impacto en calidad de vida. El manejo de la neurotoxicidad consiste en la reducción de la dosis de los agentes antineoplásicos o la administración de manera fraccionada. Los pacientes con diabetes o enfermedades neurológicas hereditarias y pacientes que han recibido quimioterapias previas tienen mayor susceptibilidad para desarrollar neuropatía.

El Cisplatino es ampliamente utilizado en el tratamiento de cáncer de ovario, vejiga, testículo, pulmón y cabeza y cuello. La neuropatía periférica es un efecto adverso común y puede delimitar la dosis. Los síntomas sensoriales como parestesias y disestesias generalmente se dan cuando las dosis acumuladas de cisplatino son mayores a 300 mg/m<sup>2</sup> (Boogerd et al 1990). El deterioro neuropático puede permanecer hasta después de 2 a 5 meses después de completar el esquema con cisplatino (Lomonaco et al 1992). Las fibras sensoriales largas son las que se afectan predominantemente,

generando pérdida de propiocepción, abolición de los reflejos rotulianos y del tobillo, y moderada a severa disminución de la sensación al dolor y temperatura. Los estudios de conducción nerviosa muestran disminución de potenciales de acción y latencia prolongada sensorial en regiones distales y disminución moderada de la velocidad de conducción nerviosa (Riggs et al 1988). El mecanismo que se le atribuye a estos efectos no está claro aún, pero en un estudio postmortem, la mayor concentración de cisplatino fue encontrada en las raíces dorsales de las células ganglionares. Por lo tanto, el cisplatino probablemente causa cambios axonales secundarios al daño neuronal (Gregg et al 1992). El carboplatino, análogo de cisplatino, es menos neurotóxico que el compuesto original pero puede causar neuropatía sensorial severa a dosis altas y puede potenciar los efectos neurotóxicos con agentes como taxanos y alcaloides de la vinka (Markmann et al 2001).

El paclitaxel tiene la capacidad de bloquear las células en fase tardía de G2 de la mitosis del ciclo celular por polimerización y estabilización de microtúbulos (Jordan & Wilson 2004). Es ampliamente utilizado en cáncer de ovario, mama y pulmón. Los síntomas sensoriales son los efectos adversos predominantes asociados con paclitaxel, se pueden desarrollar a corto plazo después del tratamiento (48 horas), usualmente después de una dosis acumulativa de 100-200 mg/m<sup>2</sup> (van Gerven et al 1994). Los síntomas inician con parestesias, disestesias y algunas veces dolor en pies y manos (Postma et al 1995). Las dificultades al realizar actividades de la vida diaria como escritura entre otras pueden ocurrir. Además, se ha reportado inestabilidad para la marcha, especialmente en la oscuridad. Los reflejos osteotendinosos profundos desaparecen y la percepción vibratoria aumenta el umbral preferentemente en pies más que en manos. Cuando dosis de paclitaxel mayores de 250 mg/m<sup>2</sup> se administra en

combinación con factor estimulante de colonias de granulocitos de rescate para mielotoxicidad, la neuropatía se convierte en un factor limitante de la dosis (Schiller et al 1994). Los estudios de conducción nerviosa muestran una reducción de los potenciales de acción sensoriales en pacientes que han recibido paclitaxel. Los potenciales de acción surales están casi siempre reducidos o ausentes en pacientes sintomáticos. Al examen histológico del nervio sural después de paclitaxel muestra pérdida de fibras, ausencia de ramificaciones y atrofia axonal (Sahenk et al 1994). El mecanismo de daño es a través de inhibición del transporte axonal, generado por la inhibición de la despolimerización de microtúbulos que resulta en microtúbulos rígidos.

## **2.2-Factor de Crecimiento Neural y Neuropatía Inducida por Quimioterapia**

El factor de crecimiento neural (NGF) es el principal miembro de una familia de factores de crecimiento relacionados con la supervivencia y regeneración neuronal, principalmente en neuronas ganglionares simpáticas. Sus concentraciones se encuentran reducidas en diversas neuropatías experimentales y en humanos, como en la neuropatía diabética (Arrieta et al 2005). La administración de NGF en animales reduce la neuropatía diabética (Apfel et al 1994). En estudios fase II, la administración de NGF demostró mejorar los síntomas (Apfel 1998), sin embargo en estudios fase III, el beneficio fue reducido y con elevados costos, por lo que los estudios clínicos con NGF fueron suspendidos (Apfel 2000). La falta de beneficio, se podría explicar debido a que el NGF es aplicado subcutáneamente y posteriormente se absorbe, limitando sus concentraciones en el sitio de acción, el nervio periférico.

En modelos animales la aplicación de paclitaxel, reduce significativamente los niveles circulantes de NGF (Arrieta et al 2005). En neuronas de ganglios simpáticos y en

ratones, la administración de NGF recombinante previene y retarda la neuropatía inducida por cisplatino, paclitaxel y vincristina (Apel et al 1992, Hayakawa et al 1998). Estudios en pacientes que reciben paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> y cisplatino 75 mg/m<sup>2</sup>, presentan una reducción de los niveles de NGF circulantes, los cuales se correlacionan con la severidad de la neuropatía inducida por quimioterapia (Cavaletti et al 2004).

### **2.3-Prevención de Neuropatía por Quimioterapia**

Los agentes neuroprotectores idealmente deben reducir la neurotoxicidad por quimioterapia sin reducir el efecto antineoplásico del medicamento. Desafortunadamente, la información con la que contamos de fármacos neuroprotectores y la eficacia de los mismos es controversial hasta el momento. Actualmente se ha utilizado como tratamiento preventivo fármacos antioxidantes, con resultados promisorios, sin embargo aún no existe un tratamiento preventivo efectivo (Argyriou et al 2005).

### **2.4-All-trans-Ácido Retinoico y Neuroprotección**

El ácido retinoico (AR) tiene marcados efectos en proliferación y diferenciación celular. Además interfiere con la activación de factores de transcripción, que aumentan la expresión de factores de crecimiento neural y de su receptor (v Holst et al 1997, Plum 1996, Cosgaya et al 1996); además, mejora la supervivencia de neuronas simpáticas, aumenta la regeneración que es promovida por el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDGF) (Mey et al 1999), aumenta la expresión del receptor del factor de crecimiento neurotrófico ciliar (Wang et al 1998) y mejora el crecimiento neurítico por

la activación del receptor X retinoide en cultivo de células neuronales (Brand et al 2002). El ácido retinoico también disminuye apoptosis inducida por estaurosporina en cultivo de neuronas, mostrando un fuerte efecto neuroprotector (Ahlemeyer 2000). Durante el desarrollo, el ácido retinoico endógeno aumenta la síntesis de NGF y promueve la diferenciación de células de la glia y neurales. Estos hallazgos sugieren que el NGF es un promotor de trascrición de regeneración neural (Wion et al 1987, Nakanishi et al 1996, Voigt et al 2000, Mey 2001).

El ácido retinoico puede potencial el efecto neuroprotector del NGF y otras sustancias neurotróficas que comparten vías intracelulares relacionadas con el crecimiento neuronal y supervivencia (Mey et al 1999, Plum 2001). En un sistema de retroalimentación, el ácido retinoico y el NGF pueden potenciarse el uno al otro, el NGF induce la síntesis de ácido retinoico por la vía de expresión de la enzima deshidrogenasa de retinaldehido tipo 2, mientras la inhibición de la síntesis de ácido retinoico bloquea el crecimiento neural dependiente de NGF. Además de incrementar los niveles de NGF, el ácido retinoico estimula directamente el crecimiento neural por las mismas vías del NGF (Corcoran 1999). La familia de neurotrofinas es un grupo de polipéptidos que influye en el desarrollo y función del sistema nervioso. Entre los miembros de las neurotrofinas incluye al factor de crecimiento neural, neurotrofina 3 (NT3), factor derivado de cerebro (BDNF), que actúan por efecto de receptores de tirosín cinasa. La presencia de estos factores está relacionada con el desarrollo de arborizaciones dendríticas y proyecciones axonales. Estas se encuentran en concentraciones más altas después de un evento dañino al nervio y como efecto estimulan la regeneración neural.

La administración de all trans- ácido retinoico en ratones diabéticos disminuye las alteraciones bioquímicas, morfológicas y clínicas de la neuropatía diabética. La depleción drástica de factor de crecimiento neural en ratones diabéticos, no solo fue

revertida, sino que con la administración de ácido retinoico se incrementaron significativamente comparados con los controles sanos (Arrieta 2005).

## **2.5-Interacciones entre Ácido Retinoico y Quimioterapia**

El efecto sinérgico de la combinación del paclitaxel y el platino con el ácido retinoico ha sido demostrado para múltiples neoplasias en diferentes estudios. Los retinoides, derivados del ácido retinoico, son importantes factores involucrados en el control de funciones biológicas tales como el crecimiento y diferenciación celular, así como la carcinogénesis (Pettersson et al 2001). Dicho efecto sinérgico se obtiene mediante múltiples mecanismos de acción descritos para la interacción de las distintas neoplasias con uno u otro agente quimioterapéutico.

El ácido 13-Cis-retinoico y el cisplatino son altamente sinérgicos contra el cáncer epidermoide de cabeza y cuello in vitro; de hecho, el pretratamiento con 20 mg/día de ácido retinoico en pacientes con cáncer escamoso de cabeza y cuello en estadio IV resulta en un efecto sinérgico comparado con la administración aislada, además de ser bien tolerada (Weisman et al 1998). En el caso del adenocarcinoma de ovario, el empleo pretratamiento del all-trans ácido retinoico potencia el efecto citotóxico del cisplatino. Los mecanismos potenciales para tal sinergismo podrían incluir la modulación del receptor para el factor de crecimiento epidérmico y la inhibición de glutathione-S transferasa con un aumento en formación de aductos de DNA (Caliaro et al 1997). En el caso del adenocarcinoma de páncreas, el pretratamiento con retinoides seguido de gemcitabine o cisplatino resulta también en fuerte aumento en el porcentaje de células en apoptosis tanto in vitro como in vivo (Pettersson et al 2001). Dentro de la terapia del

neuroblastoma se ha descrito la inducción de apoptosis dependiente de caspasas por los ácidos retinoicos beta/gamma selectivos.

El efecto sinérgico del ácido retinoico con quimioterapia lleva incluso a la disminución de la dosis mínima terapéutica del paclitaxel para una amplia variedad de líneas celulares tumorales cuando éste se asocia a retinoides alfa/beta selectivos, mediante la interacción con la expresión y fosforilación de Bcl-2 (Vivat-Hannah et al 2001).

Finalmente, el ácido retinoico y el interferón alfa, drogas con conocida actividad biológica contra carcinomas epidermoides de cabeza y cuello aún usadas en forma aislada, adquieren también, mediante su uso combinado, una marcada actividad sinérgica anti-angiogénica de manera experimental (Lingen et al 1998)

No existe ningún estudio que demuestre efectos antagonistas de la quimioterapia y el ácido retinoico, por el contrario, los estudios in vitro, modelos animales y en pacientes muestran efecto sinérgico.

### **3.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La neuropatía periférica es un efecto adverso común que limita la dosis de agentes quimioterapéuticos efectivos como cisplatino y paclitaxel, además deteriora la calidad de vida.

La prevención o tratamiento de la neuropatía inducida por estas drogas no ha tenido resultados satisfactorios.

Investigar esquemas que potencian el efecto de la quimioterapia sin aumentar los efectos

### **3.-JUSTIFICACIÓN**

La neuropatía periférica es un efecto adverso común que limita la dosis de agentes quimioterapéuticos efectivos como cisplatino y paclitaxel, además deteriora la calidad de vida.

La prevención o tratamiento de la neuropatía inducida por estas drogas no ha tenido resultados satisfactorios.

Investigar esquemas que potencian el efecto de la quimioterapia sin aumentar los efectos adversos, es de gran importancia para mejorar el pronóstico de pacientes con cáncer de pulmón.

### **4.-HIPÓTESIS**

El ácido retinoico elevara los niveles circulantes de NGF en pacientes que reciben quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatino.

El ácido retinoico disminuirá las alteraciones en la velocidad de conducción nerviosa en pacientes que reciben quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatinbo.

El ácido retinóico reducirá las alteraciones sensitivas en los pacientes que reciben quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatino.

El acido retinoico incrementa la respuesta del paclitaxel y cisplatino en pacientes con cáncer de pulmón avanzado.

## **5.-OBJETIVO GENERAL**

- Determinar si el ácido retinoico previene las alteraciones clínicas sensitivas en pacientes que reciben quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatino.
- Determinar si el ácido retinoico eleva los niveles circulantes de NGF en pacientes que reciben quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatino
- Determinar si el ácido retinoico previene las alteraciones en la velocidad de conducción nerviosa en pacientes que reciben quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatino.

### **5.1-Objetivo Secundario:**

- Determinar si el ácido retinoico incrementa la tasa de respuesta en combinación con quimioterapia basada en paclitaxel y cisplatino en pacientes con cáncer avanzado de pulmón de células no pequeñas.
  
- Analizar la supervivencia libre de progresión en pacientes, con cáncer avanzado de pulmón, que reciben quimioterapia con paclitaxel y cisplatino combinada o no con ácido retinoico.

## **6.-MATERIAL Y METODOS**

### **6.1-Tipo de Estudio**

Estudio clínico Fase II doble ciego y aleatorizado controlado

### **6.2-Población**

Se reclutaron 41 pacientes del Instituto Nacional de Cancerología con cáncer de pulmón avanzado candidatos a quimioterapia paliativa. Los pacientes se aleatorizaron a recibir placebo (n= 21) o ácido retinoico (n=20). Se excluyeron a 7 pacientes, dos del grupo de ácido retinoico ( uno murió por trombo embolismo pulmonar durante la evaluación para inicio de tratamiento y otro paciente por continuar tratamiento fuera de la Institución) y cinco pacientes del grupo placebo ( dos abandonaron el tratamiento, y tres murieron durante la evaluación para inicio de tratamiento). Para la evaluación final de resultados se analizaron 34 pacientes, de los cuales 19 en el grupo de ácido retinoico y 15 pacientes en el grupo placebo.

#### **6.2.1-Criterios de Inclusión**

Pacientes con cáncer avanzado de pulmón de células no pequeñas candidatos a recibir quimioterapia paliativa a base de paclitaxel  $175 \text{ mg/m}^2$  y cisplatino  $80 \text{ mg/m}^2$  cada 3 semanas durante dos ciclos; estado general con un Karnofski igual o mayor de 70% , ECOG de 0 a 2 y exámenes de laboratorio dentro de rangos normales (pruebas de función hepática y citología hemática, así como depuración mayor de 70 ml por minuto).

Todos los pacientes firmaron consentimiento informado.

### **6.2.2-Criterios de exclusión**

Pacientes que rehúsen entrar al protocolo; pacientes que requieran reducción de la dosis de quimioterapia por alteraciones en sus exámenes de laboratorio. Pacientes con enfermedades que estén asociadas a neuropatías, enfermedades neurológicas hereditarias o síndromes paraneoplásicos. Pacientes con pobre estado funcional ( ECOG 3,4). Ausencia de diagnóstico histológico. Tratamiento previo con quimioterapia. Metástasis cerebrales sin tratamiento previo de radioterapia seis semanas previas.

### **6.3-Cuantificación del NGF sérico**

Para cuantificar el NFG sérico, antes de iniciar la quimioterapia y después de dos ciclos, se tomó sangre por punción venosa, se centrifugó inmediatamente y se adicionó un inhibidor de proteasas (aprotinina  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) y las muestras se conservarán a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Las muestras se centrifugaron a  $100\ 000 \times g$  por 10 minutos a 4 grados centígrados. El sobrenadante se mezcla con Triton X-100 al 0.2%, en  $\text{CaCl}_2$   $20 \text{ mmol L}^{-1}$  (dilución 1:1). Las muestras fueron procesadas por ELISA, en pozos previamente tratados con anticuerpos monoclonales dirigidos contra factor de crecimiento neural de ratón (reacción cruzada con el NGF humano) ( $\text{anti}\beta$  [2;5 S]  $0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$  NFG, Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany). Se incubaron por 2 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  y posteriormente se lavaron con Tris-HCL/Triton X-100, en un pH 7. Se tomaron  $200 \mu\text{l}$  de suero y se diluyó en el mismo buffer (1:2), se incubó durante la noche a 4 grados. Después los pozos se lavaron tres veces con buffer Tris-HCL/Triton y anticuerpo

monoclonal anti $\beta$  (2;5 S); el NGF marcado con  $\beta$ -galactosidasa (Roche Molecular Biochemicals) en dilución 1:10 como tercer reactivo. Después de 4 horas de incubación a 37°C se lavaron los pozos con solución de rojo clorofenol de galactopiranozida (Roche Molecular Biochemicals); la reacción colorimétrica se interpretó después de 90 minutos en un espectrofotómetro a 570 nm. Para cada muestra, el contenido de NGF se determinó con una curva estándar hecha con diluciones sucesivas de NGF en buffer con 5-300  $\text{pg ml}^{-1}$ .

#### **6.4-Valoración Neurológica y Neurofisiológica**

Todos los pacientes incluidos fueron evaluados previo al tratamiento por el mismo neurólogo, quién realizó la evaluación electrofisiológica y permaneció ciego al grupo de tratamiento.

La evaluación clínica de neuropatía estará basada en un Puntaje de Síntomas Neurológicos (PSN) y un Puntaje de Discapacidad Neurológica (PDN). Neurologic Symptom Score (NSS) y Neurologic Disability Score (NDS) propuesta por Dyck et al. NSS selecciona síntomas como debilidad, parestesias, dolor y se evalúa como 1 presente, 0 ausente. Signos clínicos (función de pares craneales, posición de articulaciones, percepción álgica y vibración, así como fuerza muscular y reflejos tendinosos profundos. Se evalúan como 0 no déficit a 4 ausencia de función o déficit grave.

Los síntomas seleccionados por PSN tales como debilidad, disestesia o dolor se evalúan

como presentes (1) o ausentes (0). Signos clínicos (funciones de nervios craneales, posición articular, sensibilidad álgida y sensación vibratoria; fuerza muscular y reflejos tendinosos profundos) se determinaron usando una versión modificada de PDN valorada desde 0 (no déficit) hasta 4 (ausencia de función/déficit severo).

La valoración neurofisiológica realizada ipsilateralmente (lado derecho), utilizando métodos estandarizados de estimulación de superficie. Estudios electrofisiológicos incluirán conducción motora del nervio cubital y peroneal con medidas de picos de amplitud basales del potencial de acción del músculo, latencia motora distal, velocidad de conducción motora y latencia mínima estimada de onda-F a partir de la cuantificación de 20 ondas-F. La conducción sensitiva cubital (técnica ortodrómica), sural y nervios superficiales peroneos (técnica antidrómica y segmento proximal) se determinó midiendo la amplitud entre pico y pico de potenciales de acción sensitivos (a-SAP), también se midió la velocidad de conducción. Todas las pruebas mencionadas fueron repetidas después de 2 ciclos de quimioterapia.

Los resultados clínicos y neurofisiológicos se recopilaran como se describió anteriormente y por el puntaje modificado de neuropatía periférica (Chaudhry et al 1994).

Los criterios para neurotoxicidad se dividen en: leve (1 a 11), moderado (12 a 23) y severo (más de 24) de acuerdo al sistema establecido por la OMS en escalas de 1 a 3 para neuropatía periférica inducida por quimioterapia (Miller et al 1981). El margen de seguridad se logró monitorizando los efectos adversos generales que son reportados al interrogatorio por los pacientes durante el periodo de estudio.

## 6.5.-Análisis Estadístico

Las variables continuas fueron expresadas por media  $\pm$  error estándar. Las variables normales fueron expresadas en proporciones. Para la comparación entre los dos grupos se utilizaron las pruebas de  $X^2$  y prueba exacta de Fisher para proporciones, así como t de student y U de Mann Whitney para variables continuas, dependiendo si presentaban distribución normal y homogeneidad de varianza. El análisis fue pareado para la comparación de alteraciones neurológicas y en las pruebas de fisiopatología a través de la prueba de McNemar y rangos de Wilcoxon. La comparación pareada de los niveles de factor de crecimiento neural fue realizada a través de la prueba de t pareada. El análisis multivariado de respuesta a quimioterapia fue realizado con regresión logística múltiple para las variables significativas o cercanas a serlo ( $p < 0.1$ ). El análisis de supervivencia fue realizado por Kaplan y Meier y comparado con long rank o Breslow según corresponda. El análisis multivariado de supervivencia para variables significativas fue realizado por prueba de proporción de cox. Para la determinación de respuesta y supervivencia libre de progresión todos los pacientes fueron evaluados con tomografía inicial no más de tres semanas antes de iniciar el tratamiento y posterior a dos ciclos de quimioterapia, los pacientes fueron evaluados de manera ciega al grupo asignado para determinar respuesta a través de los criterios de RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) definiendo respuesta completa como la desaparición de todas las lesiones blanco radiológicas y por tomografía en un período igual o superior a 4 semanas; respuesta parcial como la disminución igual o mayor al 30% de la lesión basal valorado en un tiempo igual o más de 4 semanas; progresión de la enfermedad como un incremento de la lesión inicial igual o mayor al 20% o la

aparición de nuevas lesiones y se definió enfermedad estable cuando no se cumplía ni el criterio de respuesta parcial o progresión de la enfermedad. La supervivencia libre de progresión se definió en meses desde inicio del tratamiento hasta la progresión radiológica o clínica. Todas las pruebas tuvieron una evaluación de dos colas y se consideró significativo con un valor de  $p < 0.05$ . El análisis se realizó usando software SPSS para Windows versión 10.

## 7.-RESULTADOS

Cuarenta y uno pacientes se incluyeron en el estudio, 21 pacientes en el grupo placebo y 20 pacientes en el grupo de ácido retinoico, de los cuales 34 fueron elegibles para evaluación y se sometieron a las pruebas de neurofisiología, exploración física y asignados al grupo de estudio correspondiente. La media de edad fue  $58 \pm 11$  años para el grupo placebo y  $56 \pm 9$  para el grupo de ácido retinoico ( $p = 0.56$ ). Doce pacientes del grupo placebo tuvieron ECOG de 1 y 10 pacientes con ECOG de 2; para el grupo de ácido retinoico 19 pacientes con ECOG de 1 y 2 pacientes con ECOG de 2, no hubo diferencias entre ambos brazos ( $p = 0.13$ ). El estadio clínico fue IIIB y IV 12 y 88% respectivamente en el grupo placebo, mientras que 45 y 55% en el grupo de ácido retinoico respectivamente ( $p=0.57$ ). Para el grupo placebo 50% el carcinoma epidermoide y el adenocarcinoma 36% fueron los principales grupos histológicos y para el grupo experimental el adenocarcinoma 67% y el carcinoma epidermoide 26%. Tabaquismo 78.6% en el grupo placebo y 67% en el grupo experimental, pero no significativo ( $p = 0.5$ ). Otras características como género, el índice tabáquico, la intensidad de dosis de cisplatino o paclitaxel y niveles de antígeno carcinoembrionario, entre ambos grupos fueron similares, como se muestra en la **Tabla 1**.

### **Factores Asociados a Respuesta**

Los factores como género, edad, ECOG, tabaquismo, tipo histológico, estadio, nivel de antígeno carcinoembrionario, albúmina, intensidad de dosis de paclitaxel o de cisplatino no tuvieron asociación estadísticamente. Los factores asociados a respuesta fueron el tratamiento con respuesta globales (completa y parcial) del 68.4% en el grupo de ácido retinoico versus 26.6% para el grupo placebo, con significancia estadística (RR = 2.6; 95% IC, 1.1 a 6.2;  $p = 0.016$ ). Otro factor con asociación

límite fue los niveles de albúmina, como se muestra en la **Tabla 2 y Tabla 3**.

### **Toxicidad por el tratamiento**

La neuropatía clínica se encontró ausente antes de iniciar el tratamiento con quimioterapia en más del 70% de los pacientes independientemente del grupo de estudio (AR: 78% y Placebo: 73%) y solo se presentó en grados I y II en todos los pacientes, basándonos en los criterios del NCI versión 2.0. En todos los pacientes se incrementó la presencia de neuropatía clínica después de la aplicación de dos ciclos de quimioterapia basada en cisplatino y paclitaxel, con significancia estadística ( $p = 0.01$ ). Al analizar el grupo placebo la neuropatía grado I y II se presentó de manera basal en un 26.7% y posterior al tratamiento en 66%. En el grupo de ácido retinoico la neuropatía basal se presentó en un 17.1% y posterior a dos ciclos de tratamiento en un 24.1%.

Al analizar los grupos se demuestra que la neuropatía clínica GI/II disminuye en el brazo experimental alcanzando significancia estadística, ( $p = 0.05$ ) como lo muestra la **Tabla 4**.

De manera global la toxicidad presentada fue leve, manejable, no hubo diferencia estadística en la toxicidad hematológica, gastrointestinal, cardíaca, renal y en el estado general entre el grupo de ácido retinoico y placebo, como se muestra en la **Tabla 5**.

### **Factor de Crecimiento Neural**

El Factor de Crecimiento Neural (FCN) disminuyó de manera general en todos los pacientes al relacionar los niveles basales previo al tratamiento con quimioterapia con

rangos de 4.86 pg/ml basales a 4.73 pg/ml posterior a dos ciclos de quimioterapia con cisplatino y paclitaxel (**Fig.1**), en el grupo placebo el factor de crecimiento neural disminuyó significativamente  $p = 0.004$ , cuando se compara con el grupo de ácido retinoico la tendencia a disminuir, no fue estadísticamente significativa valor global de 4.8pg/ml basal a 4.7pg/ml después de dos ciclos de quimioterapia  $p = 0.107$ , como muestra la **Tabla 6**.

### **Valoración Neurofisiológica**

Al hacer las mediciones neurofisiológicas a través de medir la velocidad de conducción nerviosa antes y después del tratamiento con quimioterapia, se observó que el grupo placebo después de ser tratado con dos ciclos a base de cisplatino y paclitaxel presentó significativamente incremento de neuropatía leve, moderada y severa midiendo picos de amplitud del potencial de acción en el músculo, valorando el nervio motor medial derecho (MMDA) con  $p = 0.004$ , también en el motor tibial izquierdo (MTIA) con  $p = 0.05$  y en el motor tibial derecho (MTDA) con valor de  $p = 0.05$ . La neuropatía severa en el grupo placebo fue mayor el porcentaje en todas las mediciones al comparar el nivel basal y después de dos ciclos de quimioterapia, MMDA de 0% a 9.1%; MTIA de 10.5% a 27% y MTDA de 4.8% a 27% lo que muestra la **Tabla 7**.

Para el grupo con ácido retinoico solamente se presentó una elevación significativa del porcentaje de neuropatía, al realizar la velocidad de conducción nerviosa, a nivel del nervio motor tibial izquierdo (MTIA)  $p = 0.02$ , la neuropatía severa en este se incrementó de un nivel basal de 0% a 18% después de dos ciclos de quimioterapia con cisplatino y paclitaxel, mientras que no se presentó de esta forma a nivel del nervio motor medial derecho (MMDA)  $p=0.564$  y del nervio motor tibial derecho (MTDA)  $p = 0.414$ , y la neuropatía leve, moderada y severa permaneció sin cambios significativos

en estos dos últimos y con porcentajes basales de neuropatía severa de 11.8% en ambos y post-tratamiento de 9.1% en ambos respectivamente, lo que muestra la **Tabla 8**.

### **Supervivencia Libre de Progresión**

Los factores asociados con mayor supervivencia libre de progresión fueron el ECOG 1 y el tratamiento con ácido retinoico. El ECOG de 1, con una supervivencia media libre de progresión de  $10.7 \pm 1.2$  meses versus un ECOG 2 con una supervivencia media libre de progresión de  $4.1 \pm 1.3$  meses ( $p = 0.03$ ) **Fig 2**. En relación al tratamiento se observó diferencia significativa en la supervivencia libre de progresión entre los dos grupos, con una supervivencia media libre de progresión de  $10.7 \pm 5$  meses para el grupo de ácido retinoico y de  $5.1 \pm 0.8$  meses para el grupo placebo ( $p = 0.006$ ), **Fig. 3**. El género, la edad mayor de 58 años ó menor de esta, el tabaquismo positivo o negativo, el tipo histológico y el estadio clínico IIIB o IV no fueron factores asociados a mayor supervivencia sin progresión, como muestra la **Tabla 9**.

En el análisis multivariado tomando en cuenta el ECOG, el tabaquismo y el tratamiento, únicamente el tratamiento mostró disminuir el riesgo de muerte en todos los pacientes (RR=0.2; 95% IC, 0.4 a 0.9;  $p=0.05$ ) como se muestra en la **Tabla 10**.

### **8.-DISCUSIÓN**

En estudios in vitro, fase I y fase II se ha demostrado sinergismo en la combinación de ácido retinoico con agentes como docetaxel, paclitaxel y cisplatino en diferentes neoplasias. La combinación de all-trans ácido retinoico disminuye más marcadamente la expresión de Bcl-2 relacionada a Bax e induce apoptosis incrementando más la respuesta con la combinación, que con una droga sola. El efecto sinérgico del ácido

retinoico con quimioterapia lleva incluso a la disminución de la dosis mínima terapéutica del paclitaxel para una amplia variedad de líneas tumorales cuando éste se asocia a retinoides alfa/beta selectivos mediante la interacción con la expresión y fosforilación de Bcl-2. En este estudio, se incluyeron dos agentes de los más efectivos en primera línea en cáncer de pulmón de células no pequeñas, basado en cisplatino y paclitaxel; estudios reportados con este esquema en primera línea alcanzan respuestas aproximadas del 17% al 40% . En un estudio piloto fase II con 30 pacientes en cáncer de pulmón de células no pequeña combinando ácido retinoico con quimioterapia basada en platino se reportaron respuestas globales del 40%. En este estudio la tasa de respuesta alcanzada fue de 68.4% para el grupo que recibió quimioterapia más ácido retinoico y solo de un 26.6% para el grupo placebo con lo que confirmamos igual que otros estudios el sinergismo entre el all-trans retinoico con el paclitaxel y cisplatino.

La neurotoxicidad por agentes de quimioterapia aun no se ha evaluado satisfactoriamente, con la incorporación de los factores estimulantes de colonias para disminuir la toxicidad hematológica cuando se administran drogas como cisplatino y paclitaxel, ampliamente utilizados en el tratamiento de diversos tumores, la neurotoxicidad continua siendo limitante de dosis llevando a modificaciones en la posología, disminución de dosis o suspensión del tratamiento y ocasionando deterioro en la calidad de vida de los pacientes. Nosotros encontramos que la presencia de neuropatía clínica grado I y II se incrementó significativamente en el grupo control posterior a dos ciclos de quimioterapia 66% versus 24.1% ( $p = 0.05$ ). Se han estudiado otros agentes con fines neuroprotectores como glutamina, carbamazepina, vitamina E entre otros. La vitamina E, en un estudio piloto randomizado fase II con 31 pacientes que recibieron quimioterapia con cisplatino y paclitaxel reportaron disminución de la neurotoxicidad en el grupo tratado con vitamina E 25% versus 73.3% en el grupo

control. El número pequeño de pacientes reportado en los distintos estudios continúa siendo un factor limitante para valorar objetivamente la neurotoxicidad inducida por quimioterapia, aunque los resultados son promisorios.

El ácido retinoico tiene marcados efectos en proliferación y diferenciación celular e interfiere con la activación de factores de transcripción, que aumentan la expresión del factor de crecimiento neural y de su receptor. El ácido retinoico potencia el efecto neuroprotector del factor de crecimiento neural y otras sustancias neurotróficas. En este estudio realizamos medición en sangre de los niveles del factor de crecimiento neural (NGF) antes de iniciar el tratamiento y después de dos ciclos de quimioterapia. Nosotros no encontramos diferencias significativas entre el rango basal y el nivel post tratamiento con ácido retinoico, rangos basales de 4.8 pg/ml y de 4.7 pg/ml posterior a dos ciclos. Pero cuando se dio el tratamiento solo de quimioterapia la disminución del NGF fue significativa. En estudio con ratones que se indujo diabetes, la administración de ácido retinoico disminuyó las alteraciones bioquímicas, morfológicas y clínicas de la neuropatía diabética e incrementó los niveles del factor de crecimiento neural comparado con controles sanos. Probablemente se requiera una dosis mayor de 20mg/día de ácido retinoico y un tiempo más prolongado de administración para incrementar importantemente los niveles del factor de crecimiento neural y también aumentar el efecto neuroprotector del mismo y otras sustancias neurotróficas que comparten vías intracelulares relacionadas con el crecimiento neural y supervivencia.

Para valorar las alteraciones sensitivas y motoras nosotros investigamos la presencia de síntomas clínicos antes de iniciar el tratamiento con quimioterapia basada en cisplatino y paclitaxel tomando en cuenta criterios clínicos aplicados en otros estudios, además valoramos, a nivel de extremidades superiores e inferiores, la función de nervios

motores y sensitivos por estudio electrofisiológico mediante velocidad de conducción nerviosa (nervio medial izquierdo, medial derecho, cubital izquierdo y cubital derecho respectivamente ) también de nervios motores y sensitivos de extremidades inferiores (tibial izquierdo y derecho, perineal izquierdo y derecho, surar izquierdo y derecho respectivamente) mostrándose los resultados en el motor medial derecho, motor tibial izquierdo y motor tibial derecho (tablas 8 y 9) aunque en las demás pruebas no se encontraron cambios significativos (datos no mostrados). Los estudios de conducción nerviosa, en pacientes que reciben cisplatino, muestran disminución de potenciales de acción y latencia prolongada sensorial en regiones distales y disminución moderada de la conducción nerviosa, el mecanismo que se le atribuye a estos efectos no está claro aún, pero en un estudio postmortem, la mayor concentración de cisplatino fue encontrada en las raíces dorsales de las células ganglionares, por lo tanto el cisplatino probablemente causa cambios axonales secundarios al daño neuronal. Otros estudios además de pruebas electrofisiológicas han realizado la valoración histológica del nervio mediante biopsia, demostrando cambios en el tejido nervioso, identificando degeneración axonal inducida por taxanos, disminución de densidad en fibras mielínicas y pérdidas de fibras largas. En este estudio únicamente valoramos el daño neural por estudio de velocidad de conducción, encontrando incremento del daño severo en el grupo placebo y en el MTIA del grupo experimental.

Como objetivo secundario analizamos la respuesta al tratamiento y al compararlo encontramos diferencias significativas en respuesta en el brazo de tratamiento con ácido retinoico 68.4% versus un 26.6% en el grupo placebo, con incremento en la supervivencia libre de progresión en el grupo experimental de  $10.7 \pm 5$  meses y de  $5.1 \pm 0.8$  meses en el grupo placebo, también los pacientes con ECOG más bajo presentaron mayor período libre de progresión.

La combinación del all-trans ácido retinoico con quimioterapia, basada en paclitaxel y cisplatino, es activa en cáncer de pulmón avanzado y mejora la supervivencia libre de progresión. Se debe hacer un seguimiento más largo para establecer diferencias en supervivencia global. Las limitantes de la población de nuestro estudio invitan a aumentar el número de pacientes y un seguimiento más prolongado para establecer diferencias en las distintas variables analizadas y en supervivencia global.

## CONCLUSIONES :

En este estudio la tasa de respuesta alcanzada fue de 68.4% para el grupo que recibió quimioterapia más ácido retinoico y solo de un 26.6% para el grupo placebo con lo que confirmamos igual que otros estudios el sinergismo entre el all-trans retinoico con el paclitaxel y cisplatino.

La neurotoxicidad por agentes de quimioterapia aun no se ha evaluado satisfactoriamente, con la incorporación de los factores estimulantes de colonias para disminuir la toxicidad hematológica cuando se administran drogas como cisplatino y paclitaxel, ampliamente utilizados en el tratamiento de diversos tumores, la neurotoxicidad continua siendo limitante de dosis llevando a modificaciones en la posología, disminución de dosis o suspensión del tratamiento y ocasionando deterioro en la calidad de vida de los pacientes. Nosotros encontramos que la presencia de neuropatía clínica grado I y II se incrementó significativamente en el grupo control posterior a dos ciclos de quimioterapia 66% versus 24.1% ( $p = 0.05$ ). Se han estudiado otros agentes con fines neuroprotectores como glutamina, carbamazepina, vitamina E entre otros. La vitamina E, en un estudio piloto randomizado fase II con 31 pacientes que recibieron quimioterapia con cisplatino y paclitaxel reportaron disminución de la neurotoxicidad en el grupo tratado con vitamina E 25% versus 73.3% en el grupo control. El número pequeño de pacientes reportado en los distintos estudios continúa siendo un factor limitante para valorar objetivamente la neurotoxicidad inducida por quimioterapia, aunque los resultados son promisorios.

El ácido retinoico tiene marcados efectos en proliferación y diferenciación celular e interfiere con la activación de factores de transcripción, que aumentan la expresión del factor de crecimiento neural y de su receptor. El ácido retinoico potencia el efecto neuroprotector del factor de crecimiento neural y otras sustancias neurotróficas. En

este estudio realizamos medición en sangre de los niveles del factor de crecimiento neural (NGF) antes de iniciar el tratamiento y después de dos ciclos de quimioterapia. Nosotros no encontramos diferencias significativas entre el rango basal y el nivel post tratamiento con ácido retinoico, rangos basales de 4.8 pg/ml y de 4.7 pg/ml posterior a dos ciclos. Pero cuando se dio el tratamiento solo de quimioterapia la disminución del NGF fue significativa. En estudio con ratones que se indujo diabetes, la administración de ácido retinoico disminuyó las alteraciones bioquímicas, morfológicas y clínicas de la neuropatía diabética e incrementó los niveles del factor de crecimiento neural comparado con controles sanos. Probablemente se requiera una dosis mayor de 20mg/día de ácido retinoico y un tiempo más prolongado de administración para incrementar importantemente los niveles del factor de crecimiento neural y también aumentar el efecto neuroprotector del mismo y otras sustancias neurotróficas que comparten vías intracelulares relacionadas con el crecimiento neural y supervivencia.

Para valorar las alteraciones sensitivas y motoras nosotros investigamos la presencia de síntomas clínicos antes de iniciar el tratamiento con quimioterapia basada en cisplatino y paclitaxel tomando en cuenta criterios clínicos aplicados en otros estudios, además valoramos, a nivel de extremidades superiores e inferiores, la función de nervios motores y sensitivos por estudio electrofisiológico mediante velocidad de conducción nerviosa (nervio medial izquierdo, medial derecho, cubital izquierdo y cubital derecho respectivamente) también de nervios motores y sensitivos de extremidades inferiores (tibial izquierdo y derecho, perineal izquierdo y derecho, surar izquierdo y derecho respectivamente) mostrándose los resultados en el motor medial derecho, motor tibial izquierdo y motor tibial derecho (tablas 8 y 9) aunque en las demás pruebas no se encontraron cambios significativos (datos no mostrados). Los estudios de conducción

nerviosa, en pacientes que reciben cisplatino, muestran disminución de potenciales de acción y latencia prolongada sensorial en regiones distales y disminución moderada de la conducción nerviosa, el mecanismo que se le atribuye a estos efectos no está claro aún, pero en un estudio postmortem, la mayor concentración de cisplatino fue encontrada en las raíces dorsales de las células ganglionares, por lo tanto el cisplatino probablemente causa cambios axonales secundarios al daño neuronal. Otros estudios además de pruebas electrofisiológicas han realizado la valoración histológica del nervio mediante biopsia, demostrando cambios en el tejido nervioso, identificando degeneración axonal inducida por taxanos, disminución de densidad en fibras mielínicas y pérdidas de fibras largas. En este estudio únicamente valoramos el daño neural por estudio de velocidad de conducción, encontrando incremento del daño severo en el grupo placebo y en el MTIA del grupo experimental.

Como objetivo secundario analizamos la respuesta al tratamiento y al compararlo encontramos diferencias significativas en respuesta en el brazo de tratamiento con ácido retinoico 68.4% versus un 26.6% en el grupo placebo, con incremento en la supervivencia libre de progresión en el grupo experimental de  $10.7 \pm 5$  meses y de  $5.1 \pm 0.8$  meses en el grupo placebo, también los pacientes con ECOG más bajo presentaron mayor período libre de progresión.

La combinación del all-trans ácido retinoico con quimioterapia, basada en paclitaxel y cisplatino, es activa en cáncer de pulmón avanzado y mejora la supervivencia libre de progresión. Se debe hacer un seguimiento más largo para establecer diferencias en supervivencia global. Las limitantes de la población de nuestro estudio invitan a aumentar el número de pacientes y un seguimiento más prolongado para establecer diferencias en las distintas variables analizadas y en supervivencia global.



## ANEXOS :

### 9.-TABLAS

**Tabla 1.** CARACTERISTICAS BASALES DE LOS PACIENTES

	<b>PLACEBO (%)</b> <b>n=22</b>	<b>AR (%)</b> <b>n=21</b>	<b>p</b>
Género Femenino (%)	43	50	0.73
Género Masculino (%)	57	50	
Edad (Media±SD)	58±11	56±9	0.56
ECOG 0/1/2 (%)	0/57/43	0/89/11	0.13
Tabaquismo (%)	78.6	67	0.5
Índice Tabáquico	14.2 ± 15	9.3±13	0.334
ESTADIO IIIB/IV (%)	14/86	27/72	0.57
HISTOLOGÍA A/E/CI (%)	36/50/14	67/28/7	0.322
Intensidad Paclitaxel	87.5±21	96.12	0.15
Intensidad Cisplatino	45±6	43±4	0.327
ACE	15.3±18	100±226	0.14

ACE: antígeno carcinoembrionario. AR: ácido retinoico

**Tabla 2.** FACTORES ASOCIADOS A RESPUESTA GLOBAL

	Respuesta parcial o completa (%)	<i>p</i>	RR IC 95%
GÉNERO: F	58.8	0.303	0.7(0.4-1.4)
M	41		
EDAD: > 58	47	0.7	1.1 (0.6-2.2)
≤ 58	52.9		
ECOG: 1	57.6	0.2	2.3 (0.6-8)
2	25		
TABAQUISMO: Negativo	66.6	0.15	1.6 (0.9-3)
Positivo	40.9		
INDICE TABÁQUICO: >5	41	0.3	1.4 (0.7-2.9)
≤5	58.8		
HISTOLOGÍA: Adenocarcinoma	55	0.6	1.1(0.6-2.2)
Epidermoide	46		
ESTADIO: IIIB	62	0.7	1.3(0.7-2.7)
IV	46		

**Tabla 3.** FACTORES ASOCIADOS A RESPUESTA GLOBAL

	Respuesta parcial o completa (%)	<i>p</i>	RR IC 95%
ACE : ≤ 8.2	40	0.4	1.4 (0.6-2.9)
> 8.2	56.2		
Albúmina: ≤3.2	35	0.055	2.0 (0.9-4.6)
>3.2	64.7		
Intensidad de Dosis: ≤94 Paclitaxel	43.7	0.5	0.78 (1.6-2.4)
>94	55.5		
Intensidad de Dosis: ≤44 Cisplatino	58.8	0.3	1.4 (0.7-2.8)
>44	41		
TRATAMIENTO: Placebo	26.6	0.016	2.6 (1.1-6.2)
AR	68.4		

AR: ácido retinoico

**Tabla 4 NEUROPATÍA CLÍNICA GRADO 1 y 2**

	<b>Grado Neuropatía</b>	<b>Basal (%)</b>	<b>2 ciclos (%)</b>	<b>p</b>
<b>Todos los pacientes</b>	<b>Ausente</b>	<b>76.5</b>	<b>38</b>	<b>0.01</b>
	<b>Grado 1</b>	14.7	32	
	<b>Grado 2</b>	5.9	26	
<b>Ac. Ret.</b>	<b>Ausente</b>	<b>78</b>	<b>44</b>	<b>0.055</b>
	<b>Grado 1</b>	11.1	3.1	<b>24.1%</b>
	<b>Grado 2</b>	6	21	
<b>Placebo</b>	<b>Ausente</b>	<b>73</b>	<b>33</b>	<b>0.015</b>
	<b>Grado 1</b>	20	33	<b>66%</b>
	<b>Grado 2</b>	6.7	33	

} **0.05**

Ac.Ret. : ácido retinoico

**Tabla 5.** Otras Toxicidades

TOXICIDAD	PLACEBO	AR	p
LEUCOPENIA 1/2/3/4 (%)	6.7/0/0/0	5.3/10.5/0/0	0.63
NEUTROPENIA 1/2/3/4 (%)	6.7/0/0/0	5.3/5.3/5.3/0	0.63
ANEMIA 1/2/3/4 (%)	6.7/6.7/0/0	5.3/0/0/0	0.15
TROMBOCITOPENIA 1/2/3/4(%)	6.7/0/0/0	0/0/0/0	1.0
NAUSEA Y VÓMITO 1/2/3/4 (%)	13.3/0/0/0	5.3/5.3/10.5/0	0.39
DIARREA 1/2/3/4 (%)	0/16/8/0	0/0/0/0	0.89
ANOREXIA 1/2/3/4 (%)	6.7/13.3/0/0	10/10/20/0	0.93
CARDIACA	0/0/0/0	0/0/0/0	1
FALLA RENAL	6.7/0/0/0	21/0/0/0	0.49

AR: ácido retinoico

**Tabla 6.** Factor de Crecimiento Neural (FCN)

Grupo	FCN Basal	FCN 2 Ciclos	p
Todos los pacientes	4.86	4.73	0.004
Placebo	4.89	4.6	0.007
Ácido Retinoico	4.8	4.7	0.107

**Tabla 7. Cambios Neurofisiológicos por VCN en el grupo Placebo**

PLACEBO	NEUROPATIA	BASAL (%)	TRATAMIENTO (%)	P
MMDA	Ausente	38	9.1	p=0.004
	Leve	33	45.5	
	Moderada	19	36.4	
	Severa	0	9.1	
MTIA	Ausente	33	27	p=0.05
	Leve	31	27	
	Moderada	21	18	
	Severa	10.5	27	
MTDA	Ausente	38	27	p=0.05
	Leve	19	18	
	Moderada	28	27	
	Severa	4.8	27	

VCN: velocidad de conducción nerviosa. MMDA: motor medial derecho amplitud. MTIA: motor tibial izquierdo amplitud. MTDA: motor tibial derecho amplitud

**Tabla 8. Cambios Neurofisiológicos por VCN en el grupo de tratamiento con Ácido Retinoico**

Grupo de Ácido Ret.	NEUROPATÍA	BASAL (%)	TRATAMIENTO (%)	P
MMDA	Ausente	52.9	54.5	p=0.564
	Leve	23.5	27.3	
	Moderada	11.8	9.1	
	Severa	11.8	9.1	
MTIA	Ausente	47.1	27	p=0.02
	Leve	41.2	36	
	Moderada	11.8	18	
	Severa	0	18	
MTDA	Ausente	35	36	p=0.414
	Leve	47.1	45	
	Moderada	5.9	9.1	
	Severa	11.8	9.1	

VCN: velocidad de conducción nerviosa. MMDA: motor medial derecho amplitud. MTIA: motor tibial izquierdo amplitud. MTDA: motor tibial derecho amplitud

**Tabla 9.** Factores Asociados a Supervivencia

	Supervivencia Media Libre de Progresión (meses)	p
GÉNERO: F	8.3±3	0.4
M	8.3±0.9	
EDAD: > 58	8.7±0	0.59
≤ 58	10.7±1.8	
ECOG : 1	10.7±1.2	0.03
2	4.1±1.3	
TABAQUISMO: Negativo	8.7±1.8	0.65
Positivo	8.01± 0.8	
INDICE TABÁQUICO: >5	8.7±3	0.23
≤5	8.3±5	
HISTOLOGÍA: Adenocarcinoma	8.7±1.6	0.76
Epidermoide	8.3±3	
ESTADIO: IIIB	8.3±3	0.23
IV	8.7±3.7	
TRATAMIENTO: Ácido Retinoico	10.7± 5	0.0064
Placebo	5.1±0.8	

**Tabla 10.** Análisis Multivariado de Factores Asociados a Supervivencia

	Coefficiente de Regresión	RR IC 95%	p
ECOG	- 0.76	0.46 (0.125-17)	0.251
TABAQUISMO	-0.76	0.86 (0.18-4.19)	0.86
TRATAMIENTO	-1.588	0.2 (0.4-0.9)	0.05

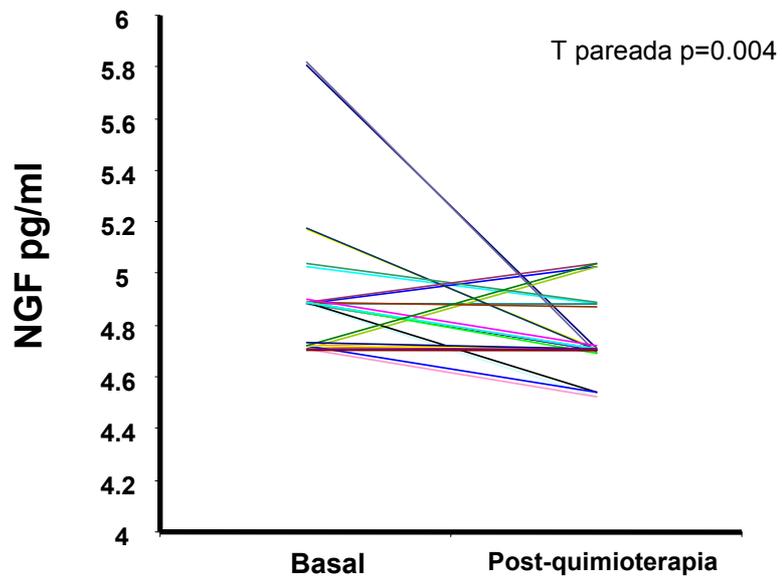


Fig. 1

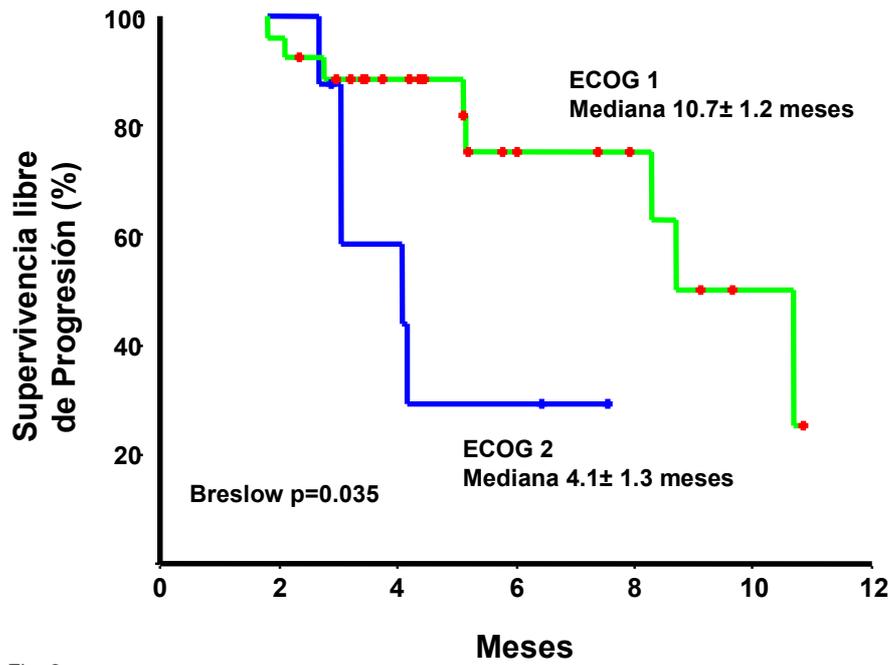


Fig. 2

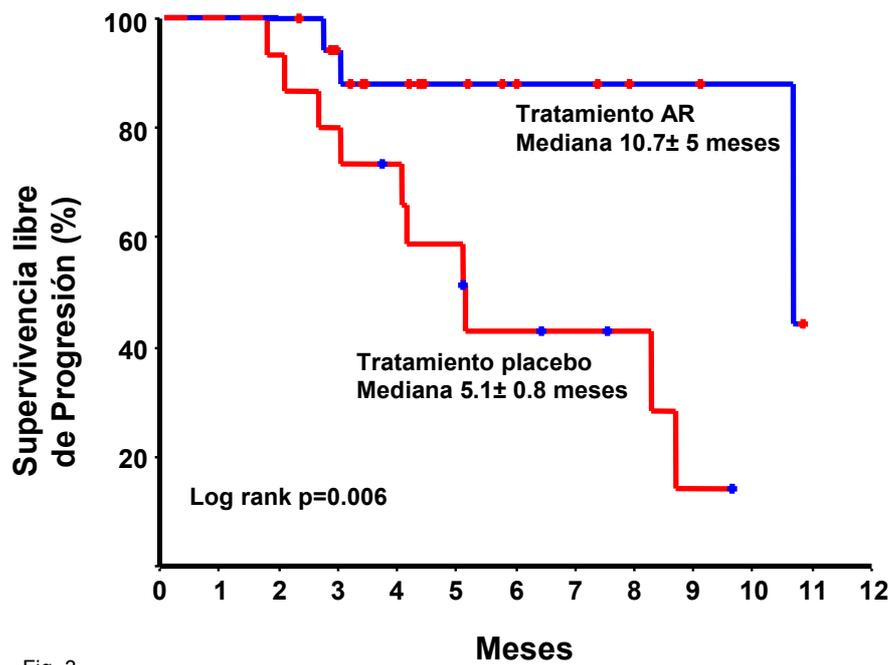


Fig. 3

## 11.-BIBLIOGRAFÍA

1. Ahlemeyer B, Huhne R, Krieglstein J. Retinoic acid potentiated the protective effect of NGF against staurosporine-induced apoptosis in culture chick neurons by increasing the trkA protein expression. *J Neurosci Res* 2000; 60 (6): 767-78.
2. Apfel SC, Arezzo JC, Brownlee M, et al. Nerve growth factor administration protects against experimental diabetic sensory neuropathy. *Brain Res* 1994;634(1): 7-12.
3. Apfel SC, Arezzo JC, Lipson L, et al. Nerve growth factor prevents experimental cisplatin neuropathy. *Ann Neurol* 1992; 31(1): 76-80.
4. Apfel SC, Kessler JA, Adornato BT, et al. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. NFG Study Group. *Neurology* 1998; 51(3): 695-702.
5. Argyriou AA, Chroni E, Koutras A, et al. Vitamin E for prophylaxis against chemotherapy-induced neuropathy. *Neurology* 2005; 64: 26-31.
6. Arrieta O, Garcia-Navarrete R, Zuñiga S. et al. Retinoic acid increases tissue and plasma contents of nerve growth factor and prevents neuropathy in diabetic mice. *Eur J Clin Inv* 2005.

7. Boogerd W, Ten Bokkel Huinink WW, Dalesio O, et al. Cisplatin-induced neuropathy: central, peripheral and autonomic nerve involvement. *J Neurooncol* 1990; 9: 255-63.
8. Brand C, Segard P, Plouvier P, Formstecher P, Danze PM, Lefebvre P. Selective alteration of gene expression in response to natural and synthetic retinoids. *BMC Pharmacol* 2002; 2 (1): 13-27
9. Caliaro MJ, Vitaux P, Lafon C, et al. Multifactorial Mechanism for the potentiation of cisplatin (CDDP) cytotoxicity by all-trans retinoic acid (ATRA) in human ovarian carcinoma cell lines. *Br J Cancer* 1997; 75 (3): 333-40
10. Cavalletti G, Bogliun G, Marzorati L, et al. Early predictors of peripheral neurotoxicity in cisplatin and paclitaxel combination chemotherapy. *Ann Oncol* 2004; 15: 1439-1442.
11. Corcoran J, Maden M, Nerve growth factor acts via retinoic acid synthesis to stimulate neurite outgrowth. *Nat Neurosci* 1999; 2 (4). 307-8
12. Cosgaya JM, Garcia-Villalba P, Perona R, et al. Comparison of the effects of retinoic acid and nerve growth factor on PC12 cell proliferation, differentiation and gene expression. *J Neurochem* 1996; 66 (1): 89-98
13. Hayakawa K, Itoh T, Niwa H, et al. NGF prevention of neurotoxicity induced

by cisplatin, vincristine and taxol depends on toxicity of each drug and NGF treatment schedule: in vitro study of adult rat sympathetic ganglion explants. *Brain Res* 1998; 794 (2): 313-9.

14. Holst A, Lefcort F, Rohrer H, et al. TrkA expression levels of sympathetic neurons correlate with NGF dependent survival during development and after treatment with retinoic acid. *Eur J Neurosci* 1997; 9 (10): 2169-77

15. James J, Lee and Sandra M. Swain. Peripheral Neuropathy Induced by Microtubule-Stabilizing Agents. *J Clin Oncol* 2006; 24(10): 1633-1642.

16. Jordan MA, Wilson L, Microtubules as a Target for Anticancer Drugs, *Nat Rev Can* 2004; 4: 253-265.

17. Lingen MW, Polverini PJ, Bouck NP. Retinoic acid and interferon alpha act synergistically as antiangiogenic agents against human head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1998; 58 (23): 5551-8.

18. Loesh D, Robert N, Asmar L, et al. Phase II Multicenter Trial of a Weekly Paclitaxel and Carboplatin Regimen in Patientes With Advanced Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3857-3864.

19. Lomonaco M, Milone M, Batocchli AP, et al. Cisplatin neuropathy: clinical

course and neurophysiological findings. *Neurol* 1992; 239: 1999-204.

20. Lovat PE, Ranalli M, Bernassola F, et al. Distinct properties of fenretinide and CD437 lead to synergistic responses with chemotherapy reagents. *Med Pediatr Oncol* 2000; 35(6): 663-8.

21. Markman M, Kennedy A, Webster K, et al. Neurotoxicity associated with a regimen of carboplatin (AUC 5-6) and paclitaxel (175mg/m<sup>2</sup> over 3 h) employed in the treatment of content of this review. Gynecologic malignancies. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 55-8.

22. Mey J, Rombach N. Retinoic acid increases BDNF-dependent regeneration of chick retinal ganglion cell in vitro. *Neuroreport* 1999; 10 (17): 3573-77.

23. Mey J. Retinoic acid as a regulator of cytokine signaling after nerve injury. *Z Naturforsch* 2001; 56 (3-4): 163-76.

24. Nakanishi T, Ishii K, Fukushima N, Asanuma M, Iwata E, Ogawa N. Expression of mRNA encoding neurotrophic factors and its regulation in a hybrid neuronal cell line. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 38(4): 763-72.

25. Patterson F, Colston KW, Dalglish AG. Retinoic acid enhances the cytotoxic effects of gemcitabine and cisplatin in pancreatic adenocarcinoma cells. *Pancreas* 2001; 23 (3): 273-9.

26. Plum LA, Clagett-Dame M. All-trans retinoic acid stimulates and maintains neurite outgrowth in nerve growth factor supported developing chick embryonic sympathetic neurons. *Dev Dyn* 1996; 205 (1): 52-69.
27. Plum LA, Parada LF, Tsoulfas P, et al. Retinoic acid combined with neurotrophin-3 enhances the survival and neurite outgrowth of embryonic sympathetic neurons. *Exp Biol Med* 2001; 226 (8): 766-75.
28. Postma TJ, Vermorken JB, Liefing AJ, et al. Paclitaxel induced neuropathy. *Ann Oncol* 1995; 6: 489-94.
29. Recchia F, Sica G, De Filippis S, et al. Cisplatin, vindesine, mitomycin-C and 13-cis retinoic acid in the treatment of advanced non small cell lung cancer. A phase II pilot study. *Anticancer Res.* 2000 May-Jun; 20 (3B): 1985-90.
30. Sahenk Z, Barohn R, New P, et al. Taxol neuropathy: electrodiagnostic and sural nerve biopsy findings. *Arch Neurol* 26. 1994; 51: 726-9.
31. Schiller JH, Storter B, Tutsch K, et al. Phase I trial of 3-hour infusion of paclitaxel with or without granulocyte colony-stimulating factor in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 1994; 12: 241-8.
32. Van Gerven JM, Moll JW, van den Bent MJ, et al. Paclitaxel (taxol) induces

cululative mild neurotoxicity. *Eur J Cancer Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1432-3  
1994; 30: 1074-7.

33. Verstappen C, Heimans J, Hoekman K, et al. Neurotoxic Complications of  
Chemotherapy in Patients with Cancer. Clinical Signs and Optimal Management.  
*Drugs* 2003; 63(15): 1549-1563.

34. Vivat-Hannah V, You D, Rizzo C, Synergistic cytotoxicity exhibited by  
combination treatment of selective retinoic ligands with taxol (Paclitaxel). *Cancer  
Res.* 2001; 61(24): 8703-11.

35. Voigt A, Hartmann P, Zintl F. Differentiation, proliferation and adhesion of  
human neuroblastoma cells after treatment with retinoic acid. *Cell Adhes Commun*  
2000; 7(5): 423-40.

36. Wang X, Halvorsen SW. Retinoic acid up-regulates ciliary neurotrophic factor  
receptors in cultured chick neurons and cardiomyocytes. *Neurosci Lett* 1998; 240  
(1): 9-12.

37. Weisman RA, Christen R, Los G, et al. Phase trial of retinoic acid and cis-  
platinum for advanced Squamous cell cancer of the head and neck based on  
experimental evidence of drug synergism. *Otolaryngol Head and Neck Surg.* 1998;  
118 (5): 597-602.

38. Wion D, Houlgatte R, Barbot N, Barrand P, Dicou E, Brachet P. Retinoic acid increases the expression of the NGF gene in mouse L cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 149 (2): 510-514.