



**DOKTOREGO TESIA**  
**Medikuntza Gradua**

**TESIS DOCTORAL**  
Grado en Medicina

**DOCTORAL THESIS**  
*Medical degree*

## **Histopatologian oinarritutako tratamendu kirurgikotik proteogenomikak gidatutako doitasunezko kirurgiara**

---

Del tratamiento quirúrgico basado en histopatología a la cirugía de precisión guiada por proteogenómica

---

*From surgical treatment based on histopathology to precision surgery guided by proteogenomics*

**Egilea · Autor · Author**  
**Aingeru Sarriugarte Lasarte**

**Zuzendariak · Directores · Directors**  
**Joaquin Losada Rodriguez**  
**Rafael Sarria Arostegui**



eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

# Histopatologian oinarritutako tratamendu kirurgikotik proteogenomikak gidatutako doitasunezko kirurgiara

Universidad del País Vasco/ Euskal Herriko Unibertsitatea

Departamento de Neurociencias. Facultad de Medicina y Enfermería.

Área de Innovación en Cirugía, Trasplante y Tecnologías para la salud.

Instituto BioCruces

**bi+cruces**  
**bizkaia**

AINGERU SARRIUGARTE LASARTE

2021



# LABURPENA

**SARRERA:** Urdaileko minbizia difusoaren (UMD) prebalentziak gora egin du pixkanaka, heste-motarekin berdindu arte. Arazo kliniko eta terapeutiko handiak sortzen ditu, orain arte erabilitako tratamenduei ez baitie ondo erantzuten. Kirurgiaren hedadura, azpimota molekular proteomiko eta genomikoen arabera doitzeak paziente horien pronostikoa hobetu dezake. **MATERIALA ETA METODOAK:** Biziraupen-analisia duten atzera begirako bi azterlan deskribatzaile eta analitiko egin dira Gurutzetako Unibertsitate Ospitalean, 2005-2014 artean diagnostikatutako 1052 urdaileko minbizi kasuren inguruan. Gainera, UMDaren 3 kasuren pieza kirurgikoen kromatografia likido eta masa-espektrometria bidezko azterketa proteomikoa eta lortutako datuen analisi sistematizatua egin dira. Bestalde, minbizi gastrikoaren tratamenduan “% 95eko gastrektomia” berrikuntza teknikoaren segurtasuna baloratu da. **EMAITZAK:** UMDak proportzio handiagoan eragiten die emakumeei eta gazteei. Fase aurreratuetan diagnostikatzen da, eta nabarmentzekoak dira erasan ganglionararren tasa altua eta peritoneo-bideko barreiatza izateko joera. Pazienteen herenak baino gutxiagok irauten du 5 urte bizirik. Gaixotasunaren barreiatzea eta jasotako tratamendu kirurgiko eta kimioterapiko mota dira biziraupen orokorrarekin zuzenean erlazionatu diren faktoreak. Ikerketa proteomikoan, aurkitutako 12.551 produktu genikoetatik 2.197 proteina kuantifikatu dira; horietatik 75 nabarmendu dira, 45 tumore-ehunean, eta 30 ehun osasuntsuan. Detektatutako proteinen ehuneko handi bat zelulaz kanpoko matrizeari dagokio, eta horrek mikroingurune tumoralaren gaineko proteomaren garrantzia islatzen du. Identifikatutako proteinen funtzio molekularrak, epitelio mesenkima trantsizioan, ziklo zelularrean eta DNAREN erreplikazioan parte hartzea dira. Aztertutako kasu bakoitzaren profil proteomikoak aurrez deskribatutako UMDaren proteomaren maparekin konparatuta, kasu bakoitzaren azpimota molekularra identifikatu ahal izan da eta klinikarekin bat datorrela egiaztatu. **EZTABAIDA:** Urdaileko minbiziaren genoma eta proteomaren deskribapenean egin berri diren aurrerapenak helburu klinikoekin aplikatzen hasi behar direnak sailkapen molekular berriak ekarri dituzte. Gaur egun, posible da metodologia proteomikoa aplikatzea ebakuntza-gelan lortutako eta tumore-bankuetan gordetako tumore-laginen gainean, UMDaren sailkapen molekularra lortu eta bai diagnostiko zein tratamenduari buruzko erabakiak hartzen laguntzeko. Kirurgia-marjinak hobeto definituz erauzketa lokala gidatzea; linfadenektomia egokiena orientatzea; peritoneo-barreiatzea iragarri eta tratamendurik onena aukeratzea; eta diana terapeutiko espezifiko onenak baloratzea dira, besteak beste, metodologia hori UMDaren tratamendu onkologikorako aplikatzearen abantailak. **ONDORIOAK:** Datu kliniko patologikoekin integratutako sailkapen molekular proteomikoa lagungarria da UMDaren kirurgia eta tratamendu gehigarria gidatzeko, doitasunezko kirurgiaren testuinguruan.

**HITZ GAKOAK:** Urdaileko minbizi difusoa (UMD), Histologia, gainbizia, proteo-genomika, Doitasunezko Kirurgia.

# RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** La prevalencia del carcinoma gástrico difuso (CGD) ha aumentado de manera progresiva hasta igualar la incidencia del tipo intestinal. Este tumor plantea problemas clínicos y terapéuticos ya que no responde bien a los tratamientos empleados hasta el momento. La extensión de la cirugía ajustada a los subtipos moleculares proteómicos y genómicos, puede mejorar el pronóstico de estos pacientes. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se han realizado, dos estudios retrospectivos descriptivos y analíticos con análisis de supervivencia, sobre una población de 1052 casos de cáncer gástrico diagnosticados en el Hospital Universitario Cruces (HUC), entre 2005-2014; además, un estudio proteómico por cromatografía líquida y espectrometría de masas de las piezas quirúrgicas de 3 casos de CGD y un análisis sistematizado de los datos obtenidos. Por otro lado, se ha valorado la seguridad de una innovación técnica de la gastrectomía del 95% en el tratamiento del cáncer gástrico. **RESULTADOS:** El CGD afecta en mayor proporción a mujeres y a personas jóvenes. Se diagnostica en estadios avanzados y destacan la importante tasa de afectación ganglionar y la tendencia a presentar diseminación peritoneal. Menos de un tercio de los pacientes sobrevive a 5 años. La diseminación de la enfermedad y el tipo de tratamiento quirúrgico y adyuvante recibido, son factores que se han relacionado directamente con la supervivencia general. En el estudio proteómico, se han cuantificado 2197 proteínas, de los 12551 productos génicos encontrados; 75 de ellas mostraron diferencias significativas. 45 fueron reguladas al alza en el tejido tumoral y 30 reguladas al alza en tejido sano. Un porcentaje amplio de las proteínas detectadas pertenecen a la matriz extracelular, lo que refleja la importancia del proteoma del sobre el microambiente tumoral. Son funciones moleculares de las proteínas identificadas, participar en la transición epitelio mesénquima, en el ciclo celular, y en la replicación del ADN. La comparación de los perfiles proteómicos de cada caso analizado con el mapa del proteoma de CGD previamente descrito, ha permitido identificar el subtipo molecular de cada uno de los casos, constatando su coincidencia con la clínica. **DISCUSIÓN:** Los recientes progresos realizados en la descripción del genoma y proteoma del cáncer gástrico han dado como resultado nuevas clasificaciones moleculares que deben comenzar a aplicarse con objetivos clínicos. Actualmente es factible la aplicación de la metodología proteómica sobre muestras tumorales obtenidas en quirófano y preservadas en bancos de tumores, con el objetivo de obtener una clasificación molecular de CGD, que ayude a tomar decisiones de diagnóstico y terapéuticas. Guiar la resección local mediante una mejor definición de los márgenes quirúrgicos; orientar la linfadenectomía más adecuada; predecir y elegir el mejor tratamiento de la diseminación peritoneal y valorar las mejores dianas terapéuticas específicas, son algunos de las consecuencias de la aplicación de esta metodología para el tratamiento oncológico del CGD. **CONCLUSIONES:** La clasificación molecular proteómica integrada con los datos clínico patológicos, ayuda a guiar la cirugía y el tratamiento adyuvante del CGD, en el contexto de la cirugía de precisión.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer gástrico Difuso (CGD), Histología, Supervivencia, Proteo-genómica, Cirugía de Precisión.

# ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The prevalence of diffuse gastric carcinoma (DGC) has progressively increased to equal the incidence of the intestinal type. This tumor poses clinical and therapeutic problems since it does not respond well to the treatments used so far. The extension of the surgery adjusted to the proteomic and genomic molecular subtypes can improve the prognosis of these patients. **MATERIAL AND METHODS:** Two descriptive and analytical retrospective studies with survival analysis was carried out on a population of 1052 cases of gastric cancer diagnosed at the Cruces University Hospital between 2005-2014. In addition, a proteomic study by liquid chromatography and mass spectrometry of the surgical specimens from 3 cases of DGC and a systematized analysis of the data was obtained. On the other hand, the safety of “95% gastrectomy” technical innovation in the treatment of gastric cancer has been assessed. **RESULTS:** DGC is more common in women and young people. It is diagnosed in advanced stages and the significant rate of lymph node involvement and the tendency to present peritoneal dissemination stand out. Less than a third of patients survive to 5 years. The spread of the disease and the type of surgical and adjuvant treatment received are factors that have been directly related to overall survival. In the proteomic study, 2,197 proteins were quantified, of the 12,551 gene products found; 75 of them showed significant differences. 45 were up-regulated in tumor tissue and 30 were up-regulated in healthy tissue. A large percentage of the proteins detected belong to the extracellular matrix, which reflects the importance of the proteome on the tumor microenvironment. The molecular functions of the identified proteins, participate in the mesenchymal epithelial transition (TEM), in the cell cycle, and in DNA replication. Comparison of the proteomic profiles of each case analyzed with the previously described DGC proteome map has made it possible to identify the molecular subtype of each of the cases, confirming its coincidence with the clinical picture. **DISCUSSION:** Recent progress in the description of the GC genome and proteome has resulted in new molecular classifications that must begin to be applied for clinical purposes. Currently, it is feasible to apply the proteomic methodology on tumor samples obtained in the operating room and preserved in tumor banks, with the aim of obtaining a molecular classification of DGC, which helps to make diagnostic and therapeutic decisions. To guide local resections by better definition of the surgical margins; to orient the most appropriate lymphadenectomy; predicting and choosing the best treatment for peritoneal dissemination and assessing the best specific therapeutic targets are some of the consequences of applying this methodology for the oncological treatment of DGC. **CONCLUSIONS:** The proteomic molecular classification integrated with the clinical pathological data helps to guide the surgery and the adjuvant treatment of CGD, in the context of precision surgery.

**KEYWORDS:** Diffuse gastric cancer (DGC), Histology, Survival, Proteogenomics, Precision Surgery.





## From surgical treatment based on histopathology to precision surgery guided by proteogenomics



Hospital de Cruces

2005-2014

1052 Gastric Cancer

### Doctoral Thesis 4 Studies



Limitations of the histopathology



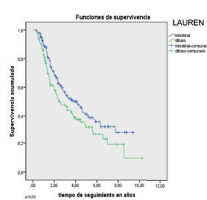
DGT increases with respect to IGC



Women and younger patients



Surgical treatment



Greater lymph node involvement (81.7% N+) and worse response to adjuvant treatments

Worse 5-year survival rate (32.2%)



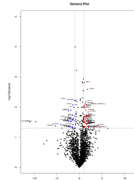
Innovation in surgery



95% Gastrectomy: Alternative to systematic total gastrectomy



DGC Proteomics



Identification of DGC and normal tissue proteins

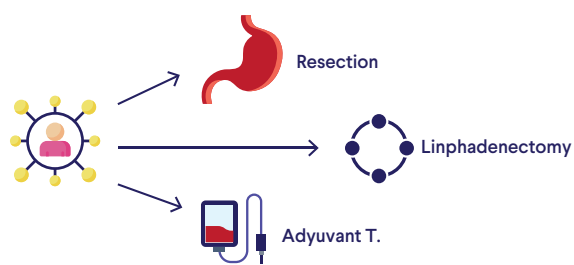
Proteogenomic classification of tumors



Proteogenomic study of gastric tumors



Precision surgery





Mindunari



# ESKERRAK AGRADECIMIENTOS

Lehenik eta behin eskerrak etxekoei: Gorka eta Enara izan dira lan hau amaitzeko eragite, eta batez ere zuri, Ana, izan baitzara nire babes eta sostengu. Zor handia dut zuekin erabilitako ordu guztiak ezingo baititut bueltatu. Zuri aita, zuk piztu baitzenuen nigan kirurgilari eta unibertsitateko irakasle izateko gogoia. Eskerrik asko ama, langile sutsu izatearen eta lankideak errespetatu eta laguntzearen beharra ikusarazi baitidazu beti. Unairi beroena, egunero bizitza zer den gogoratzen didan anaia txikiari. Arantza eta Garbine, izan zaituztet beti eredu eta zuen txikitatiko hezkuntza gabe ez nintzateke gaur hemen gainean egongo, eskerrik asko. Osabari, gure hizkuntzan idazteko bidea erakutsi zidanari, eskerrik asko eta aurrera.

Este trabajo hubiera sido imposible sin el apoyo y ayuda de todos los miembros de la Unidad de esófago-gástrica del H. de Cruces. Me gustaría agradecer en especial a Jesus Mari Oleagoitia, recién jubilado jefe de la unidad, por todo lo que me ha enseñado tanto en el aspecto quirúrgico como humano. Gracias también a la nueva unidad EGBP por el apoyo y las horas de estos últimos meses, en especial a la “Guardia Patricia”. Gracias a Ana Sanjurjo y Alberto Colina por su apoyo y ayuda. A Raul por invertir en mi su tiempo como tutor de residentes y amigo confidente; y a Mikel y Hector por compartir tantos momentos, cada vez menos, de café con aroma científico.

Especial agradecimiento por los servicios prestados en el aspecto no solo estadístico sino de asesoramiento científico en el IIS Biocruces a Silvia, eta bereziki zuri Lorea, eskerrik asko. No me puedo olvidar de Eva donde siempre acudo cuando necesito algo de Anatomía Patológica. Gracias también a Laura y Erika por facilitarme todo lo referente al Biobanco.

Por último al Dr Losada por la dirección incansable de este largo camino que como dice, comienza donde esto termine.



# AURKIBIDEA ÍNDICE INDEX

<b>1. SARRERA/ INTRODUCCIÓN</b>	<b>21</b>
1.1 SARRERA: URDAILEKO MINBIZIA	23
1.1.1 EPIDEMIOLOGIA	23
1.1.2 ETIOLOGIA	24
1.1.3 PATOGENIA	26
1.1.4 KLINIKA	27
1.1.5 DIAGNOSTIKOA	29
1.1.6 ANATOMIA PATOLOGIKOA	34
1.1.7 TRATAMENDUA	37
1.1.8 PRONOSTIKOA	43
1.1 INTRODUCCIÓN: CÁNCER GÁSTRICO	46
1.2 INTRODUCCIÓN: CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO	46
1.2.1 INTRODUCCIÓN TEÓRICA	46
1.2.2 SARRERA KLINIKOA	50
<b>2. HIPOTESIAK ETA HELBURUAK/ HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>57</b>
2.1 HIPOTESIAK	59
2.1.1 Hipotesi klinikoak	59
2.1.2 Hipotesi alternatibo esperimentalak	59
2.2 HELBURUAK	59
2.2.1 Helburu klinikoak	59
2.2.2 Helburu esperimentalak	59
2.3 HIPÓTESIS	60
2.3.1 Hipótesis Clínica	60
2.3.2 Hipótesis alternativa Experimental	60
2.4 OBJETIVOS	61
2.4.1 Objetivos Clínicos	61
2.4.2 Objetivos Experimentales	61
<b>3. MATERIALA ETA METODOLOGIA/ MATERIAL Y METODOLOGÍA</b>	<b>63</b>
<b>3. MATERIALA ETA METODOLOGIA</b>	<b>65</b>
3.1 Estudio 1: IMPACTO DE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL PRONÓSTICO DEL CÁNCER GÁSTRICO	67
3.1.1 Población en estudio	67
3.1.2 Clasificación de Lauren	68
3.1.3 Clasificación de la OMS	69

3.1.4 Análisis estadístico	69
3.1.5 Declaración de Ética	70
3.2 Estudio 2: VALOR PRONÓSTICO DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN EL H.U.CRUCES	71
3.2.1 Población en estudio	71
3.2.2 Tipo de resección tumoral y tratamiento adyuvante	71
3.2.3 Clasificación por estadios y ganglios linfáticos	72
3.2.4 Análisis de datos	72
3.2.5 Comité de ética	72
3.3 Estudio 3: INNOVACIÓN EN TÉCNICA QUIRÚRGICA “Gastrectomía 95% totalmente laparoscópica”	73
3.3.1 Objetivos	73
3.3.2 Estadificación tumoral	73
3.3.3 Tratamiento	74
3.3.4 Técnica quirúrgica	74
3.3.5 Análisis estadístico	74
3.4 Estudio 4: ESTUDIO DE PROTEÓMICA SOBRE PIEZAS QUIRÚRGICAS DE CANCER GÁSTRICO DIFUSO.	74
3.4.1 Pacientes. Recolección de las muestras biológicas	74
3.4.2 Criterios de inclusión/exclusión	74
3.4.3 Tamaño muestral para el estudio piloto de cuantificación de proteínas	75
3.4.4 Datos demográficos, clínico-patológicos y de tratamiento	75
3.4.5 Metodología de la recogida de las muestras	75
3.4.6 Biobanco	75
3.4.7 Flujo de trabajo desarrollado para la identificación y cuantificación proteomica	75
3.4.8 Análisis proteómico de abajo a arriba en sentido ascendente	76
3.4.9 Criterios de selección de proteínas y péptidos	77
3.4.10 Análisis proteómico basado en cromatografía líquida y espectrometría de masas	77
3.4.11 Filtros utilizados para la presentación de los resultados del análisis proteomico	80
3.4.12 Sistemas bioinformáticos utilizados. Bases de datos integrados de recursos genómicos y proteómicos .	82



<b>4. EMAITZAK/ RESULTADOS</b>	<b>85</b>
<b>4. EMAITZAK</b>	<b>87</b>
4.1 ikerketa. ANATOMIA PATOLOGIKOAREN ERAGINA URDAILEKO MINBIZIAREN PRONOSTIKOAN	87
4.2 2 ikerketa. DIAGNOSTIKOA ETA TRATAMENDUAREN ERAGINA URDAILEKO MINBIZIAREN PRONOSTIKOAN	88
4.2.1 Linitis plastica (LP)	89
4.2.2 Estadiajea	89
4.2.3 Kirurgia osteko konplikazioak	90
4.2.4 Tratamendu gehigarriak	90
4.3 TEKNIKA KIRURGIKOAK ERABERRITZEAREN IKERKETA: «% 95eko gastrektomia guztiz laparoskopikoa»	90
4.3.1 Emaidza kirurgikoak	91
4.3.2 Anatomia patologikoaren emaitzak	91
4.3.3 Biziraupena	91
4.4 URDAILEKO MINBIZI DIFUSOAREN LAGIN KIRURGIKOETAN EGINDAKO PROTEOMIKA IKERKETA	91
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>93</b>
4.1 Estudio 1: IMPACTO DE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL PRONÓSTICO DEL CÁNCER GÁSTRICO	93
4.1.1 Datos demográficos/ Epidemiología	93
4.1.2 Anatomía patológica	96
4.1.3 Análisis de supervivencia	99
4.2 Estudio 2: VALOR PRONÓSTICO DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN EL H.U.CRUCES	101
4.2.1 Datos demográficos	101
4.2.2 Anatomía patológica	107
4.2.3 Linitis plástica	108
4.2.4 Estadiaje	111
4.2.5 Resección local	112
4.2.6 Linfadenectomía	114
4.2.7 Complicaciones	121
4.2.8 Adyuvancia	123
4.3 ESTUDIO SOBRE INNOVACIÓN EN TÉCNICA QUIRÚRGICA: “Gastrectomía 95% totalmente laparoscópica”	126
4.3.1 Resultados quirúrgicos	127

4.3.2 Datos posoperatorios	128
4.3.3 Resultados de Anatomía Patológica	129
4.3.4 Supervivencia	130
4.4 Estudio 4: ESTUDIO DE PROTEÓMICA SOBRE PIEZAS QUIRÚRGICAS DE CANCER GÁSTRICO DIFUSO.	131
4.4.1 Características generales del proteoma del DGC	131
4.4.2 Distribución de las proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral y sano	139
4.4.3 Subtipos tumorales basados en el proteoma de cáncer gástrico difuso.	144
4.4.4 Terapia dirigida	149
<b>5. EZTABAIDA/ DISCUSIÓN</b>	<b>151</b>
<b>5. EZTABAIDA LABURRA</b>	<b>153</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>154</b>
<b>A. Características clínico-patológicas del Cáncer Gástrico difuso y su implicación pronóstica.</b>	<b>155</b>
5.1 Epidemiología y demografía	155
5.1.1 Incidencia del cáncer gástrico difuso	155
5.1.2 Edad y sexo de los pacientes con CGD	156
5.2 Dificultades diagnósticas	156
5.3 Limitaciones de la Anatomía patológica en CGD	158
5.3.1 Clasificaciones histológicas	158
5.3.2 Linitis plástica	159
5.4 Limitaciones de los sistemas de estadificación en CGD	160
5.5 Particularidades del tratamiento del CGD	161
5.5.1 Tratamiento quirúrgico del CGD	161
5.5.2 Tratamiento Adyuvante	164
<b>B. Perfil proteómico del CGD y aplicabilidad clínica</b>	<b>167</b>
5.6 Caracterización multiómica del cáncer gástrico de tipo difuso.	167
5.6.1 Estabilidad genómica en el cáncer gástrico difuso	167
5.6.2 Análisis proteo-genómico en medicina y cirugía de precisión	167
5.6.3 Secuenciación completa del genoma	169
5.6.4 Análisis proteómico	169
5.6.5 Mutaciones somáticas que perturban las redes de interacción proteína - proteína	170

5.6.6 Subtipos moleculares de cáncer gástrico difuso	171
5.7 Aplicabilidad clínica	171
5.7.1 Definición del subtipo tumoral	172
5.7.2 Dianas terapéuticas	172
5.7.3 Cirugía personalizada y de precisión	174
<b>6. ONDORIOAK/ CONCLUSIONES/ CONCLUSIONS</b>	<b>179</b>
<b>6. ONDORIOAK, EKARPENAK ETA MUGAK</b>	<b>181</b>
6.1 ONDORIOAK	181
6.2 EKARPENAK	182
6.3 MUGAK	183
6.4 ETORKIZUNEKO IKERKETARAKO BIDEAK	183
<b>6. CONCLUSIONES, APORTES Y LIMITACIONES</b>	<b>184</b>
6.1 CONCLUSIONES	184
6.2 APORTACIONES	184
6.3 LIMITACIONES	186
6.4 LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	186
<b>6. CONCLUSIONS, CONTRIBUTIONS AND LIMITATIONS</b>	<b>187</b>
6.1 CONCLUSIONS	187
6.2 CONTRIBUTIONS	188
6.3 LIMITATIONS	189
6.4 FUTURE RESEARCH LINES	189
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>191</b>
<b>8. ERANSKINAK/ ANEXOS</b>	<b>203</b>
Anexo 1. Resolución CEIC parte clínica.	205
Anexo 2. Tabla 2.4 Univariante y Multivariante de supervivencia global y libre de enfermedad.	206
Anexo 3. Datos clínico-patológicos pacientes proteómica.	211
Anexo 4. CEIC-E estudio proteómica. (Adenda ampliación al H. Cruces)	213
Anexo 5. Proteínas destacadas en condiciones estrictas.	214
Anexo 6. Proteínas seleccionadas: Nombre, gen, código uniprot, función y dianas terapéuticas, de las proteínas de la vía señalización celular Rho.	216

Anexo 7. Características clínico patológicas y subtipos moleculares de Gee (PX1-3)	217
<b>9. BAIMENAK/ AUTORIZACIONES</b>	<b>219</b>
Autorización del/la director/a de la tesis	220
Autorización de la comisión académica del programa.	222
Autorización del consejo de departamento	224
Acta de grado de doctor	226
<b>10. MATERIAL GEHIGARRIA/ MATERIAL ADICIONAL</b>	<b>229</b>

# 1.

## Sarrera Introducción

1.1 SARRERA: URDAILEKO MINBIZIA	23
1.1 INTRODUCCIÓN: CÁNCER GÁSTRICO	46
1.2 INTRODUCCIÓN: CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO	46

## 1. SARRERA / INTRODUCCIÓN

# 1. SARRERA/ INTRODUCCIÓN

## 1.1 SARRERA: URDAILEKO MINBIZIA

### 1.1.1 EPIDEMIOLOGIA

#### Historia

Urdaileko minbizia Kristo aurreko 3000. urtetik aipatu izan da inskripzio zein eskuizkribuetan antzinako Egipton. Lehen ikerketa zientifikoa, ostera, intzidentzia eta hilkortasunari dagokionez, Veronan gauzatu zen 1760-1839 urte bitartean.

#### Intzidentzia eta prebalentzia

Urdaileko minbizia munduko minbizi ugarienetakoa da. MOEren arabera, mundu osoan zehar 952.000 kasu berri diagnostikatu ziren 2012. urtean, diagnostikatutako minbizi guztien % 6,8. Bosgarren minbizi ohikoena da mundu mailan, biriketako, bularreko, kolon-ondesteko eta prostatako minbizien ondoren. Aldaketa garrantzitsutzat har daiteke hori, balioespenen arabera, 1975ean lehen minbizi ohikoena izan zitekeelako<sup>1</sup>.

Intzidentzia-jaitsiera horren azalpena hozkailu elektrikoen sorrera izan daiteke. Janari-kontserbarako erabiltzen ziren hainbat metodo ordezkatu zituen (hala nola, gatzagak, ketutako produktuak eta abar), urdaileko minbiziaren etiologiarekin erlazionatuta egon baitzitezkeen horiek. Alabaina, urdaileko minbizi mota baten, Lauren-en urdaileko minbiziaren sailkapeneko mota intestinalaren, intzidentziaren jaitsiera nabarmenagoa izan da difusoarena baino. Horrela, gaur egun, % 30 izan daitezke urdaileko minbizi difusoak.

Urdaileko minbizi kasuen % 70 baino gehiago (670.000 kasu) garapen bidean diren herrialdeetan gertatzen dira (456.000 gizonezkoen artean, 221.000 emakumezkoen artean), eta kasuen erdia Asian (batez ere, Txinan). Adina kontuan hartuz gero, intzidentzia-tasak bikoitza dira gizonezkoen artean.

Hilkortasunari dagokionez, urdaileko minbizia hirugarren heriotza-kausa da bi sexueta mundu osoan (723.000 heriotza, guztien % 8,8). Balioetsitako hilkortasun-tasa altuenak Ekialdeko Asian izaten dira (24 hildako 100.000 gizoneko, 9,8 hildako 100.000 emakumeko) eta Ipar Ameriketako txikiena (2,8 eta 1,5, hurrenez hurren). Hilkortasun-tasak altuak dira bi sexueta, bai Erdialdeko eta Ekialdeko Europan, bai Hego zein Erdialdeko Amerikan.

Gure inguruan, urteen joanarekin behera egin dute minbizi honen intzidentzia- eta hilkortasun-tasek. Bizkaiko zaintza epidemiologikorako zerbitzuaren arabera, 2008. urtean Bizkaiko biztanleriari diagnostikatutako minbizi guztien % 4 izan zen urdaileko minbizia. Emakumeei dagozkien minbizien artean, bosgarren lekuan dago urdailekoa (111 kasu), eta gizonei dagozkien artean zazpigarren lekuan (168 kasu). Denboraren bilakaerari dagokionez, minbiziaren erregistroak ikertu zuen aldian (1996-2008) ikusi zenez, urteroko kasu kopuruak berdin jarraitu zuen, baina beheranzkoa izan zen intzidentzia estandarizatua bi sexuetan, populazioaren zahartzearen ondorioz: urtero % 2,8 emakumeengan, eta urtero % 2,3 gizonengan<sup>2</sup>.

2000 eta 2012 urte-bitartean, 6.754 urdaileko minbizi kasu diagnostikatu dira EAEn, 4.320 (% 64) gizonezkoen artean eta 2.434 (% 36) emakumezkoen artean, urteko 520 kasu, (482-572). Batez besteko adina 70 urtekoa izan da gizonen artean, eta 74 urtekoa emakumeen artean. Epe honetan, intzidentzia jaitsiz joan da urteko: % 2,1 gizonengan eta % 1,5 emakumeengan. 2011-2015 bitartean, 1.127 gizon eta 675 emakume hil ziren gaitz honek jota.

2000-2012 urte-bitarteko adin guztietarako biziraupen osoa lehenengo urtean % 54,1 izan da gizonen artean, eta % 56 emakumeen artean. Bosgarren urtean % 28,5ra jaitsi da gizonen artean eta % 33,4ra emakumeen artean.

Gizonen artean 2000tik 2012ra igo egin da biziraupena: 7 puntuan lehen urtean (% 48,9 vs % 56,3), eta 3 puntuan bost urtera (% 25,8 vs % 28,6). Emakumeen artean, ordea, ez zen gauza bera gertatu, eta, kasu horretan, mantendu egin da biziraupena.

### **Banaketa geografikoa**

Ikusi izan da urdaileko minbiziaren intzidentziak gora egiten duela iparraldean eta latitude altuko lurraldeetan. Horrela, intzidentzia altuko lurraldeak dira Asiako ekialdea bereziki, Europako ekialdea eta Hego Amerika, Ipar Amerikarekin eta Afrikarekin alderatuz.

### **1.1.2 ETIOLOGIA**

Urdaileko minbizitzat definitzeko, gutxienez lotura esofago-gastrikotik 2 cm-ra dagoen kontrolik gabe biderkatzen den zelula anormalen multzoa nabarmendu behar da. Berau, kasuen % 90ean, adenokartzinoma motakoa izan ohi da.

Klasikoki, Laurenen 1963ko sailkapenari erreparaturaz, urdaileko bi minbizi mota desberdintzen dira, epidemiologiari, etiologiari, patogenesiari eta eboluzioari dagokienez<sup>2</sup>.

- **Urdaileko minbizi intestinala (UMI).** Ohikoagoa da gizonezkoen eta helduen artean. Inguruneko faktoreek eragina dute mota honen gain. Azken horren intzidentziak



jaitsiera azpimarragarria izan du azken urteotan, beste azpimotekin alderatuz.

- **Urdaileko minbizi difusoa edo lausoa (UMD).** Gazteagoen artean agertzen da gehienbat, sexu-desberdintasunik nabarmendu gabe, eta pronostiko okerragoa omen du.

Bestalde, aurretiaz aipatu bezala, urdaileko minbiziak garapen geografiko, etniko eta sozioekonomiko nabarmena dauka. Minbiziaren garapenaren sekuentzia guztiz ezagutzen ez den arren, ezagunak dira Laurenen sailkapenaren araberrako bi minbizi moten fisiopatologia bereizten duten zenbait puntu.

**Mota intestinalari** dagokionez, gastritis kronikotik eratorria den sekuentzia deskribatu izan ohi da; gastritis kroniko atrofikoak hesteetako metaplasia sortuko luke, non zelula batzuek displasia garatuko bailukete, eta prozesuaren amaieran hesteetako adenokartzinoma sortu. **Urdaileko minbizi lausoari edo difusoari** dagokionez (UMD), prozesua ezagunagoa da. Zelulen arteko loturen galera sortzen duten aldaketa genetikoak metatzen dira, eta zelulek zuten guruinak osatzeko gaitasuna galtzen da. Lotura-gaitasun hori CDH1 genean sortutako mutazio germinalen erruz gertatzen da, E-cadherina lotura-proteinen funtzioa aldatuz.

Urdaileko minbizi-prozesu hauek abian jartzen dituzten minbizi aurreko zenbait egoera ezagunak dira mota intestinalaren kasuan; hala nola, gastritis atrofikoa, ultzera gastrikoa, polipo adenomatosoak eta hesteetako metaplasia; hala ere, nahiz fisiopatologia ezagunagoa duen, lesio aurrekariak ez dira hain argi erlazionatzen minbizi lausoaren kasuan. Gastritis kronikotik eratorria den mota intestinaleko minbizi honen atzean **Helicobacter pylori** kartzinogeno nagusia egon daitekeela definitu du Munduko Osasun Erakundeak. Bakterioak sortzen duen urdail-gorputzeko hantura legoke garapenaren sorreran, atrofia eta hesteetako metaplasia eraginez.

Bestalde, urdaileko minbiziaren sorrerarekin erlazionatuak egon daitezke zenbait hartzaile, **dieta** eta inguruko faktore ere. Alde batetik, dietaren gazitasunak eta gatzetan mantendutako produktuen kontsumoak igo egin dezake minbiziaren maiztasuna. Tabakoak eta inguruko beste faktoreek konposatu nitrosoekiko esposizioa handitzen duten heinean, minbizia sortzeko gaitasuna ere izan dezakete. Tabakoaren eragin negatiboa argia den arren, ez da hain argia alkoholarekin duen erlazioa; ikerketa baten arabera, egunero ardoa edatea babesgarri ere izan daiteke. Urdaileko minbizien % 5-10 Epstein Barr birusarekin (EBB) erlazionatuta egon daitezkeela uste da; gainera, mota molekular konkretu bateko minbizia eragingo luke, ezaugarri kliniko eta histopatologiko konkretuak dituen. **Aurretik jasandako urdaileko kirurgiak** ere minbizia izateko aukerak handitzen ditu; urdail-muinoiko minbizia (UMM) eragin dezake, Bilroth II (gastroyeyunostomia), Bilroth I (duodenostomia) baino gehiagotan sortzen dena, behazun eta bareko jariakinen erreflexuarekin erlazionatuta.

**Hartzaileari** dagokionez, zenbait faktore genetiko ere erlazionatu izan dira minbiziaren sorrerarekin. Hasteko, A motako odol-taldea duten gaixoek batez ere minbizi mota lausoa izateko aukera % 20 handiagoa dutela dioten ikerketak argitaratu dira. Beharbada, gaixotasunaren sorreran ez da odol-taldearen antigenoekin erlazionatzen, baina aldaketa genetikoek estuki erlazionatzen dituzte odol-taldea eta gaixotasuna. Ildo beretik, anemia perniziosoa den gaixotasun autoimmunean sortzen den gastritis atrofikoak sortutako akloridria-egoera ere minbiziaren garapenaren arrisku-faktore bezala definitu da. Bestalde, nahiz gaixotasuna noizean behin sortu egiten den, sendi barneko errepikapena izaten da % 10ean. Gaixotasun hereditarioa izaten da % 1-3 artean, eta hiru sindromekin erlazionatuta dago: *urdaileko minbizi difuso hereditarioa (UMDH), urdail proximaleko polipoetatik eratorria den adenokartzinoma, eta mota intestinaleko urdaileko minbizi familiarra*. Minbizia garatzeko aukera altuak daude hiru sindromeotan, baina UMDHa soilik deskribatu da genetikoki. Horretan, mutazio germinalak gertatzen dira CDH, E-cadherina lotura-proteina kodetzen duten geneetan. Autosomikoki gainjartzailea den gaixotasuna da, eta, gaztetan minbizia garatzeko aukera handiak dituztenez, gastrektomia osoa gomendatu ohi da 30 urte baino lehenago.

### 1.1.3 PATOGENIA

Esan bezala, zelula neoplasikoek jasaten duten desberdintze-ahalmenaren arabera, bi mota daude.

#### **Urdaileko minbizi intestinala**

Zelula ongi desberdinak dira, orokorrean esporadikoak. 1994. Urtean International Agency for Research on Cancer (IARC) elkarteak *Helicobacter pylori* bakterioa definitu zuen adenokartzinoma gastrikoaren lehen kausatzat, bereziki minbizi mota intestinalean (ez da ahaztu behar aldakortasun indibiduala: infektatutako 10.000 norbanakotatik hiruk baino ez dute minbizia garatuko). Hala ere, ez da aiantzi behar mikroorganismo honek faktore babesgarriztat joka dezakeela lotura esofago-gastro/kardiaseko adenokartzinoma intestinaletan<sup>3</sup>.

*Helicobacter pylori* bakterioak sorturiko gastritis kronikoak garatzen du gaitza, infekzioak kaltea eragin eta lau hamarkada edo gehiago pasatu ostean. Lehendabiziko fasean, gastritis ez-atrofikoa gailentzen da, bereziki zona antralean. Horrek linfozitoen, makrofagoen zein zelula plasmaticoen infiltrazioa suposatzen du, eta horrek, batzuetan, folikulu linfoideak sortzen ditu; laburbilduz, inflamazioa eragiten du. Inflamazio horrek guruinen galera edo gastritis atrofikoa dakar, eta hipokloridria eragiten du. HCl-ak aktibatzen dituen gastrina- eta pepsina-mailak murriztu egingo dira. Horren ondorioz, eta babes modura, urdailak metaplasia intestinala garatzen du, antro eta gorputzetik sakabanatuz. Bi metaplasia-gradu desberdintzen dira:

- Enterozitoen parekoak diren zelulak, bilotsuak eta eosinofilikoak.
- Mukosa kolonikoaren antza duten zelulak, zelula muki-jariatzaileak bereziki.

Metaplasia aldaketa anomaloa da, bidea leuntzen dio displasiari; azken hori neoplasia aurreko lesio bezala defini daiteke, nahiz eta lamina propioa errespetatu infiltraziorik gabe. Alde batetik, arrisku baxuko displasia dago (% 0-23), eta, bestetik, arrisku altukoa (% 60-85).

Azken fasean, lamina propioa zeharkatu eta infiltratzen da kartzinoma inbaditzaile bilakatuz. Dispepsia dutenen % 50ak gastritis kronikoa pairatzen du, eta horietatik % 60ak metaplasia intestinala. Kasu gutxi batzuek garatuko dute displasia eta, azkenean, minbizia.

### Urdaileko minbizi difusoa

*Kasuen % 5ean* zelulak desberdin gabeak dira E-cadherina eranste-proteinan pairatzen duten kalteगतिक, proteina hori transkribatzen duen CDH1 genean izaten den metilazioa dela eta. Erlazio genetikoa ikusi da kasuen % 64an.

*Ebstein Barr* birusaren hainbat genek ere erlazioa daukatela ikusi da adenokartzinoma kasuen % 2-16an (EBER-1, EBER2, EBNA1, LMP2A, BARF0, BARF1), bereziki, lokalizazio proximalagoa duten minbizi difusoetan. Hala ere, erlazioa ez da hain nabaria<sup>4</sup>.

### 1.1.4 KLINIKA

Gure inguruan, urdaileko minbizia jasaten duten gaixo gehienak sintomak dituzten unean garatutako gaixotasun osaezina pairatzen dutenaren seinale dira. Diagnostikoaren unean, erdiak baino gehiago urdail inguruko eremuak gaitzen dituzten tumoreak dira, eta gaixo horien laurdenak baino ez du potentzialki osa daitezkeen tumorarik. Kirurgikoki osa daitezkeen urdaileko minbizi goiztiarrek sintomarik sortzen ez dutenez, oso gutxitan diagnostikatu ohi dira screening programetatik at. Intzidentzia altua duten zenbait herrialdek —hala nola, Japoniak, Venezuelak eta Txilek— ezarri dituzte jadanik gure lurraldeotan bularreko edo koloneko minbiziak goiz detektatzeko screening programak<sup>5</sup>.

Pisu galera eta sabeleko min jarraitua dira sintoma klasikoak. Anorexiak, goragaleak, sabeleko minak, betetze goiztiarrak, disfagiak eta botakak eraginda kaloria gutxiegi jasotzeak eragindakoa da pisu galera, gehitutako jarduera kalorikoak eragindakoa baino gehiago. Mina sortzen denean, min ahula eta lausoa izan ohi da hasieran, eta gero eta zehatzagoa eta gogorragoa bilakaeran zehar. Disfagia urdaileko minbizi proximalarekin edo kardiako eta urdail-hestegorri loturako (UHL) minbizi gero eta ohikoagoarekin dago erlazionatuta. Bestalde, Auerbach plexuaren tumoreगतिक infiltrazioak sortutako pseudoakalasia ere gerta daiteke tumoreotan, eta minbizia ere kontuan hartu behar da

akalasiaren diagnostiko diferentziala egiterakoan.

Urdaileko minbizi difusoaren (UMD) kasuan, sintomak are ahulagoak izan ohi badira ere, sarri askotan, «linitis plastiko» bezala ezagututako urdailaren distentsibilitate gutxituak goragalea eta asetze goiztiarra sortu ohi ditu. Sintoma horiek urdail distalaren piloro inguruko tumoreen buxadura-sintomak ere izan daitezke.

Anemia ferropenikoa sortzen duen odoljarrio ikusezina ohikoa den arren, gaixoen % 20ak baino gutxiagok izan ohi ditu melena eta hematemesia. Gaixoen % 25ak ultzera gastrikoaren istorioa izan ohi du, eta osatugabeko ultzeren gastrokopia bidezko jarraipen zorrotza gomendatzen da horrelakoetan.

Neoplasia honen agerpen klinikoa oso aldakorra izan daiteke indibiduo batetik bestera: (1.1 taula).

**Taula/ Tabla 1.1. Urdaileko minbiziak eragindako sintomak**

Sintomak	Portzentajeak
Pisu galera	% 62
Min abdominala	% 52
Goragalea	% 34
Disfagia	% 26
Melena	% 20
Betetze goiztiarra	% 18
Ultzera antzeko mina	% 17

Hesteetako adenokartzinomaren kasuan, inbasio lokala begetantea eta zirkunskribatua da, eta metastasi hematogenoak emateko ahalmena du: gibela (% 30-35), birika (% 10-25), hezur-ehuna (% 1-4) eta giltzurrun gaineko guruinak (% 1-2).

Adenokartzinoma difusoari dagokionez, ostera, lokalki infiltratzailea da, eta, kasu batzuetan, «linitis plastikoa» sor dezake. Diagnostikoaren orduan, % 70ak baino gehiagok hedapen linfatikoa aurkezten du.

Bestalde, oso ohikoa da bide zelomikoari esker gertatzen den hedapen peritoneala; diagnostikoaren orduan % 5-20an positiboa da, eta berragerpenen % 50a suposatzen du UMDn ohikoagoa den metastasi mota honek. Gaur egun, hainbat teknika kirurgiko garatzen

ari dira gaixotasun peritonealari ekiteko: *Hyperthermic Intra Peritoneal Chemotherapy* (HIPEC) eta *Neoadjuvant Intra Peritoneal and Systemic Chemotherapy* (NIPS).

## 1.1.5 DIAGNOSTIKOA

### Azterketa fisikoa

Uki daitekeen sabeleko masa da zeinurik usuena azterketa fisikoan, garatutako gaixotasunaren seinale izan ohi dena. Gaixotasunaren barreadura-bide ohikoena inguruko gongoilak eta peritoneoa dira, eta gibela da metastasiek gehien erasaten duten organoa. Uki daitekeen gibleko masa arraroa da, metastasiak ugariak eta barreiatuak izan ohi baitira, eta fosfatasa alkalinoa igotzen dute sarritan. Aszitis kartzinomatosa bera ere gaixotasuna hedatzearen seinale izan daiteke sarri askotan. Gibel-gutxiegitasuna gaixotasunaren azken faseetan soilik agertzen da.

Batzuetan, obulutegiak, hezurak, sistema nerbioso zentrala eta ehun bigunak ere izan daitezke metastasien jomuga. Gaixotasunaren inguruko eta urruneko garapenaren seinale diren beste zenbait zeinu klasiko ere deskribatu izan ohi dira:

- **Krukenberg tumorea.** Peritoneoa erasota dagoenean agertzen den bi obulutegietako tumoreak sortzen duen masari deritzo. Douglasen zakuan uzukiko ukipenean agertzen den tumore edo masari **Blumerren ezkutu** deritzo.
- **Maria Jose ahizparen nodulua.** Zilbor-lotailuaren bitartez peritoneotik azalera barreiatutako tumorearen seinale da, zilbor inguruan agertu ohi den tumore gorrikara.
- **Lepautai gaineko Virchow gongoila.** Urruneko gongoilen agerpena pronostiko urriko datua izan ohi da. Minbiziaren geraleku ohikoetako bat lepautai gaineko gongoilak dira, azterketa fisikoan oso nabarmenak izan ohi direnak.
- **Irish gongoila** (axilarra).
- **Azaleko fenomeno paraneoplasikoak.** **Leser trelat:** keratosi seborreiko paraneoplasikoa da; bere fisiopatologia oraindik ez da ondo ulertzen. **Akantosis nigricans:** guruin pigmentatuak agertzen dira gorputzean zehar.

Azalekoak ez diren beste zenbait agerpen paraneoplasiko ere deskribatu izan dira; hala nola, anemia hemolitikoa, nefropatia mintzezkua, poliarteritis nodosoa, eta hiperkoagulabilitate egoerak (**Trousseau sindromea**).

### Diagnostikoa

Diagnostikoa bi ataletan sailka genezake: alde batetik, minbiziaren diagnostikoa lortzea, non biopsia eta histologia sailkatuko bailirateke, eta, beste alde batetik, estadiatzea eta erauzgarritasunaren balorazioa.

**Minbiziaren diagnostikoan**, gastroskopia bidez edo kirurgikoki lortutako biopsiaren azterketa histologikoak du garrantzi handiena, zeina esperientziadun patologo batek egin izan behar baitu, Munduko Osasun Erakundeak (MOE) ezarritako irizpideak kontuan hartuta [IV, C]. Garestia eta erasokorragoa den arren, **gastroskopia gold standarda** da gaur egun minbiziaren diagnostikoan, proba erradiologikoekin konparatuta sentsibilitate eta espezifikotasun altuagoak baititu eta tumore goiztiarrak diagnostika baititzake, bai eta erauzketa bidezko **diagnostiko histopatologikorako** laginak hartu eta zenbaitetan urdaileko minbizi goiztiarrak (UMG) tratatu ere. Diagnostikoa bereziki zaila izan daiteke urdaileko minbizi difusoen kasuan (UMD), gero azalduko den moduan tumoreok submukosa inbaditzeko eta bertatik barreiatzeko duten gaitasuna dela bide, mukosaren itxura eta zenbaitetan biopsiak ere faltsuki negatibo izan baitaitezke. Hori dela eta, UMD susmatuz gero, biopsia aleatorioak eta sakonagoak hartzea gomendatzen da.

Ondorioz, eduki ditzaketen % 50rainoko negatibo faltsuak eta UMG diagnostikatzeko duten ezintasuna direla eta, diagnostikoari dagokionez, alde batera utzi dira bariozko ikerketa erradiologikoak, eta soilik laguntza bezala erabili ohi dira gaur egun neoplasien kokapenari buruzko informazioa lortzeko.

**Estadiatzeari** dagokionez, azterketa fisikoa eta anamnesiaren ostean egin beharreko proba sorta derrigorrezkoak dira hemograma, gibel- eta giltzurrun-funtzioaren probak, endoskopia eta kontrastedun gorputz osoko **OTA** (zerbiko-torako-abdomino-pelbikoa) (1. taula). Gainera, erauzgarria dirudien urdaileko minbizia duten gaixoengan laparoskopikak kartzinomatosi peritonealaren diagnostikoan eta erauzgarritasunaren balorazioan lagun dezake, morbilidadeterik gehitu gabe. Horrez gain, gaur egun derrigorrezkoa da **diziplina anitzeko talde** batek osatutako biltzarra eratzea urdaileko minbiziaren tratamendua hasi aurretik.

Estadiatzearen sailkapenean American Joint Committee on Cancer (AJCC) eta International Union Against Cancer (UICC) erakundeek sortutako **TNM sailkapena** erabiltzen da egun mundu osoan. Hiru parametrotan oinarritzen da: (T) oinarritzko tumorearen tamainaren eta hormaren inbasioaren arabera, (N) erasotako gongoil linfatikoen zenbakiaren arabera, horien kokapenari erreparatu gabe, eta (M) metastasien arabera. Nahiz eta inbaditutako gongoilen kokapenaren sailkapena (N1,2,3) erabilgarria eta garrantzitsua den pronostikoan, ikerketen arabera, gongoil positiboek kopuruak erlazio handiagoa du biziraupenarekin, hori delarik gaur egun erabiltzen dena TNM sailkapenean.

Bestalde, hestegorrira 5 cm hedatzen diren UHLko tumoreak (SiewertIII) hestegorrikoak

izango bailiran sailkatzen dira gaur egun AJCC/UICC 7 edizioko sailkapena sortuz geroztik.

Aipatutako probez gain, **erauzgarritasuna** ikertzen laguntzen duten beste zenbait proba egin daitezke, gaur egun eskuragarritasunaren arabera egiten direnak eta informazio garrantzitsua eman dezaketenak, bakoitza bere gomendatze-mailarekin. Erauzgarritasuna guztiz kontraindikatu duten bi ustezko egoera dira urruneko metastasiak eta odol-hodi handien infiltrazio lokala; hala nola, aorta edota ardatz zeliakoaren ahokatzeta, gibel-eta bare-arterien oinarrien erasanarekin. Bare-arteria distalaren infiltrazioa ez litzateke kontraindikazioa, blokean egindako urdailaren, barearen eta pankrearen erauzketa bidezkoa bailitzateke. Gainera, urdail inguruan (N1-2) agertutako itxuraz erasotutako gongoil linfatikoek ez dute kontraindikatu kirurgiarik. Bestalde, urruntasunean agertutako gongoilak (N3-4) —bare azpikoak, kaba-aorta artekoak, mediastinikoak— erauzketa kirurgikotik at egongo lirarteke, eta, beraz, erauzgarritasuna kontraindikatu lukete. Peritoneoko zitologia edo biopsia positiboak ere M1tzat har daitezkeenez, erauzgarritasunaren kontrako dira; beraz, peritoneoaren erasanaren susmo handiko gaixoengan **ikerketazko laparoscopia** gomendatuta egongo litzateke kasuok erauzketaren morbiditateak baztertzeko.

Urdaileko minbizien % 5ak, gainera, *linitis plastika* izeneko urdail osoaren horma-zabalera guztiaren erasana pairatzen du, zeinek distentsibilitate gutxituko poltsa zurrunaren itxura ematen baitio urdailari. Linitisak oso pronostiko urria ematen dio gaixotasunari, diagnostikotiko kartsinomatosi-tasa oso altuekin, eta horrek, autore askoren ustetan, erauzteko aukera kontraindika dezake.

### a) Ekoendoscopia

Tumorea estadiatzeko probarik garrantzitsuenetakoa da, **Tri eta Nri** buruzko informazio garrantzitsua ematen baitu, oso sentzibilitate eta espezifikotasun altuekin (T: S: % 85; E: % 90 eta N: S: % 83 E: % 67) erradiologo jakitunek burutua denean. Modu egokian zehazten du paretaren geruzen inbasio-maila eta tumore-gongoilak diren ala ez. Ekoendoscopia bidez egindako gongoilen biopsiak probaren espezifikotasuna handitu dezake. Konplikazio-tasa baxua duen arren (% 0,3), proba erasokorra da, eta, batez ere, aukeratutako kasuetan gomendatu beharrekoa. Gaur egun, gida gehienek gomendatzen dute M1 ez diren gaixo ororengan, eskuragarri dagoen bitartean, betiere kirurgia atzeratuko ez badu. Espresuki gomendatuta legoke, alde batetik, lokalki garatutako tumoreetan kirurgia aurreko kimioterapia edo kimioerradioterapia aukeratzeko, eta, bestetik, UMGetan endoscopia bidezko tratamenduak aukeratzeko orduan.

### b) OTA

Estadiatzeko eskaner torako-abdomino-pelbikoa da beti lehenik eskatzen den proba. Zain barneko kontrastea erabiliz, hobeto ikusten dira tumorearen itxura eta kokapena. Gainera, aho-bideko kontrastea ere ager daiteke, eta kontraste hirukoitza sortu. TNMren

informazio garrantzitsua ematen du; metastasiak (M) ikusteko oso baliagarria da, batez ere gibel-metastasiak, urruneko gongoilak eta aszitisa antzemateko gai baita. Horiek agertzen badira, beharrezkoa ez den kirurgia ekiditeko froga garrantzitsuena den arren, faltsu positiboak direla-eta, sarritan, horien biopsiak behar izaten dira. Gainera, OTA berrienak ere ez dira gai izaten 5 mm baino txikiagoak diren metastasiak eta peritoneoko inplanteak ikusteko, eta OTA negatiboa duten pazienteen % 20-30 artean negatibo faltsuak agertzen dira. Tumorearen horma barneko infiltrazioa (T) eta inguruko gongoilak (N) ikusteko ez da hain erabilgarria; normalean (% 50-70), T infraestadiatu eta positibo faltsuak igortzen ditu 0,8 mm baino txikiagoak diren gongoilekin (zenbaitetan ikusten ez direnak), eta besteetan hanturak handitutako gongoilekin.

### **c) PET (18 fluorodeoxyglukosa erabiltzen duen positroien emisio bidezko tomografia)**

Tumoreak handiak direnean, metastasiak susmatzen ditugunean (M) edo N hobeto zehaztu nahi dugunean aholkatzen da PETa. Metastasi txikiak ikusteko OTAk baino sentsibilitate altuagoa du, eta gongoilak zehazten OTAk baino espezifikotasun altuagoa. Hala ere, UMLn ez da oso erabilgarria, zelulok gutxitutako metabolismoa ager baitezakete, negatibo faltsuak aurkeztuz; gainera, kartzinomatosi peritonealaren kasuan, % 50eko negatibo faltsuak eman ditzake. Hori guztia dela eta, PETa ez da urdaileko minbizi kasu guztietan gomendatzen, kasu aukeratuetan baizik (III,B).

### **d) Tumore markatzaileak**

Odoleko CEA, CEA125, CA-19-9 eta CA72-4 markatzaileak altu egon daitezke urdaileko minbizia duten gaixoengan; hala ere, oso sentsibilitate eta espezifikotasun baxuak erakusten dituzte. Etorkizunean erreminta moduan oso erabilgarriak izan daitezkeen arren, gaur egun ezin daiteke horietako bat bera ere kontuan hartu urdaileko minbiziaren tratamenduaren gaineko erabakirik hartzeko. Tratamendu osteko gaixotasunaren berragertzea jarraitzeko erabili ohi dira, nahiz ez duten baliagarritasun zehatzik erakutsi.

### **e) Laparoscopia esploratzailea**

Proba erasokorra den arren, gai da T1 baino altuagoa duten urdaileko minbizietan agertzen den OTA bidez ikusezinak diren gibeledu metastasia eta kartzinomatosi peritoneala antzemateko kasuen % 20-30ean. Bereziki baliagarria da gaixotasun zabaldua izateko aukera handiak dituzten tumore handietan, T3 (OTAn > 5cm), T4 edota N positibo dutenetan. Gainera, tresna aproposa da peritoneoaren zitologia lortzeko; positiboa bada, kirurgia bertan behera utzi eta kirurgia aurreko kimioterapia bidezko tratamendua aukeratzea gomendatuko da (III,B).

### **Diagnostiko goiztiarra**

Erauzketa kirurgikoa da, batez ere kirurgia inguruko tratamenduekin konbinatzen



denean, gaur egun biziraupen-tasa altuena aurkezten duen tratamendua. Erronka nagusia, baina, minbiziaren diagnostikoa potentzialki osa daitekeen unean egitea da. Herrialde garatuetan diagnostikoen bi heren III. eta IV. estadioetan egiten dira egun, eta % 10 baino ez da lortzen I. estadioan. Biztanleria osoko screening-programak planteatu dira intzidentzia altua duten herrialdeetan; esate baterako, Japonian. Gurea bezalako intzidentzia baxuko herrialdeetan, baina, kanpaina hauek garestiak eta errentagarritasun baxuegikoak izango lirateke.

Hala ere, arrisku altuko zenbait pertsona hautagai izan litezke diagnostiko goiztiarraren kanpainak bidean jartzeko. Aurrebaldintza genetikoak (familiako UMDa pairatzeko CDH-1 mutazioak), faktore dietetikoak, azido-jariatze handitua, H. pylori, Barrett hestegorria eta urdaileko minbiziarentzako beste zenbait arrisku-faktore dituzten gaixoak izan daitezke abiapuntu. Ikerketen arabera, sintomak dituzten gaixoengan egindako screening-kanpainek igo egin ditzakete I. estadioetan dauden kasuen diagnostikoak % 4tik % 26ra.

Bestalde, odoleko zenbait markatzaile frogatu izan dira screening kanpainetan. Egun, pepsinogeno IIren igoera-tasak edo pepsinogeno Ien jaitsierak ikertzen ari dira, baina sentzibilitate eta espezifikotasun-tasa baxuak dituztela ematen du; beste faktore batzuekin konbinazioan aplikatu beharko lirateke.

Ikerketa gehiago eta zabalagoak behar dira eremu honetan, garai goiztiarretan egiten den diagnostikoa baita gaur egun urdaileko minbizia osatzea berma dezakeen faktoreetako bat, kirurgiarekin eta kirurgiaren inguruko tratamenduekin batera.

**Taula/ Tabla 1.2. TNM estadiajea. 7. edizioa 2009 (AJCC/UICC).**

Sintomak	NO	N1 (1-2)	N2 (3-6)	N3a (7-15)	N3b (>16)
T1 Mukosa/submukosa	IA	IB	IIA	IIB	IIB
T2 Muscularis propia	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIA
T3 Subserosa	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IIIB
T4a Serosa	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IIIC
T4b Inguruko organoak	IIIB	IIIB	IIIC	IIIC	IIIC

## 1.1.6 ANATOMIA PATOLOGIKOA

### MAKROSKOPIKOKI

#### Urdaileko minbizi goiztiarra

*Urdaileko kartzinoma* goiztiar deritzo mukosara eta submukosara mugatzen den tumoreari, nahiz gongoil linfatiko positiboak izan eta tumorearen tamainari ez erreparatu. Orokorrean, 2 cm baino gutxiagoko tumoreak izan ohi dira, gongoiliek gabekoak eta, sarritan, urdailaren biribilgune txikian kokaturikoak. Batzuetan, multifokalak izan daitezke, pronostiko txarragoa aurkezten dutelarik. Pariseko azken sailkapenak zenbait azpimotatan sailkatzen ditu tumoreok, itxura makroskopikoari dagokionez.

Lamina propioaren inbasioak definitzen du mukosa barneko kartzinoma, *in situ* edo gradu altuko displasiatik bereiztea oso garrantzitsua delarik, azken horrek ez bezala eta koloneko edo beste zenbait minbiziren aldean metastasiak sortzeko gaitasuna baitu.

Orokorrean, pronostiko oneko tumorea da goiztiarra, garatutako urdaileko minbiziaren aldean. 5 urteko jarraipenean, % 90eko biziraupen-tasak izan ditzake, tratamendu eta jarraipen egokiak eginez gero. Horretarako, garrantzitsua da kirurgia eta kirurgia aurreko tratamenduak bideratuko dituen kirurgia aurreko minbizi goiztiarraren diagnostiko zehatza. Itxura makroskopikoa lagungarri izan daitekeen arren, biopsia laginetan mikroskopikoki jasotako informazioan eta kirurgia aurreko ekoendoskopian eta OTA froga osagarrietan oinarritzen da diagnostikoa.

#### Urdail-hestegorri loturako tumoreak

Tumorearen kokapenaren arabera, urdail-hestegorri lotura inguruan dauden tumoreak sailkatzeko, AJCCren TNM sailkapenaren 7. edizioak Siewert-en sailkapenaren arabera sailkatzen ditu, hiru taldetan: Siewert I, tumorearen oinarria hestegorrian, Z lerrotik gora dagoenean, hestegorriko tumore legez sailkatuko litzateke; Siewert II, tumorea kardia bertan dagoenean; Siewert III, gastrektomia luzatua = gastrektomia osoa + esofagoaren 5 cm.

#### Linitis plastikoa

*Linitis plastiko* (LP) kontzeptua erabiltzen da minbizi difusoak urdaila bezalako organo hutsei erasaterakoan eragiten dien zurruntasuna adierazteko; forma mantentzen dute, baina uzurtuta geratzen dira. Berez, urdaileko minbizi lausoak hartzen duen itxura makroskopikoa deskribatzeko sortu zen arren, digestio-aparatuaren edozein hestegmentu har dezake. Zelulen arteko lotura galerak eskaintzen dien hedatzeko gaitasuna dela eta, submukosan zeharreko heste-horma osoan zehar barreiatzen dira erraztasunez,

organoari itxura makroskopiko tipikoa eskainiz. Digestio-aparatuaren beste kokaguneetan agertzen denean, orokorrean urdaileko minbizi lausoaren metastasi moduan agertu ohi dira, nahiz eta zenbaitetan organoaren beraren minbizi primario moduan ere deskribatu izan diren; adibidez, heste zuzenaren kasuan.

## MIKROSKOPIKOKI

### Sailkapen histologikoak

Urdaileko minbiziak heterogeneotasun zabala aurkezten du, bai eraikuntza histologikoari eta bai zelulen egiturari dagokienez; ondorioz, sarritan, egitura histologiko ezberdinak izan ditzake tumore berak. Azken hamarkadetan eta gaur egun arte, **Lauren sailkapenean** oinarrituta bereizi eta tratatu izan dira urdaileko tumoreak, zeinek heste itsurako adenokartzinoma (% 55) eta urdaileko minbizi lausoa (% 30) bereizi baitzituen, sailkaezinak ziren tumoreak (% 15) ere nabarmendu zituelarik.

2010eko **MOEren sailkapenak** 4 azpimota histologiko sailkatu zituen: tubularra, papilarra, mukitsua eta kohesio urrikoa (zigilu-eraztun motako kartzinoma zeluladuna barne); beste alde batetik, urdaileko minbizi mota ezohikoak<sup>6</sup>.

Adenokartzinoma **tubularra** da urdaileko minbizi mota histologiko ohikoena. Masa polipoide edo fungoideak osatzen ditu makroskopikoki, eta mikroskopikoki tamaina askotako banatutako tubuluak, mukiz beterikoak.

Bigarren mota ohikoena adenokartzinoma **papilarra** da; pertsona zaharren artean agertzen da, urdail proximalean kokatua, eta gongoil linfatiko positiboak eta gibel-metastasiak sortzeko erraztasun handiagoa du. Histologikoki erdigune fibrobaskularraren inguruan hasten diren luzapen epitelialak sortzen ditu.

Figura 1.1. Urdaileko minbiziaren sailkapen histopatologikoak.

WHO (2010)	Lauren (1965)
Papillary adenocarcinoma	
Tubular adenocarcinoma	Intestinal type
Mucinous adenocarcinoma	
Signet-ring cell carcinoma	Diffuse type
And other poorly cohesive carcinoma	
Mixed carcinoma	Indeterminate type
Adenosquamous carcinoma	
Squamous cell carcinoma	
Hepatoid adenocarcinoma	
Carcinoma with lymphoid stroma	
Choriocarcinoma	
Carcinosarcoma	
Parietal cell carcinoma	
Malignant rhabdoid tumor	
Mucoepidermoid carcinoma	
Paneth cell carcinoma	
Undifferentiated carcinoma	
Mixed adeno-neuroendocrine carcinoma	
Endodermal sinus tumor	
Embryonal carcinoma	
Pure gastric yolk sac tumor	
Oncocytic adenocarcinoma	

**Adenokartzinoma mukitsua** urdaileko minbizien % 10 izan daiteke. Laginaren % 50a baino gehiago hartzen duten mukiz osatutako lakuak osatzen ditu, zeinen inguruan egitura papilarrak edota zigilu-eraztun motako zelulak ager baitaitezke.

**Kohesio urriko kartzinoma** da klasikoki, Laurenen sailkapenaren arabera, urdaileko minbizi difusoa osatzen duena. Horren barnean, zigilu-eraztun motako kartzinoma zeluladuna sailka daiteke, zelulok laginaren % 50 baino gehiago osatzen dutenean. Mikroskopikoki, linfozito, histozito eta zelula plasmatikoen itxura hartzen duten tumore honen zelulek submukosatik eta subserosatik barreiatzeko gaitasun handia dute, urdailetik kanpoko egiturak, hala nola duodenoa eta hestegorria, erasoz. Garapen horri esker, urdailaren horma osoan desmoplasia erreakzioa sortzen da, eta erraiak *linitis plastiko* deritzon zaku zurrunaren itxura hartzen du. Bestalde, iragazkortasun linfobaskularra sortu ohi du erraztasunez, eta gongoil linfatikoetatik hedatzeko gaitasun handia du, sarri askotan kartzinomatosi peritoneala ere sortuz.

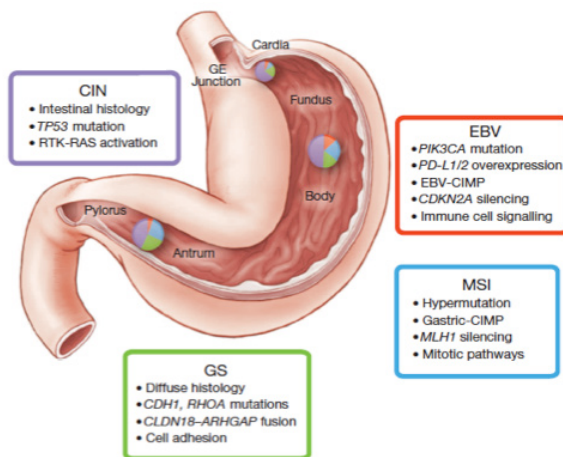
Lau mota ohikoenez gain, MOEk beste zenbait mota ezohiko aipatu zituen, hala nola kartzinoma ezkatatsua, kartzinoma adenoezkatatsua, adenokartzinoma hepatoidea, koioekartzinoma, eta abar.

### Patologia eta sailkapen molekularra

Aldaketa genetiko eta molekularren metaketa gertatzen da urdaileko minbiziaren garapenean. Horren barnean, onkogeneen aktibazioa, hazkuntza-faktoreen eta horien

hartzaileen gainespresioa, gene tumore-ezabatzaileen inaktibazioa, DNA konpontzen duten geneen mutazioak, lotura-molekula desagertzeak eta aldaketak, eta hipermetilazio-prozesuak gerta daitezke.

Figura 1.2. Sailkapen molekularra



Horren inguruan, minbizi genomaren atlasaren sorreraren proiektuan, lau azpimota molekular proposatu berri dira urdaileko minbiziaren barnean: Epstein Barr birusarekiko positibo diren tumoreak, zeinetan PIK3CA mutazio jarraituak, DNAREN hipermetilazio garrantzitsua eta JAK2, CD 274 (PDL1) eta PDCD1LG2 (PD-L2) en anplifikazioa jasaten baitituzte; mikrosateliteen ezegonkortasuna duten tumoreak, terapeutikoki erabil daitezkeen proteinak partaide dituzten seinalizazio-bideak barnean dituzten mutazio-tasa altukoak; genomikoki egonkorak diren tumoreak, non urdaileko minbizi difusoa sailkatzen baita eta RHOA eta RHO familiako GTPsa proteina aktibatzaileen mutazioak aurkezten baititu; eta kromosomikoki ezegonkorak direnak, nabarmen aneuploideak direnak eta tirosin kinasaren hartzaileen anplifikaziodunak.

### 1.1.7 TRATAMENDUA

#### Kirurgia aurreko ebaluazioa

Estadiaje klinikoan, garrantzitsua da tumorearen erazgarritasuna ikertzea. Esklusio-kriterioak zehatzak dira: urruneko metastasiak eta inbasio baskularra. Besteak beste, aorta, arteria hepaticoa, enbor zeliakoa edota arteria espleniko proximala. Gongoil linfatikoak

ere eskusio-kriterio dira bi egoeratan:

- Pankrearen buruan «bulky masa» lokalizatzen bada. Kasuotan, beharrezkoa izango da Whipple prozedura, metastasi ezkutuen arriskuarekin.
- Gongoil linfatikoak badaude pankrearekiko peritoneo atzetik edo azpitik, kaba aortan, edota mediastinoan. Gune kirurgikotik at daudela jotzen da.

Horrez gain, «linitis plastikoa» ezaugarri baztertzailatzat hartzen dute askok. Izan ere, pazienteen erdiak metastasiak dituzte, peritoneokoak bereziki, diagnostikoa egiterakoan, bai eta erasan nodala ere.

Kontrara, inbasio lokal-erregionala daukaten pazienteak sendagarritzat hartzen dira hasiera batean. Submukosaren inbasioa eta inbasio nodala duten pazienteek ezinbestekoa dute **diziplina anitzeko** balorazioa.

Aintzat hartu beharreko azken gauza garrantzitsua pazientearen operagarritasuna da; hau da, aurretik zeuzkan gaixotasunen larritasuna, anestesia elkartaren ASA eskalaren bidez neurtuko dena.

### Tratamendu kirurgikoa

Urdaileko minbizia gehienetan gaixotasun hilgarria den arren, azken bi hamarkadetan asko hobetu da bizi-itxaropena, teknika kirurgikoen hobekuntzari, kirurgia inguruko tratamendu kimioterapiakoei eta diziplinarteko tratamenduei esker.

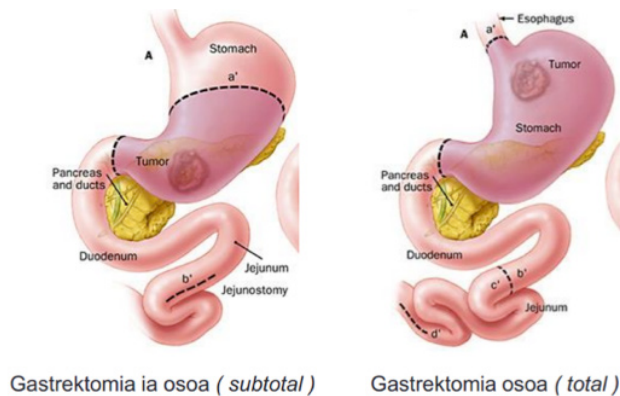
**Endoskopikoki egindako erazteak** onargarriak dira oso goiztiarrak diren urdaileko minbizietan, mukosan ezarrita (T1a), ondo desberdindutakoak (G1), ultzeratu gabeak eta 2 cm baino txikiagoak diren bitartean (III, B), tumoreotan gongoil linfatikoetako metastasiak (N1) izateko aukera teorikoa zero baita. Teknika moduan, submukosaren disezioa gauzatzen duten teknikak gomendatzen dira Gastrointestinal European Society-ren arabera. Ezaugarri horiek betetzen ez dituzten T1 motako tumoreak erazketa kirurgiko mugatu bidez trata daitezke, eta, D1 motako linfadenektomiarekin, proposak dira laparoskopio bidezko teknikak erabiltzeko.

Egun, **kirurgia** da mugatutako urdaileko minbizia (E IB-III) duen gaixoari eskain dakioken pronostikoa gehien luzatuko duen terapia. Urruneko metastasirik, odol-hodi handien inbasiorik edota gaixoaren aldetiko kontraindikazio medikorik ez badago, kirurgia izan behar da lehen aukera; eta kirurgia aurreko frogen arabera lokalki garatutakoa bada, kirurgia aurreko kimioterapia edo erradio-kimioterapia gehituko zaizkio. Biziraupena luzatzeaz gain, proba diagnostiko eraginkorra da kirurgikoa, bertatiko azterketa zabala egiteaz gain makrobiopsiak lortzeko aukera eskaintzen duelako, eta konplikaturako gaixotasun hedatuaren kasuan tratamendu aringarriak egiteko aukera ematen duelako ere bai<sup>9</sup>.

Kirurgia teknikaren eta bidearen aukeraketa tumorearen kokagunearen, hedapenaren, estadioaren eta histologiaren arabera da. Punturik garrantzitsuenak dira urdail-erazketaren zabalera eta gongoil linfatikoen erazketaren hedadura.

*Gastrektomia osoa*, normalean, urdail proximalean agertzen diren tumoreen kasuan erabiltzen da, eta gastrektomia **ez-oso**a urdailaren beheko azken bi herenetan agertzen diren tumoreetan onartzen da gehienetan. Orokorrean, Laurenen sailkapenaren hesteetako adenokartzinomaren histologia duten gaixoengan 5 cm-ko marjina proximalak eta distalak onartu ohi dira, eta 8 cm-koa UMLren histologia zutenengan. Hala ere, zenbait autorek, UMLa duten gaixoengan gastrektomia osoa gomendatzen dute, kokapena zein den begiratu gabe, batez ere linitis plastikoaren zantzuak daudenean. UHLko tumore distalen (Siewert III) kasuan, gastrektomia osoa gomendatzen da, berragerpen-tasa baxuagoa eta anastomosiaren konplikazio gutxiago sortzen baititu ikerketen arabera (III, A).

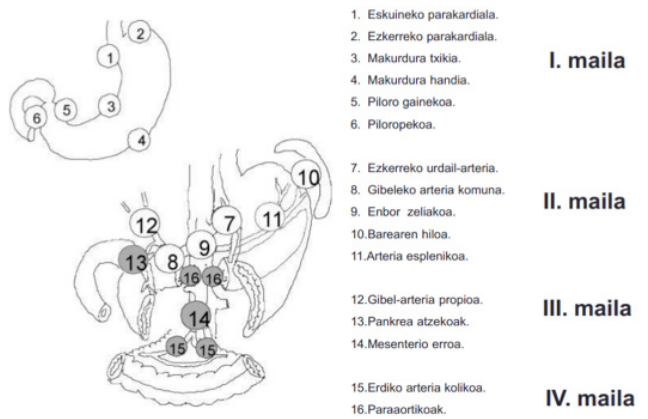
**Figura 1.3. Gastrektomia motak.**



Linfadenektomiari dagokionez, D1 linfadenektomiatzat hartzen da urdail inguruko gongoilak erazten direnean, eta D2tzat urdail inguruko, enbor zeliako inguruko, urdailaren ezkerreko, bareko eta gibel-arteria amankomunaren inguruko gongoilak erazten direnean. Bestalde, UICC/AJCC TNM 7. edizioaren sailkapenak 15 gongoilen erazketa jotzen du gutxienezkotzat estadiatze egokia bermatzeko. Ekialdeko herrialdeetan D2 linfadenektomia aspaldidanik frogatu eta gomendatu den artean (II, B), mendebaldean ugariak izan dira horren biziraupen-tasa altuagoak frogatu ezin izan dituzten ikerketak; gainera, pankreatektomiari eta esplenektomiari eragotzitako morbiditate-tasa altuak aurkezten zituzten. Azken ikerketen arabera, baina, epe luzera gaixotasunaren berragerpen lokalen tasa baxuagoak izan ditzake D2 linfadenektomiak, barea eta pankrea matentzeak

ekar ditzakeen morbiditate eta mortalitate (% 15, % 3) onargarriak gehituta. Beraz, azken gomendioen arabera (I, B), mendebaldeko herrialdeetan ere, gaixo osasuntsuen kasuan **D2 linfadenektomia** da gomendagarria, betiere kirurgia kopuru altua gauzatzen duten zentro espezializatuetan. Ez dago D3 linfadenektomia hedatuaren aldeko ebidentzia zientifikorik ez eta gomendiorik, sortzen duen morbiditateari eta hilkortasunari ez bazaie biziraupen-tasa onargarriak gehitzen (I, A).

**Figura 1.4. Urdaileko minbiziaren barreiadura linfatikoa eta linfadenektomia motak.**



**Laparoskopia** bidezko kirurgia, ziurra eta kirurgia osteko suspertze goiztiarrean eraginkor ikusi den arren urdaileko gaixotasunetan, oraindik frogatzeko daude honen eraginkortasuna D2 linfadenektomian, gorputz barneko anastomosietan eta epe luzeko biziraupen-tasen berdintasunean. Beraz, gaur egun urdaileko minbizi goiztiarraren tratamenduan gomendatuta dagoen arren, D2 behar duten minbizietan gold standarra izaten jarraitzen du bide klasikotik egiten den kirurgia irekiak, laparoskopia bidezko teknikak gero eta gehiago egiten ari diren arren zentro espezializatuetan.

Lokalki aurreratutako ezin erauz daitekeen gaixotasunari dagokionean, zenbait ikerketek adierazi dute **kirurgia aurreko kimioterapia eta erradiokimioterapia** lagungarri izan daitezkeela gaixoak potentzialki osatzailea izan daitekeen kirurgiara bideratzeko. Hala ere, egun, tratamendu bide hori ezin daiteke gomendatu ikerketa klinikoetatik kanpo dauden gaixoengan.

**Hedatutako gaixotasunaren kasuan (M1)**, gastrektomiak ez du biziraupena luzatzen eta, beraz, kirurgia eremu paliatibora mugatzen da; hau da, mina, odoljariora, botaka eta buxadura-sintomak ekiditera (I, A). Ez da oraindik finkatu tratamendu **paliatibo** kirurgikoa



edo erradiazioa, endoprotesiak eta beste zenbait teknika biltzen dituen paliazio mediku-instrumentala aukeratzeko irizpiderik. Gibelesko lesio bakarren metastasektomia biziraupena luzatzearekin erlazionatzen ez den bitartean, kasu aukeratuetan egiten den biriketako metastasien erauzketak ekar dezake biziraupen-tasa mugatu bat.

Ikertu dira peritoneoko kartzinomatosiaren edota inplante bakanen tratamenduan erabiltzen diren kirurgia zitoerreduktorea eta **HIPEC** terapiak ere, baina ezin daitezke momentuz ikerketa klinikoetatik at gomendatu.

**Taula/ Tabla 1.3. 2010. urteko sailkapen japoniarra. Linfadenektomia D1, D2 gastrektomia motaren arabera<sup>8</sup>.**

Gastrektomia mota	D1	D1+	D2
Distala	1, 3, 5, 4sb, 4d, 6, 7	(D1) + 8a, 9	(D1) + 8a, 9, 11p, 12a
Totala	1-7	(D1) + 8a, 9, 11p	(D1) + 8a, 9, 10, 11p, 11d, 12a

### Neoadjubantziako eta adjuvantziako tratamenduak<sup>10-11</sup>

Fluoropirimidina eta platinen arteko konbinaziodun kirurgia bitarteko (kirurgia aurrean eta ostean), kimioterapia edo erradio-kimioterapia gomendatzen da gaur egun IB baino altuagoa den urdaileko minbizi erauzgarria duten gaixoengan (I, A). Kirurgia hutsarekin konparatutako ikerketek argi uzten duten arren biziraupen-tasaren luzapena (MAGIC: 5 urte % 23 vs % 36), ikerketa gutxi egin dira bi protokoloen arteko (KT-Z-KT eta KT/RT-Z) zein aukeratzeko laguntzen duen ikusteko, eta ez da oraindik definitu horien arteko konbinaketa egokiena. UHLko tumoreetan kirurgia aurreko erradio-kimioterapia izan daiteke egokiena.

Hala, R0 erauzketak gehiagotu, kirurgiaren konplikazioak gutxitu eta errekuertentzia-tasak hobetzeko, diagnostikatu gabeko mikrometastasien tratamendu goiztiarrari ekin behar zaio, **kirurgia bitarteko tratamendu kimioterapikoa** erabilita. MAGIC eskema terapeutikoa izan da erabiliena. Hala ere, kimioterapiaren erabilera ez dago gutziz babestuta, paziente askorengan ez delako tratamendua betetzea lortzen. Hori horrela, Europan asko erabiltzen den arren, ekialdean eta AEBn ez da oraindik hedatutako eskema. Bestalde, gaur egun FLOT eskema ari da nagusitzen, antza, tratamendua betearaztea areagotzen baita, eta horrek biziraupena luzatzea baitakar. Era berean, erradioterapiak neoadjubantziari dituen onurak ere ikertu dira, TOPGEAR estudioak ebakuntza aurreko erradioterapiari gehituz, eta CRITCS estudioak ebakuntza osteko erradioterapiari. Honako

taula honetan adierazi dira ikerketa nagusiak (**1.3 eta 1.4 taulak**). Azken aldian, gainera, immunoterapiaren erabilera ikertu izan da, ST03 ikerketa.

### **Kirurgia osteko tratamendua**

Kirurgia aurreko kimioterapiarik jaso ez duten IB baino altuagoa duten gaixoengan lagungarri dira kirurgia osteko **kimio-erradioterapia (McDonald eskema)** edo kimioterapia soila (Z-KT/RT edo Z-KT) (I, A). Gaixo gehienengan, T2< edo N+ baldin bada, kirurgia osteko erradio-kimioterapia gomendatu ohi da (II, B). 5-FU/Leucovorin eta tartekatutako erradioterapiak biziraupen-tasa luzeak erakutsi ditu kimioterapia hutsarekin konparatuta. Kirurgia aurreko kimioterapia jaso duten gaixoengan, ostera, kirurgia osteko erradioterapiak ez du onurarik gehitzen, eta egokia izan ez den kirurgiaren ostean eskaini ohi da soilik. Erradioterapia fluoropirimidinadun tratamendu konbinatuarekin bat eman ohi da 45Gytako dosi osoa osatzen duten 1,8Gytako 25 frakziotan banatuta, astean 5 frakzio emanez tartekatuta. Hala ere, erradioterapiarik gabeko tratamendu adjuvanteari dagokionez, aipatzekoa da Asian emaitza esanguratsuagoak lortu direla Mendebaldearekin konparatuz. Bada, ARTIST ikerketak ebakuntza osteko kimio-erradioterapia kimioterapia soilarekin konparatzen du, eta, emaitzen arabera, erradioterapiak ez dauka esangura nabarmenik adjuvantzian.

### **Hedatutako gaixotasunaren / gaixotasun metastatikoaren tratamendua**

Hedatutako gaixotasunaren helburuak sintomak arintzea, bizi-kalitatea hobetzea eta biziraupena luzatzea dira. Gaixoak pairatutako sintomak, egoera fisikoa eta tumorearen mota histologikoa kontuan hartu beharreko puntuak dira tratamendu mota aukeratzeko unean.

Operatu ezin diren gaixoei, erauzi ezineko tumore lokalki garatua edota hedatutako (M1) gaixotasuna duten gaixoei tratamendu sistemikoa, kimioterapia, eskaini behar zaie, frogatu baita, tratamendu mediko paliatiboarekin konparatuta, biziraupena luzatu eta bizi-kalitatea hobetzen duela (I, A). Ausazkotutako ikerketa ugari egin izan diren arren, ez da oraindik kontsentsurik ezarri tratamendu egokien eta horien konbinaketan inguruan. Orokorrean onartu da Fluoropirimidina eta platinen arteko konbinaziodun tratamenduak erabiltzea gaixo osasuntsuengan (I, A). Capecitabina ere biziraupena luzatzearekin erlazionatu da (I, A).

Gaixo zaharrengan edota egoera basal txarrean daudenengan, leucovorin eta 5-FU, oxiplatinoa erabiltzen duten erregimenak gomendatzen dira, edo capecitabina bakarrik (II, B).

### **Pertsonalizatutako terapia zuzenduak**

Aurretik azaldu moduan, azken aldian, urdaileko minbiziaren zenbait mota molekular ezberdin sailkatu dira, bakoitzak bere aldaketa genetiko eta epigenetikoak dituelarik. Lau

azpimota sailkatu berri dira «minbiziaren genomaren atlasean»: hala nola, Epstein Barr birusarekin erlazionatutakoa; mikrosateliteen desegonkortasuna duten tumoreak (MSI); genomei dagokienez tumore egonkorak, non urdaileko minbizi difusoa sailkatzen baita; eta kromosomikoki ezegonkorak direnak (CIN). Konkretuki, ikertuena den azken azpimota honek aldaketa ugari metatzen ditu Tyrosin Kinasa motako hartzaile diren zenbait onkogenetan, eta horien adibide dira HER2, EGFR, FGFR2 eta MET. Aurretik ikertutako aurkikuntza horiek garrantzi handikoak dira gaixo bakoitzaren tumore mota bakoitzaren aurka beren-beregi zuzendutako terapiak aukeratzeko.

HER2 positiboa duten urdaileko minbizien (% 10-15) aurkako **Trastuzumab** bezalako terapien inguruko ikerketek biziraupena luzatzea azaldu dute tratamendu kimioterapiko arruntekin erabiltzen denean (13,8 h vs 11,1 h). Gaur egun, hedatutako urdaileko minbiziaren tratamenduaren atal garrantzitsu bihurtu da HER2aren adierazpenaren ebaluazioa, eta horren aurkako tratamendu zuzenduen erabilera (I, A).

Hala ere, bide hori jarraituz, EGFR eta MET-HGF delakoen aurkako terapiak ere frogatu izan dira III. faseko ikerketetan, eta azaldu dituzten emaitzak ez dira hain itxaropentsuak izan. Bestalde, PD-1 bezalako tumore markatzaileen aurkako Pembrolizumab eta Nivolizumab bezalako **immunoterapiak** erantzun garrantzitsua eman dute iraunkorra den gaixo talde handi baten aurrean.

### 1.1.8 PRONOSTIKOA

Estadiajearen, histologiaren, kirurgiaren, adinaren eta sexuaren baitan dago. Dena den, kirurgia bidezko tratamendu adjubantea eta D2 linfadenektomia jasan dutenengan, batez besteko biziraupena 7,6 urtekoa dela kalkulatu izan da.

Metastasiaren maneia eta horrek duen zeresana indibidualizatua izan ohi da. Hauek ohikoak dira diagnostikoan, % 40 lokal-erregionalak eta % 60 urrunekoak, gibelean eta peritoneoan bereziki.

Errekurrentzia lokal-erregionalak lehendabiziko 3 urteetan ager daitezke, gune anastomotikoetan batik bat.

Taula/ Tabla 1.4. III. fasean dauden ikerketa nagusiak.

Ikerketa	Estrategia	Gune geografikoa	Erregistro zenbakia	Aldagai estandarra	Aldagai esperimentalak	N
<b>CRITICS II</b>	Perioperatorioa	Holanda	NCT00407186	ECC perioperatorioa	ECC-KIR-RT CC	788
<b>TOPGEAR</b>	Neoadjubantzia	Europa	NCT01924819	ECF perioperatorioa	ECF-RT 5FU-KIR-ECF	752
<b>ARTIST II</b>	Adjubantzia	Hego korea	NTC01761461	KIR-S1	-SOX -SOX-RT S1	1000

KIR: kirurgia; KT: kimioterapia; RT: erradioterapia; 5FU: 5-fluorazilo CC: zisplatino, kapezitabina; ECC: epirubizina, zisplatino, kapezitabina; ECF: epirubizina, zisplatino, 5-fluorazilo; SOX: S1, oxaliplatino; CDDP: zisplatino; XELOX: oxaliplatino, kapezitabina; Bev: bevacizumab; CF: zisplatino, 5-fluorourazilo; FLOT: dozetaxel, oxaliplatino, leukoborin, 5-fluorourazilo; FOLFIRI: irinotekan, leukoborin, fluourazilo; DP: dozetaxel, zisplatino; LV: leukoborin.

**Taula/ Tabla 1.5. adenokartzinoma gastrikoaren tratamendu gehigarriaren inguruko ikerketak.**

Ikerketa	Estrategia	Herrialdea	Urtea	Aldagaiak	Kirurgia	Eskema	Pazienteak	Biziraute orokorra	P
INT 0116 (SWOG)	Adjubantzia	AEB	2001	KIR-KTRT vs.	%10 D2	5FU / RT	281	%50 3 urtera	0,005
				KIR			275	%41 3 urtera	
MAGIC	Perioperatorioa	Erresuma Batua	2006	KT-KIR-KT vs.	%43 D2	ECF	250	%36 5 urtera	<0,001
				KIR			253	%25 5 urtera	
ACTS-GC	Adjubantzia	Japon	2007	KIR-KT vs.	D2	S1 aho-bidezkoa	529	%72 5 urtera	Esanguratsua
				KIR			530	%61 5 urtera	
CLASSIC	Adjubantzia	Hego Korea	2012	KIR-KT vs.	D2	XELOX	520	%83 3 urtera	0,049
				KIR			515	%78 3 urtera	
ARTIST	Adjubantzia	Hego Korea	2012	KIR-KTRT vs.	D2	CDDP- capecitabina	203	%74 3 urtera	0,08
				KIR-KT			228	%78 3 urtera	
CRITICS	Perioperatorioa	Holanda	2007-2015	KT-KIR-KT vs.	-	ECC	393	%41 5 urtera	0,99
				KT-KIR-KTRT			395	%41 5 urtera	
FLOT4	Perioperatorioa	Alemania	2016	KT-KIR-KT vs.	-	ECF FLOT	360	%48 3 urtera	0,012
				KT-KIR-KT			356	%57 3 urtera	

## 1.1 INTRODUCCIÓN: CÁNCER GÁSTRICO

Sirva de introducción al estado del arte en cirugía del cáncer gástrico el artículo publicado en la revista Cirugía Española en 2018: **Material adicional 1**: “Current Status of Gastrectomy for Cancer: “Less Is Often More”. Cir Esp. 2018;96:603–605.

## 1.2 INTRODUCCIÓN: CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO

### 1.2.1 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

El cáncer gástrico es la tercera causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial, con una supervivencia media de 24 meses. Presenta un crecimiento progresivo en occidente y existen pocas herramientas terapéuticas más allá de la cirugía en los estadios iniciales de la enfermedad, en los que el tumor se encuentra localizado en la pared gástrica. Según la clasificación de Lauren, la más utilizada clásicamente a nivel clínico, existen dos tipos principales de cáncer gástrico: el adenocarcinoma de tipo intestinal y el carcinoma difuso<sup>12</sup>.

La incidencia del carcinoma difuso ha aumentado de manera progresiva hasta prácticamente igualar la del tipo intestinal en la actualidad. Se trata de una neoplasia agresiva que se presenta más frecuentemente en mujeres y en pacientes más jóvenes y sin antecedentes de patología gástrica preneoplásica.

La capacidad infiltrativa de estas células conlleva la temprana afectación de la submucosa y la diseminación intraparietal del tumor por todo cuerpo gástrico. Este proceso produce en su estadio final un engrosamiento difuso del estómago conocido como “linitis plastica” gástrica que hace referencia a la rigidez del tejido gástrico sin que exista clara tumoración como tal, en muchas ocasiones con mucosa normal. Todo ello conlleva un gran número de biopsias falsamente negativas, lo que dificulta el diagnóstico endoscópico y por lo tanto el diagnóstico precoz.

La principal característica histopatológica es la desdiferenciación celular y la pérdida de adhesión celular, creando nidos de células sueltas que no recuerdan la arquitectura glandular intestinal típica. Se asocia con frecuencia a la presencia de células de amplio citoplasma y núcleo desplazado, conocidas como células en anillo de sello, que cuando representan más del 50% de las células del tumor dan nombre al subtipo definido en la clasificación de la OMS como “Carcinoma gástrico de células en anillo de sello”. La pérdida de adhesión celular confiere a las mismas mayor capacidad de migración e

invasión vascular y linfática, convirtiéndolo en un tumor silente de rápida progresión<sup>13</sup>.

En cuanto al tratamiento, las guías clínicas habitualmente no recomiendan un tratamiento individualizado haciendo referencia al tipo de estirpe tumoral. No obstante, basándose en la diseminación inconcreta del tumor, algunos autores proponen la gastrectomía total para todos los cánceres gástricos de estirpe difusa asumiendo la elevada morbimortalidad perioperatoria correspondiente. Por otro lado, el tratamiento adyuvante clásico se muestra menos eficaz en estos tumores con muy escasas supervivencias y altas tasas de recidiva local y a distancia. A pesar de los múltiples estudios realizados al respecto, en la actualidad no existe ninguna diana terapéutica específica contra este tipo de tumor<sup>14</sup>.

La complejidad biológica y la sigiliosidad en su diseminación, asociadas a la limitación diagnóstica de la histopatología y la ausencia de tratamientos específicos, tanto quirúrgicos como adyuvantes, han convertido al cáncer gástrico difuso en un tumor de mal pronóstico. Por lo tanto, hemos considerado preciso poner el foco en este subtipo tumoral de cáncer gástrico y valorar la aplicación de los nuevos avances científicos y tecnológicos en la materia.

Los recientes progresos realizados en la descripción del genoma humano han resultado en la nueva clasificación molecular del cáncer gástrico en cuatro subtipos<sup>15</sup>. El cáncer gástrico difuso se clasifica entre los tumores genómicamente estables y presenta principalmente mutaciones relacionadas con las moléculas de adhesión en los genes CDH y la transición epitelio mesénquima mediante el gen RhoA<sup>16</sup>.

Las vías de señalización CDH1 y RhoA se encuentran frecuentemente afectadas en el CGD y habitualmente vinculados entre sí, lo que indica que la desregulación de estas dos vías de señalización estaría relacionada con la génesis del CGD. El RhoA se ha demostrado sobreexpresado en el CGD y se relaciona con el citoesqueleto y la migración celular. El aumento de la actividad de RhoA se ha relacionado a su vez con la desregulación de la E-cadherina.

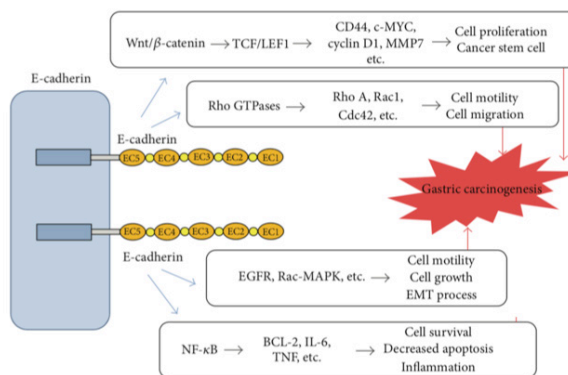
Alteraciones genéticas o epigenéticas sobre E-cadherina conducen a la desregulación de la adhesión y estructura de las células epiteliales, interacciones estromales anormales, así como alteraciones en la migración y señalización celular<sup>17</sup>. Además de su papel en la adhesión célula-célula, la E-cadherina está involucrada en una serie de vías de señalización implicadas en la carcinogénesis. La pérdida de E-cadherina estimula las señales que inician la transición epitelio-mesénquima. Se cree que la E-cadherina forma parte del proceso mediante su conexión con el complejo citoplasmático de adhesión celular al citoesqueleto de actina, activando una serie de vías de señalización que incluyen WNT/ $\beta$ -catenina, Notch, Rho GTPasas y EGFR.

- **Rho GTPasas:** La familia Rho de GTPasas es una familia de pequeñas proteínas G de señalización, subfamilia de la superfamilia Ras. Rho A, Rac1 y Cdc42 han sido

ampliamente estudiadas y se sabe que desempeñan un papel fundamental en la organización del citoesqueleto y la motilidad celular.

- **WNT /  $\beta$ -catenina:** Las vías de señalización WNT son un grupo de vías de transducción de señales formadas por proteínas que transfieren las señales del exterior de una célula a través de la superficie receptora de dicha célula hasta su interior. La vía Wnt es crucial para la actividad de células epiteliales. Se cree que la disminución de la expresión de E-cadherina puede suprimir la señalización de Wnt /  $\beta$ -catenina mediante el secuestro de  $\beta$ -catenina en los puntos de contacto célula-célula.
- **EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico):** Por otro lado, las mutaciones en el dominio extracelular de E-cadherina pueden afectar a la interacción de E-cadherina con EGFR y conducir a la activación de EGFR potenciando aún más la motilidad celular a través de la activación de RhoA.
- **NOTCH:** La vía de señalización Notch es una vía de señalización ligando-receptor activada por moléculas transmembrana, lo que implica que su activación controla el destino celular mediante la interacción de receptores y ligandos en la superficie de las células adyacentes. La vía de señalización de Notch se considera involucrada en tumores gástricos actuando con función dual de oncogén y gen supresor.

Figura 1.4. Vías de señalización mediadas por E-Cadherina.





El CDH1 es considerado por lo tanto un gen supresor tumoral en la carcinogénesis gástrica, participando en la génesis y la propagación de ambas formas de CG, esporádico y hereditario. Se conoce el papel específico de la E-cadherina en el desarrollo del CGD. Por un lado, mutaciones de la línea germinal CDH1 conllevan al cáncer gástrico hereditario difuso (CGDH), patología autosómica dominante caracterizada por alteraciones de la línea germinal en los genes CDH1 (E-cadherina) y CTNNA1 (alfa-E-catenina). Por otro lado, alteraciones epigenéticas de E-cadherina conducen a la expresión deficiente o ausente de E-cadherina que contribuyen al desarrollo de CGD esporádico.

En conclusión, E-cadherina es responsable de mantener la adhesión célula-célula intacta. Por lo tanto, la E-cadherina aberrante promoverá la desregulación de las vías de señalización mediadas por E-cadherina, teniendo un impacto en la adhesión, migración, invasión y supervivencia de las células. La pérdida funcional de E-cadherina hace que las células sean más resistentes a los estímulos apoptóticos.

Por lo tanto, una vez identificadas la E-cadherina y Rho GTPasas como actores clave en la adhesión celular y la organización del citoesqueleto, estos puntos se consideran vitales para inhibir la malignización de las células epiteliales y el aumento de su motilidad. La perturbación de estas dos vías principales y sus interacciones conducen a un comportamiento invasivo de la célula tumoral en el CGD, en el cual las células cancerosas forman, como ya se ha descrito, pequeñas masas colectivas que infiltran masivamente el tejido adyacente con una importante reacción estromal.

La rápida evolución de la investigación en análisis proteo-genómico a nivel experimental y su aplicación en clínica, han generado múltiples métodos de análisis bio-informáticos. Estos ayudan a establecer la relación entre los mecanismos moleculares que regulan la cuantificación de proteínas y el fenotipo del cáncer gástrico difuso (CGD), referido a las características clínico-patológicas y a la progresión de la enfermedad. Recientemente tres subtipos de CGD han sido identificados basados en proteínas expresadas diferencialmente: PX1 proteínas relacionadas con el ciclo celular; PX2 transición epitelio mesénquima (TEM); y PX3 proteínas que intervienen en procesos inmunológicos<sup>32</sup>.

Estos nuevos hallazgos pueden ser aplicados para diseñar nuevos y eficaces sistemas de diagnóstico, previsión pronóstica y tratamiento del carcinoma gástrico difuso. Estos y otros avances científicos en el conocimiento del proceso de cancerización del CGD deben divulgarse con el fin de conocer mejor la biología de la enfermedad y poder así realizar avances en su diagnóstico y tratamiento.

En este contexto se ha desarrollado un proyecto de tesis doctoral con el fin de poner de manifiesto las dificultades de manejo clínico y terapéutico del cáncer gástrico difuso que hasta ahora existían y valorar la aplicabilidad de los nuevos avances proteo-genómicos en la Cirugía de Precisión.

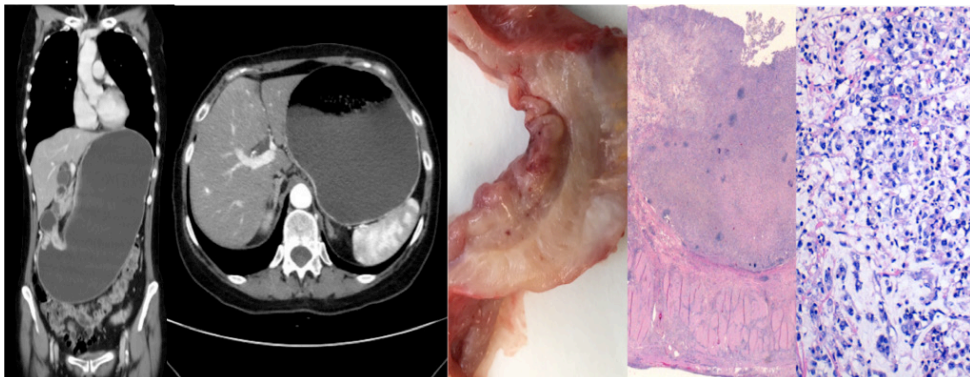
## 1.2.2 SARRERA KLINIKOA

### KASU KLINIKOA URDAILEKO MINBIZI DIFUSOA «LINITIS PLASTIKOA»

*Txileko kirurgilarien aldizkarian argitaratua. Material gehigarrian: Rev Chil Cir 2018;70(4):313-314*

54 urteko emakumea. Sintoma gutxi, botaka egiten zuelako diagnostikatua, eta irudi-frogetan urdaileko distentsio larria OTAn. Gastroskopiak ez zuen tumorerik aurkitu, eta, eko-endoskopia bidez lortutako anatomia patologikorako urdailaren submukosako laginen bidez, zigilu-zelulez osatutako kartzinoma difusoaren infiltrazioa sumatu zen. Ebakuntzan urdail osoaren «linitis plastikoa» ikusi zen, eta gastrektomia osoa egin zitzaion. Emaitza: urdaileko kartzinoma difusoa, T3N2; IIIB. Kimio-erradioterapia jaso ondoren, 23 hilabeteren ostean hil zen peritoneoko kartzinomatosiak jota.

**Irudia/ Imagen 1.1 OTA urdaileko paresia. Linitis plastikoaren irudi makroskopikoa, eta zigilu-zelulen infiltrazio submukosoaren irudi mikroskopikoa.**



1 KASU KLINIKOak sortutako arazoak:

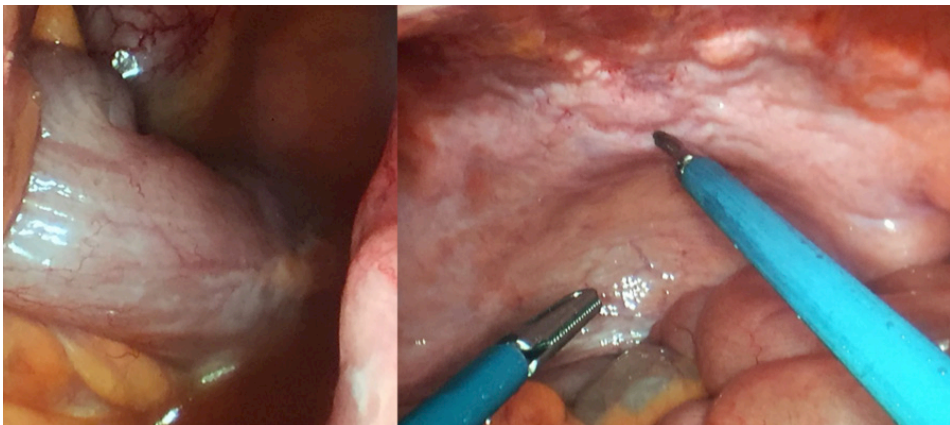
- Emakume gazteetan agertzen da UMD.
- Sintoma gutxi eta ez-espezifikoak sortzen ditu. Gastroparesia.
- rudi-frogak eta gastroskopia normalak dira sarri askotan. Ekoendoskopia behar izaten da eta biopsia anitzak.

### 1.2.2.2 KASU KLINIKOA KARTZINOMA DIFUSOAREN HEDADURA BEREZIA: «BLUMER EZKUTUA»

*Kolonbiako kirurgia-aldizkarian argitaratua. Material gehigarrian: Rev Colomb Cir.2021;36:144-9*

80 urteko emakumea. Aurrekaririk ez. Ondesteko tenesmoa eta beherakoa zituela-eta aztertua. OTAn heste zuzen eta urdaileko handitasunak nabaritu ziren. Gastroskopia bidez txarto ezberdindutako adenokartzinoma diagnostikatu zen (uT3N2), eta kolonoskopia bidez ondesteko estenosis minbizi arrastorik gabe. Ebakuntzan, urdaileko «linitis plastiko» aurkitu zen, metastasirik edota kartzinatosirik gabe. Douglasen zakuan heste zuzenaren estenosis sortzen zuen hantura nabaritu zen. Biopsia anitzak lortu ziren, eta kirurgiaren momentu berean aztertu zituen patologoak minbizi-zantzurik topatu gabe. Gastrektomia osoa eta linfadenektomia egin zitzaizkion, eta baita alboko kolostomia ere. Ez zuen konplikaziorik izan. Anatomia patologiko definitiboak urdaileko adenokartzinoma difusoa adierazi zuen (T4aN3a), hestegorriko marjinen infiltrazio submukosoak eragindako R1 erauzketa, eta Douglasen zakuko laginetan ere minbizi, submukosatik hedatutako zelulek sortua.

**Irudia/ Imagen 1.2: Douglasen zakua serosa azpiko infiltrazioa edo Blummerren ezkutua. Tumorearen zelulen serosa azpiko hedadura, ondestearen aurreko horman.**



2 KASU KLINIKOak sortutako arazoak:

- Estadio aurreratuetan diagnostikatzen da UMD.
- Kartzinomatosi peritoneala sortu ohi du, eta, batzuetan, serosa azpiko hedapena.
- Douglasen zakuaren eta ondestearen infiltrazioa sortu dezake. “Blumerren ezkutua”.
- Kirurgia bidezko biopsiak sarri askotan negatibo faltsuak dira.
- Makroskopikoki normalak diren margen kirurgikoen erasana egon daiteke eta R1 erauzketak.

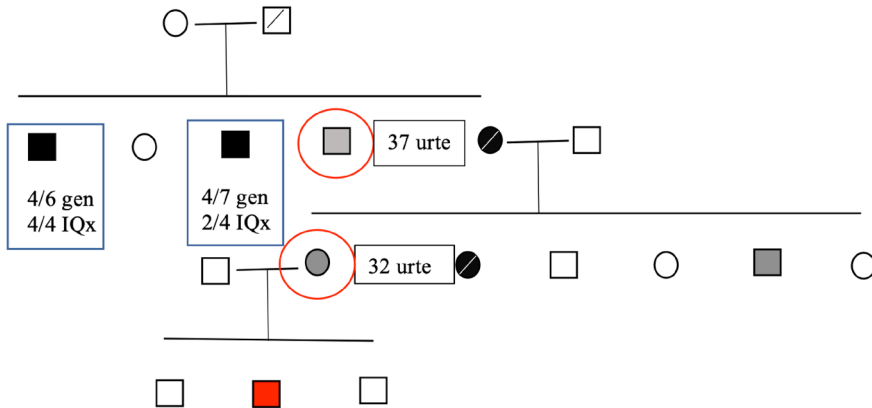
### 1.2.2.3 KASU KLINIKOA URDAILEKO MINBIZI DIFUSO HEREDITARIOA (UMDH)

Aurrekari pertsonal berezirik ez duen 40 urteko emakume baten kasua aurkezten da. Familiako aurrekari gisa, 37 urteko ama hil zen urdaileko minbizi difusoaren ondorioz, eta 32 urteko ahizpa bat, gida-kasu gisa onartu dena, zigilu-eraztun zelula motako urdaileko adenokartzinoma difusoak jota. Bere arrebak CDH1 genearen aldaera batean heterozigosia aurkeztu zuen: c.2195G>A Arg732Gln.

#### **Honi lotutako familia-historia honako hau da**

Zirkulu gorrian 40 urteko emakumea agertzen da 3 kasu klinikoak. Gorriz bere osaba ere, gure zentroan gastrektomia profilaktikoaren bidez operatua. Beltzez, urdaileko minbiziak hildako pazienteak. Grisean, gastrektomia profilaktikoa duten pazienteak. Paziente gorria, mutazioa duen adingabekoa, gastrektomia edo jarraipena egin erabakitzeke zain. Karratu urdinean hildako pazienteen ondorengo guztien mutazioa eta gastrektomia duten kasuen kopurua.

Figura 1.5. Gida kasuaren familia zuhaitza.



Urdaileko minbizi difuso hereditarioa (UMDH) UMDren noizbehinkako agerpenaz bestelako gaixotasuntzat hartzen da. Urdaileko minbizi difusorako joera autosomiko dominantea da. UMDH hasteko batez besteko adina 40 urtetik beherakoa da. 80 urterekin kalkulaturako minbizi gastrikoaren arrisku metatua % 70ekoa da gizonen kasuan eta % 56koa emakumeen kasuan.

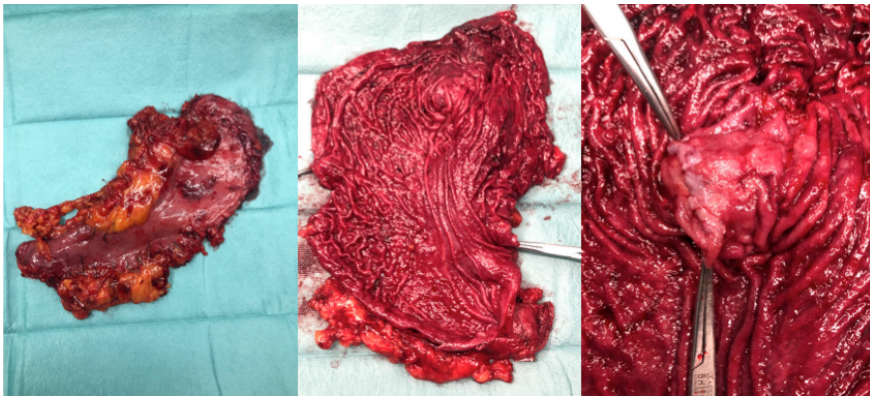
Mutazio-eramaileen identifikazioa, deskribatzen den pazientearen kasuan bezala, garrantzitsua da; izan ere, zigilu-eraztuneko zelulen adenokartzinomaren bereizgarri diren foku mikroskopikoek, oro har, azpimunkosa barne hartzen dute, eta, askotan, ez dira erraz detektatzen endoskopia bidezko baheketaren bidez.

Mutazio zehatza aldaeraren heterozigosia izan zen CDH1 genean: c.2195G>A Arg732Gln). CDH1 genearen 14. exoian dagoen base aldaketa bat da, aminoazido aldaketa bat eragiten duena. Aldaera hori patogenikoa da literatura medikoan, hau da, minbizi gastriko difusoaren arriskua areagotzen du, minbizi gastriko difuso hereditarioaren sindromearekin lotuta. Ahizparengan deskribatutako aldaera 37 urte zitula urdail-minbiziak jota hil zen amarengandik dator.

CDH1 genean aldaera patogenikoa dituzten emakumeek, gainera, bularreko minbizia izateko arrisku handiagoa dute, batez ere minbizi lobularra. Gomendioek kontrol kliniko-endoskopiko gastrikoa barne hartzen dute, gutxienez urtean behin (Cambridgeko protokoloaren arabera). Alternatiba gisa, gastrektomia oso profilaktikoaren aukera aurreikusten da. Bere kasuan, gastrektomia oso profilaktikoa egin zen, Z lerroa barne, endekapen neoplasikoa izan zezakeen ehun gastriko guztia erazteko (**Irudia**). Anatomia patologikoa Lauren kartzinoma gastriko difusoaren eta OMEren zigilu-eraztun

zelulen bi foku (T1a) erakutsi zituen. UMDaren presentzia egiaztatuan ez bezala, zeinean gomendatutako linfadenektomia D2 baita, UMDHrekin lotutako geneak dituzten pazienteengan, gastrektomia profilaktikoarekin D1 linfadenektomia dago gomendatuta, gongoil linfatiko makroskopikorik gabeko kasuetan gongoil positiboak egoteko arriskua % 1 baino txikiagoa baita.

### Irudia/ Imagen 1.3. Gastrektomia osoa.



Bestalde, bularreko kontrol klinikoa eta erradiologikoa egitea gomendatzen da sei hilean behin, 30 urtetik hasita eta gutxienez urtean behin bularreko erresonantzia mamografiarekin txandakatuta. Alternatiba gisa, arriskua murrizteko bularreko kirurgia egiteko aukera ere badago. Gainera, literatura medikoan koloneko minbiziaren arrisku areagotuari buruzko zalantzak ere badaude, baina gida batzuetan odol ezkutuaren testa egiteko aukera aurreikusten da, gehienez bi urtean behin 40 urtetik aurrera, edo kolonoskopiak egiteko aukera, gehienez 5 urtez behin, batez ere, historia familiarra dagoenean.

Bestalde, deskribatutako aldaera heterozgosian doanez, ondorengoek eramaile izateko % 50eko probabilitatea izango dute, eta beraz, adin-nagusitasunean aholkularitza eta azterketa egitea gomendatzen zaie. Gure kasuan, adin nagusiko bi seme-alabetako bat heterozigosiarene eramailea da, eta beraz, gastrektomia profilaktikoa noiz egingo den erabakitzeke dago, ziurrenik 20-30 urte bitartean egingo dena.

3. KASU KLINIKO ak sortutako arazoak:

- Bada UMDaren forma hereditarioa, UMDH izenez ezagutzen dena.
- Kasu horietan, oso ohikoak dira identifikatu gabeko UMDak (T1a).
- Nolabaiteko gomendio-maila dago profilaxi moduan egingo den gastrektomiari osoari buruz.





# 2.

## Hipotesiak Eta Helburuak Hipótesis y Objetivos

2.2 HELBURUAK	59
2.3 HIPÓTESIS	60
2.4 OBJETIVOS	61

## 2. HIPOTESIAK ETA HELBURUAK/ HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 2. HIPOTESIAK ETA HELBURUAK/ HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 2.1 HIPOTESIAK

#### 2.1.1 HIPOTESI KLINIKOAK

- Urdaileko minbizi difusoak ezaugarri biologiko bereziak ditu. Horrek berezitasun kliniko-patologiko konkrituak ematen dizkio tumoreari, eta, urdaileko beste minbiziekin alderatuta, tratamendu mediko eta kirurgikoekiko erantzun ezberdina.
- Orain arte, UMD duten pazienteak tumorearen azpimota kontuan hartu gabe tratatuak izan dira urdailaren erauzketa osoa edo ia-osoa eta linfadenektomia estandarra burutuz, eta horrela emaitzak ez dira egokienak izan.

#### 2.1.2 HIPOTESI ALTERNATIBO ESPERIMENTALA

- Urdaileko minbizi difusoa proteomika teknikak erabilia tumorearen adierazpen proteikoaren arabera sailka daiteke, eta hori oso lagungarri izan daiteke gaixoen tratamendu pertsonalizatua gauzatzeko.

### 2.2 HELBURUAK

#### 2.2.1 HELBURU KLINIKOAK

- Urdaileko minbizi difusoaren eta urdaileko beste tumoreen arteko ezberdintasun klinikoak, patologikoak, eta tratamenduen aurreko erantzuna aztertu, horrela, beren-beregi aukeratutako teknika diagnostiko eta terapeutiko ezberdinak aplikatu ahal izateko.

#### 2.2.2 HELBURU ESPERIMENTALAK

- Urdaileko minbizi difusoaren alterazio proteiko bereizgarriak aztertu, urdaileko

minbizidun lagin kirurgikoetan.

- Proteomikaren ikerketak urdaileko minbizi difusoaren diagnostikoan eta tratamenduaren algoritmoetan daukan aplikagarritasuna ikertu doitasunezko kirurgiaren kontestuan.

## 2.3 HIPÓTESIS:

### 2.3.1 HIPÓTESIS CLÍNICA

- El cáncer gástrico difuso es un tipo de tumor gástrico de características biológicas concretas, lo que conlleva unas características clínico patológicas particulares y una respuesta a los tratamientos quirúrgicos y médicos diferente al resto de cánceres gástricos que plantea problemas en la práctica clínica diaria.
- En la actualidad, los pacientes con CGD son tratados independiente del subtipo tumoral con gastrectomía total o subtotal según la localización del mismo y linfadenectomía estándar, por lo que los resultados no son satisfactorios.

### 2.3.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA EXPERIMENTAL

- La regulación anormal de la función de las proteínas es uno de los factores más destacados de la oncogénesis tumoral. Por metodología proteo-genómica es posible descubrir y cuantificar las proteínas que participan en la carcinogénesis del CGD y correlacionarlas con los datos de cuantificación publicados en las bases de datos.
- Los distintos subtipos CGD, pueden ser clasificados según la cuantificación proteica, lo que puede ser de gran ayuda en el tratamiento individualizado de estos pacientes.
- Por ello, cabe esperar que la extensión de la cirugía del CGD ajustada a los subtipos moleculares, pueda mejorar el pronóstico de estos pacientes.

## **2.4 OBJETIVOS:**

### **2.4.1 OBJETIVOS CLÍNICOS:**

Valorar las diferencias clínicas, patológicas y de respuesta a los tratamientos del cáncer gástrico difuso tratado hasta ahora en nuestro hospital, para así poder aplicar diferentes técnicas diagnósticas y terapéuticas individualizadas.

### **2.4.2 OBJETIVOS EXPERIMENTALES:**

Comprender como se perturba el proteoma del (CGD) como un objetivo de investigación quirúrgica. Determinar en muestras quirúrgicas las alteraciones proteicas diferenciales del cáncer gástrico difuso.

La integración de clínica y proteómica y su aplicación en la cirugía de precisión. Valorar la aplicabilidad del estudio proteómico en el algoritmo diagnóstico-terapéutico.



# 3.

## Materiala eta metodologia Material y metodología

<b>3. MATERIALA ETA METODOLOGIA</b>	<b>65</b>
3.1 Estudio 1: IMPACTO DE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL PRONÓSTICO DEL CÁNCER GÁSTRICO	67
3.2 Estudio 2: VALOR PRONÓSTICO DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN EL H.U.CRUCES	71
3.3 Estudio 3: INNOVACIÓN EN TÉCNICA QUIRÚRGICA: “Gastrectomía 95% totalmente laparoscópica”	73
3.4 Estudio 4: ESTUDIO DE PROTEÓMICA SOBRE PIEZAS QUIRÚRGICAS DE CANCER GÁSTRICO DIFUSO.	74

### 3. MATERIALA ETA METODOLOGIA/ MATERIAL Y METODOLOGÍA



## 3. MATERIALA ETA METODOLOGIA

Tesi-lana gauzatzeko, bi arlotan banatu da ikerketa. Alde batetik, alor klinikoa, bi ikerketa erretrospektiboren bidez gauzatu dena: urdaileko minbizi difusoaren gure inguruko egoera eta tratamendua aztertuz, eta, bestetik, Luxenburgon egindako egonaldian ikasitako teknika kirurgiko berri baten emaitzei buruzko ikerketa prospektiboa. Bestalde, alderdi esperimentalak, UMDaren lagin kirurgikoekin egindako proteomika bidezko ikerketa.

### a) Alde klinikoa

**3.1 ikerketa. Ikerketa epidemiologiko erretrospektiboaren ikusketa analitikoa.** Euskadiko tumoreen erregistroan bildutako gaixoen datuekin gauzatu da. Gurutzetako ospitalean 2005-2014 bitartean tratatutako urdaileko minbizi guztiak aztertu dira. 10 urte horietan urdaileko minbizia izan duten 1.052 pazienteren anatomia patologikoak izan dira aztergai. Kasuen ezaugarri kliniko eta patologikoen eta jasotako tratamenduen ikerketa deskribatzailea gauzatu da.

Lanaren helburu nagusia izan da **Lauren sailkapena eta MOEren sailkapen histopatologikoak** aztertzea, eta baita horiek urdaileko minbiziaren **pronostikoarekin duten erlazioa** ere. Sailkapenetako azpimota bakoitzaren ezaugarri klinikoak deskribatu dira, eta sailkapen biak konparatu. Horrez gain, gaixotasunaren biziraupenaren aldagai bakarreko eta aldagai anitzeko azterketak gauzatu dira.

**3.2. ikerketa. Ikerketa epidemiologiko erretrospektiboaren ikusketa analitikoa.** Gurutzetako ospitaleko Kirurgia Zerbitzuan 2010-2014 urte bitartean operatutako urdaileko minbizien gainean egindako ikerketa-lana. Bost urte horietan osatzeko asmoarekin operatutako 222 kasu izan dira aztergai. Kasuen ezaugarri kliniko eta patologikoen eta jasotako tratamenduen ikerketa deskribatzailea gauzatu da.

Lanaren helburu nagusia izan da pazienteen **ezaugarri klinikoaren eta jasotako tratamenduen** eta minbiziaren **pronostikoaren arteko erlazioa** ikertzea. Urdaileko minbizi difusoari buruzko analisi berezia egin da. Ezaugarri klinikoak deskribatu dira, eta horiek biziraupenarekin duten erlazioa ikertzeko aldagai bakarreko eta aldagai anitzeko azterketak gauzatu dira.

**3.3 ikerketa.** Luxenburgoko Centre Hospitalier Luxembourg-en egindako hiru hilabeteko egonaldian, urdaileko minbizia tratatzeko erabiltzen duten «% 95eko gastrektomia gutziz laparoskopikoa» aztertu da ikerketa prospektibo baten bidez.

#### b) Alde esperimentalak

**3.4 ikerketa.** Urdaileko minbizi difusoa zuten kirurgietan erauzitako urdaileko laginetan egindako proteomika bidezko ikerketa prospektiboa. Laginok kirurgietan erauzi eta tumoreen Euskal Biobankuan metatu ziren, azterketa-unera arte.

#### PAZIENTEAK

Ikerlan honetan, erretrospektiboki aztertu dira Gurutzetako Unibertsitate Ospitalean (EEGurutzeta ESI) 2005eko urtarriletik 2014ko abendura bitartean adenokartzinoma gastrikoa zuten paziente guztien erregistro medikoak.

Aztertutako aldagaiak honako hauek dira: adina (<65 urte edo >65 urte), sexua (emakumeak vs gizonak), tumorearen lokalizazioa gastroskopiaren arabera (goiko herena, gorputza eta antroa), tumorearen histologia Laurenen sailkapenaren arabera (adenokartzinoma intestinala, kartzinoma difusoa eta indeterminatua), tumorearen diferentziazio-maila (ondo diferentziatuak, neurritz diferentziatuak, eta pobreak diferentziatuak edo indiferentziatuak), TNM sailkapenaren T eta N estadioak, NR aldatua edo herenetan banatua, NR logaritmikoa eta, azkenik, linfadenektomiaren etekina (>15 gongoil edo <15 gongoil erauzita). Aldagai kategorikoak maiztasun-taulen eta proportzioen bidez aurkezten dira.

#### ANALISI ESTADISTIKOAK

Lehenik eta behin, laginaren analisi deskriptibo bat gauzatu da. Kaplan-Meier metodoa erabili da biziraupen-kurbak kalkulatzeko eta irudiztatzeko; ondoren, log-rank proba erabili da biziraupenari dagokionez taldeen arteko desberdintasun estatistikoak ebaluatzeko. Biziraupenean zein aldagaik eragiten duten ikusteko, lehendabizi, aldagai bakarreko azterketa egin da; esanguratsuak direla frogatu den horiek aldagai anitzeko analisi batean sartu dira, gerora, Cox-en arrisku proportzionalerako eredua erabiliz, biziraupena iragartzeko faktore independenteak zein diren zehazteko. Aldeak Hazard Ratio-aren (HR) bidez adierazi dira, konfiantza-tartea (CI) % 95ean eta esangura estatistikoaren maila  $p < 0,05$ ean finkatuz. Analisi guztiak R estatistika-programaren bidez egin dira (R 3.6.1 bertsioa: A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>).

#### ALDERDI ETIKOAK

Datuak ospitaleko Kirurgia Orokorraren eta Aparatu Digestiboko Zerbitzuaren datu-base asistentzialetik atera dira. Datu-base horrek EEGurutzeta ESI IKBEren onspena du, eta kasu bakoitzaren kodifikazioaren bidez ziurtatu da pazienteen datuen konfidentzialtasuna. Ikerketaren ezaugarriak eta informazioa modu anonimoan bildu eta tratatu direnez, azterketa egiteko ez da behar izan baimen informatu espezifiko

berririk; izan ere, datu-basean barneratutako pazienteeek onartu zuten beren informazioa irakaskuntzarako eta ikerketarako erabil zitekeela. Ikerketa-munduko Medikuek Elkartearen Helsinkiko Adierazpenaren estandar etikoen arabera egin da azterketa.

Ikerketa erretrospektiboek EEGurutzeta ESI IKBEren onspena dute, eta proteomika bidezko ikerketek Euskadiko IKBEren onspena (4. eranskina: (IKBE E20/14)).

## **3.1 ESTUDIO 1: IMPACTO DE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL PRONÓSTICO DEL CÁNCER GÁSTRICO:**

### **3.1.1 POBLACIÓN EN ESTUDIO**

Se analizaron retrospectivamente los registros médicos de todos los pacientes con adenocarcinoma gástrico confirmado patológicamente entre enero de 2005 y diciembre de 2014 en el Hospital de Cruces OSI EE Cruces. De los 1052 casos diagnosticados se excluyeron los paciente que no recibieron tratamiento con intención curativa, bien por ser tumores metastásicos (348) o por ser pacientes no operables (126).

Se han incluido todos aquellos casos de cáncer gástrico intervenidos con intención curativa durante 10 años, entre enero de 2005 y diciembre de 2014 en el Hospital de Cruces OSI EE Cruces. Los criterios de exclusión han sido la neoadyuvancia previa, la enfermedad metastásica y aquellos casos en los que el fallecimiento se produjo por complicaciones peroperatorias en los 90 primeros días.

Se excluyeron 140 pacientes por presentar anatomía patológica indefinida, subtipo indeterminado o mixto de la clasificación de Lauren, 32 pacientes por presentar enfermedad diseminada intraoperatoriamente (22 carcinomatosis peritoneal, 6 metástasis hepáticas, 4 infiltración retroperitoneal), 15 pacientes por haber recibido tratamiento neoadyuvante y 4 pacientes por causar éxitus como consecuencia de complicaciones perioperatorias. El estudio final involucró a 292 pacientes.

Las características clínicas recopiladas para el análisis posterior incluyeron género, edad al momento del diagnóstico, ubicación del tumor primario, diferenciación, clasificaciones Lauren (tipo difuso o tipo intestinal), clasificaciones de la OMS (tipo intestinal, mucinoso, pobremente cohesivo y de células en anillo de sello), el sistema de clasificación TNM (American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7ª edición) aceptado durante el periodo del estudio, tratamiento adyuvante y supervivencia (Tabla 1.2).

### 3. MATERIALA ETA METODOLOGIA/ MATERIAL Y METODOLOGÍA

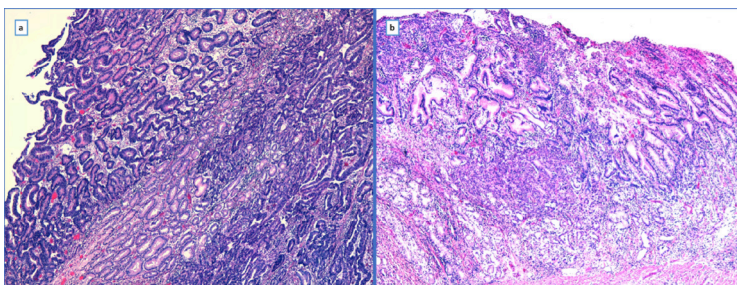
Las muestras de tejido de los tumores resecados fueron clasificadas por un patólogo experimentado de acuerdo con la clasificación de la OMS y el sistema de estadificación TNM siguiendo pautas patológicas generales. La asignación del tipo histológico se basó en los criterios de Lauren. El tipo intestinal se describió como un tumor con arquitectura glandular, parecido al carcinoma de colon; el tipo difuso, como un tumor compuesto por grupos de células solitarias o pequeñas y sin estructuras glandulares. Los tipos mixto e indeterminado se excluyeron.

Se ha aplicado un protocolo estandarizado de tratamiento adyuvante mediante quimioterapia y/o radioterapia postoperatoria. La terapia adyuvante se consideró en pacientes con clasificación T3-T4 y/o compromiso positivo de los ganglios linfáticos. Se han excluido 15 pacientes que recibieron tratamiento neoadyuvante.

#### 3.1.2 CLASIFICACIÓN DE LAUREN

Es el sistema de clasificación mas utilizado hasta la actualidad. Clasifica los tumores entre Intestinales (tubular o papilar) cuando las células tumorales crecen formando estructuras glandulares; y Difusos cuando existe una perdida de adhesión celular y pequeños grupos de células sueltas infiltran el estroma de manera desorganizada<sup>17</sup>. Dentro de este último grupo se incluyen también los carcinomas de células en anillo de sello (SRCC). Si bien fueron descritos como tumor intestinal, los carcinomas Mucinosos pueden ser clasificados como intestinales o difusos dependiendo de si las arquitectura celular sobre la base de moco en la que flotan se agrupa formando estructuras glandulares o lo hace de manera dispersa<sup>18</sup>.

#### Irudia/Imagen 3.1.1: Subtipos histológicos de la clasificación de Lauren:

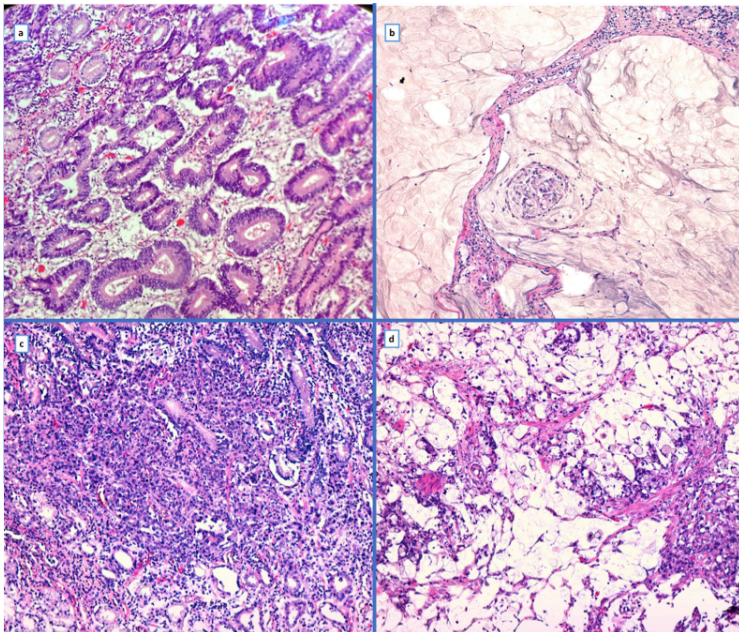


a: Adenocarcinoma intestinal.  
b: Carcinoma difuso.

### 3.1.3 CLASIFICACIÓN DE LA OMS

La OMS publicó en 2010 una clasificación más detallada y actualizada<sup>19</sup>. Se clasifican por un lado los tumores papilares, tubulares, dentro del subtipo intestinal de Lauren y por otro lado el subtipo difuso toma el nombre de pobremente cohesivo, denominándose carcinoma de células en anillo de sello (SRCC) o mucinoso (MC) cuando las células en el primero o las áreas de mucina extracelular en el segundo suponen más de 50% de la muestra tumoral<sup>20</sup>.

#### Irudia/Imagen 3.1.2: Subtipos histológicos de la clasificación de Lauren:



- a: Adenocarcinoma intestinal tubular: Se aprecia el agrupamiento celular formando glándulas.
- b: Carcinoma mucinoso: Se observan los amplios lagos de mucina con escasa celularidad.
- c: Carcinoma pobremente cohesivo: Se aprecian las células con infiltración difusa y arquitectura desorganizada.
- d: Carcinoma de células en anillo de sello. Gran número de células con amplio citoplasma y núcleo desplazado.

### 3.1.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables categóricas se han descrito mediante tablas de frecuencia y porcentajes y las variables continuas mediante la media y la desviación típica o la mediana y el rango dependiendo de las características distribucionales.

### 3. MATERIALA ETA METODOLOGIA/ MATERIAL Y METODOLOGÍA

La comparación entre las variables categóricas y la clasificación histopatológica de Lauren y la de la OMS se ha realizado mediante el test estadístico Chi cuadrado o el test estadístico de Fisher cuando las frecuencias esperadas eran menores a 5.

La comparación de la edad y la clasificación histopatológica de Lauren se ha realizado mediante la prueba estadística t de Student y la edad con la clasificación de la OMS mediante Anova.

Se han calculado las curvas de supervivencia mediante el método Kaplan-Meier y se ha comparado la supervivencia de las diferentes variables con el log-rank test.

Para ver qué variables influyen en la supervivencia primero se ha realizado un análisis de regresión de Cox univariante y aquellas variables con un p-valor  $<0.200$  se han incluido en un análisis de regresión de Cox multivariante y se ha ido eliminando del modelo la variable con el p-valor más alto hasta que todas las variables del modelo han sido significativas ( $p < 0.05$ ). Los resultados han sido expresados mediante Hazard Ratio (HR) y sus intervalos de confianza.

#### 3.1.5 DECLARACIÓN DE ÉTICA

Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito para que su información fuera utilizada con fines de investigación. La aprobación del estudio se obtuvo del comité de ética del hospital (Anexo 4: (código CEIC E20/14) ). El estudio se realizó de acuerdo con los estándares éticos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

Se garantiza el cumplimiento de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 94/46/CE (Reglamento General de Protección de Datos), máxime en lo que concierne al envío y manejo de datos a terceros, por lo que no se utilizará ni hará público ningún dato que pueda identificar a los pacientes.

## **3.2 ESTUDIO 2: VALOR PRONÓSTICO DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN EL H.U.CRUCES**

### **3.2.1 POBLACIÓN EN ESTUDIO**

Se han analizado todos los casos (237) de cáncer gástrico operados con intención curativa durante cinco años (2010 y 2014) en el hospital Universitario de Cruces (OSI EE Cruces, Barakaldo, Bizkaia) con confirmación anatómo-patológica de las muestras. Se ha realizado un estudio descriptivo de los casos y comparado con los casos de cáncer gástrico difuso o pobremente cohesivo resecaados en el mismo periodo de tiempo.

Del análisis de supervivencia se excluyeron 14 pacientes por presentar enfermedad diseminada intraoperatoriamente, 15 pacientes por haber recibido tratamiento neoadyuvante y 9 pacientes por causar éxitus como consecuencia de complicaciones perioperatorias. El estudio final involucró a 199 pacientes.

Las características clínicas recopiladas para el análisis posterior incluyeron género, edad al momento del diagnóstico, ubicación del tumor primario, grado de diferenciación, clasificaciones Lauren (tipo difuso o tipo intestinal), clasificaciones de la OMS (tipo intestinal, mucinoso, pobremente cohesivo y de células en anillo de sello), el sistema de clasificación TNM (American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8ª edición), técnica quirúrgica, tipo de linfadenectomía, número de ganglios positivos y resecaados, margen de resección de bordes quirúrgicos (cm), tratamiento adyuvante, recidiva y supervivencia (Tabla 2.1).

Las muestras de tejido de los tumores resecaados fueron clasificadas por un patólogo experimentado de acuerdo con la clasificación de la OMS y el sistema de estadificación TNM siguiendo pautas patológicas generales.

### **3.2.2 TIPO DE RESECCIÓN TUMORAL Y TRATAMIENTO ADYUVANTE**

El objetivo principal de la cirugía fue lograr la extirpación completa del tumor (resección R0), aunque, en los casos de irresecabilidad o diseminación peritoneal, no se realizó resección o se llevaron a cabo procedimientos paliativos (R2) para tratar las complicaciones relacionadas con el tumor. Estos últimos, 14 casos etiquetados como M1 en su mayoría por diseminación peritoneal, han sido excluidos del análisis de supervivencia. Los márgenes de resección han sido valorados individualmente y clasificados según su distancia hasta el tumor como < de 1 cm o positivo, 1-3 cm o >3 cm.

Se ha aplicado un protocolo estandarizado de tratamiento adyuvante mediante quimioterapia y/o radioterapia postoperatoria. La terapia adyuvante se consideró en

pacientes con clasificación T3-T4 y/o compromiso positivo de los ganglios linfáticos. Se han excluido 15 pacientes que recibieron tratamiento neoadyuvante.

#### 3.2.3 CLASIFICACIÓN POR ESTADIOS Y GANGLIOS LINFÁTICOS

Los tumores se clasificaron según la clasificación patológica pTNM (8º edición) del American Joint Committee on Cancer (AJCC). Se han realizado linfadenectomías tanto D1 como D2 con objetivo de conseguir una extirpación linfática mayor de 15 ganglios. Han sido utilizados y comparados entre sí tres sistemas de evaluación de la carga tumoral ganglionar: Número de ganglios afectados (N), Ratio nodal (rN) y el sistema logarítmico LODDS (logaritmo del de los ganglios positivos entre los ganglios negativos analizados).

#### 3.2.4 ANÁLISIS DE DATOS

Las variables categóricas se han descrito mediante tablas de frecuencia y porcentajes y las variables continuas mediante la media y la desviación típica, en caso de seguir una distribución normal o la mediana y el rango intercuartil en caso contrario. La comparación entre las variables categóricas se ha realizado mediante el test de Ji-cuadrado o el test de Fisher cuando las frecuencias esperadas eran menores a 5. Para las variables continuas se ha usado un t-test si siguen una distribución normal o el test U de Mann-Whitney en caso contrario.

Las curvas de supervivencia se estimaron utilizando el método de Kaplan-Meier y se compararon mediante la prueba de log-rank, con el tiempo de supervivencia medido desde la fecha de diagnóstico por imagen o muestra de biopsia hasta la fecha del éxito o de último seguimiento. Para ver qué variables influyen en la supervivencia se ha realizado un análisis de regresión de Cox univariante y aquellas variables con un p-valor <0.200 se han incluido en un análisis de regresión de Cox multivariante. Se han eliminado aquellas variables que perdían la significación estadística ( $p > 0.05$ ) hasta quedarnos con el modelo que se presenta en resultados. Los resultados han sido expresados mediante Hazard Ratio (HR) y su intervalos de confianza al 95%.

Todos los análisis fueron realizados mediante el programa estadístico R (versión 3.6.1): A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

#### 3.2.5 COMITÉ DE ÉTICA

Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito para que su información fuera utilizada con fines de investigación. Se obtuvo la aprobación del comité de ética del hospital para la realización del estudio (Anexo 4: (código CEIC E20/14) ). El estudio se realizó de acuerdo con los estándares éticos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.



Se garantiza el cumplimiento de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 94/46/CE (Reglamento General de Protección de Datos), máxime en lo que concierne al envío y manejo de datos a terceros, por lo que no se utilizará ni hará público ningún dato que pueda identificar a los pacientes.

### **3.3 ESTUDIO 3: INNOVACIÓN EN TÉCNICA QUIRÚRGICA: “GASTRECTOMÍA 95% TOTALMENTE LAPAROSCÓPICA”**

Se ha llevado a cabo un estudio prospectivo observacional en pacientes con gastrectomía 95% laparoscópica realizada en 2 centros, Hospital CHL en Luxemburgo y Galdakao Ospitalea en Bizkaia, entre el 1 de enero de 2014 y el 31 de diciembre de 2017. Han sido incluidos todos los pacientes con cáncer gástrico (cT1–4 N0–3M0) localizado en antro o cuerpo gástrico, en los cuales se ha propuesto realizar una gastrectomía curativa mediante cirugía laparoscópica con objetivo R0. Los pacientes con tumores que infiltran la unión esofagogástrica, menores de 18 años o que hayan recibido una cirugía paliativa han sido excluidos. Todos los pacientes han sido intervenidos por los mismos 3 cirujanos.

#### **3.3.1 OBJETIVOS**

El objetivo principal ha sido la detección de complicaciones (Clavien Dindo), centrándose en la fuga anastomótica como la principal. El objetivo secundario fue la calidad de la cirugía oncológica, considerando como tal la indemnidad microscópica de los márgenes de resección (longitudinal y radial), el número de ganglios resecados y la recidiva local precoz. Se recogieron todas las complicaciones ocurridas en los primeros 60 días posoperatorios, así como los resultados de anatomía patológica, incluyendo el número de ganglios linfáticos resecados y afectos, la diferenciación tumoral, el tipo de la clasificación de Lauren y el estadio pTNM.

#### **3.3.2 ESTADIFICACIÓN TUMORAL**

Basándose en las guías clínicas internacionales, los pacientes en los que se sospechó cáncer gástrico fueron estudiados mediante gastroscopia y TAC toracoabdominal. Se realizó una ecoendoscopia en los pacientes en los que se sospechó infiltración de la unión esofagogástrica o de otros órganos vecinos. En tumores avanzados T3-4/N+ se realizó tratamiento neoadyuvante mediante quimioterapia.

#### 3.3.3 TRATAMIENTO

Todos los pacientes operables (cT1-4 N0-3M0) se incluyeron para gastrectomía totalmente laparoscópica con intención curativa. Todos los pacientes con enfermedad superior a cT1N0 recibieron quimioterapia preoperatoria mediante 4 ciclos de 5-fluorouracilo, oxiloplatino y taxotere, salvo que la condición del paciente o condiciones del tumor lo desaconsejaran por obstrucción o sangrado.

#### 3.3.4 TÉCNICA QUIRÚRGICA

A las 4-6 semanas tras el tratamiento neoadyuvante, a los pacientes se les realizó una gastrectomía casi total 95% totalmente laparoscópica y una linfadenectomía D2. Tras la resección se realizó una reconstrucción en Y de Roux. En los primeros 20 casos se realizó omentectomía total que fue analizada de manera independiente, en las que no se encontró ningún ganglio linfático ni implante tumoral en el epiplón mayor. En los siguientes casos se realizó omentectomía parcial, comenzando la resección 4 cm distal a los vasos gastroepiploicos.

#### 3.3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Al tratarse de una cohorte observacional, se ha realizado un análisis descriptivo de los datos, recogidos prospectivamente en bases de datos de Microsoft Excel y analizados mediante SPSS1 versión 22.0.

## 3.4 ESTUDIO 4: ESTUDIO DE PROTEÓMICA SOBRE PIEZAS QUIRÚRGICAS DE CANCER GÁSTRICO DIFUSO.

#### 3.4.1 PACIENTES. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

237 casos de cáncer gástrico han sido sometidos a gastrectomía en el Hospital Universitario Cruces (OSI EE, Barakaldo) entre enero de 2010 y diciembre de 2014. 23 casos fueron depositados en el Biobanco vasco del hospital, de los cuales 10 fueron muestras de cáncer gástrico difuso.

#### 3.4.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN

Como criterios de inclusión, son pacientes con diagnóstico anatómico-patológico de adenocarcinoma gástrico difuso. Son criterios de exclusión todos aquellos pacientes

que no estuvieran dispuesto a firmar o dar el consentimiento informado, carcinomas metastásicos derivados de otros órganos y pacientes con lesiones de difícil visualización o diagnóstico.

### **3.4.3 TAMAÑO MUESTRAL PARA EL ESTUDIO PILOTO DE CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS**

La muestra está configurada por tres pacientes, dos hombres y una mujer. La edad de estos pacientes fue de 67, 86 y 73 años. El seguimiento de estos pacientes fue hasta su fallecimiento, dos en el año 2014 y uno en 2018.

### **3.4.4 DATOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICO-PATOLÓGICOS Y DE TRATAMIENTO**

Los datos demográficos y clínico-patológicos de los tres pacientes seleccionados se pueden visualizar en las en el **Anexo 7**, mostrados a continuación.

### **3.4.5 METODOLOGÍA DE LA RECOGIDA DE LAS MUESTRAS**

El estómago extraído en fresco tras su extirpación fue transportado al laboratorio de anatomía-patológica del hospital, donde tras ser examinado y disecada por el patólogo, se obtiene una muestra de tumor y otra de tejido sano peri-tumoral, con unos márgenes de resección a 5 cm del tumor. Las piezas se fijan en formol e incluyen en parafina para su correspondiente análisis patológico.

### **3.4.6 BIOBANCO**

El tejido sano y tumoral enviado por el patólogo se incluye en OCT (Optimal Cutting Temperature) para su conservación a  $-80^{\circ}\text{C}$  en el Biobanco. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de investigación médica del hospital (**Anexo 11**). Recopilamos el consentimiento informado por escrito de todos los pacientes participantes.

Este trabajo se ha llevado a cabo mediante la colaboración de los Servicios de Cirugía General del Hospital Universitario de Cruces, Instituto de Investigación Sanitaria BioCruces (Área de Cirugía Computacional), el Servicio de Proteómica SGIKER de la UPV/EHU (miembro de ProteoRed-ISCI) y del Grupo de Dinámica de Flujos Ambientales del Instituto CEAMA de la Universidad de Granada.

### **3.4.7 FLUJO DE TRABAJO DESARROLLADO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN PROTEOMICA**

En este estudio piloto tres muestras de pacientes con CGD han sido seleccionadas para el análisis proteómico. Del biobanco del hospital las piezas son enviadas en

condiciones adecuadas de conservación al servicio de proteómica–SGIKER UPV/EHU.

Se crea una base de datos para integrar los datos clínicos anonimizados de los pacientes procedentes del Osabide Global y los datos de proteómica correspondientes a las muestras de tejido sano y tumoral de cada paciente (**Excel\_proteómica**). La información de los datos de los cocientes de cuantificación de los diferentes péptidos tumor /sano (T/S) analizados junto con los datos clínicos es remitida vía informática al Grupo de Dinámica de Flujos Ambientales de la Universidad de Granada, para el análisis de los datos. Finalmente, se le explican los resultados de la investigación al paciente.

#### **3.4.8 ANÁLISIS PROTEÓMICO DE ABAJO A ARRIBA EN SENTIDO ASCENDENTE**

La estrategia de experimentación típica para la proteómica basada en espectrometría de masas se divide en dos categorías según el tamaño de la proteína analizada. De abajo a arriba o de arriba a abajo. En el enfoque ascendente las muestras de proteínas se digieren primero proteolíticamente en péptidos, antes de analizarlas en el espectrómetro de masas; mientras que la proteómica de arriba hacia abajo las proteínas intactas se analizan directamente en el espectrómetro de masa.

##### **Extracción de proteínas a partir de tejido.**

Se procede a limpiar y retirar el OCT de la muestra, a la homogeneización y a la digestión trípica. Los tejidos gástricos con adenocarcinoma se homogenizan en el homogeneizador Precellys®24 (Bertin Technologies) en la solución de lisis SDT (SDS 4% y DTT 0,1 M en Tris-HCl 0,1 M pH 7,6) con la ayuda de bolitas de zirconia/sílice (BioSpec). Se realiza una homogeneización sónica, calienta a 95 °C, centrifuga y el sobrenadante se transfiere a tubos Eppendorf para su almacenaje a -80 °C. Los tubos Eppendorf son etiquetados con el nº asignado a los pacientes y el tipo de muestra de la que se trata T/S.

##### **Determinación de proteínas totales.**

La cantidad de proteína de los homogeneizados se determinó mediante el kit BCA™ Protein Assay Kit – Reducing Agent Compatible (Thermo Scientific) y se calculó la concentración proteica de cada muestra. Medimos a continuación la densidad óptica a una longitud de onda de 562 nm en el espectrofotómetro y calculado la concentración proteica de cada muestra.

##### **Digestión de proteínas.**

Las proteínas se digieren con tripsina siguiendo el protocolo FASP descrito por Wisniewski y cols<sup>21</sup>.

Alicuotas de los homogenizados (100 µg) se mezclaron con el tampón UA (8 M urea en Tris/HCl 0,1 M, pH 8,5) y se concentró en filtros Amicon Ultra-0.5 Centrifugal Filter Unit con Ultracel-30 membrane (Millipore). Para eliminar el detergente (este paso se repitió varias veces) y posteriormente las muestras se alquilaron con Iodoacetamida. Finalmente, se añadió la tripsina (Roche) en una proporción de proteína/enzima de 100:1. Las muestras se incuban a 37 °C durante 16 horas y los péptidos se recogen mediante centrifugación. Los filtrados resultantes se desalaron mediante la utilización de columnas C-18 Micro SpinColumn™ (Harvard Apparatus).

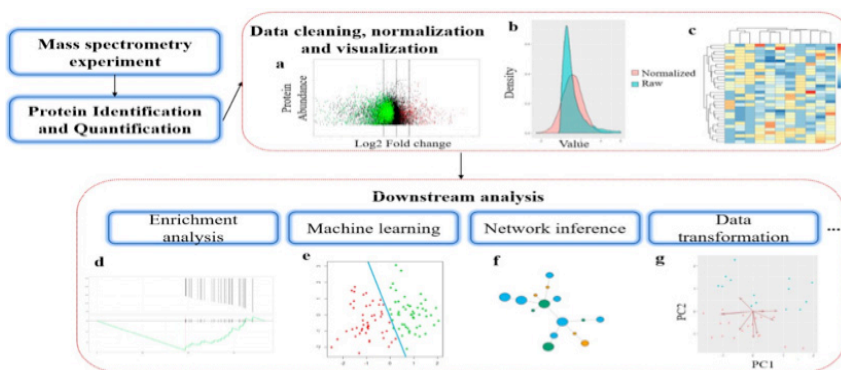
### 3.4.9 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PROTEÍNAS Y PÉPTIDOS

Las proteínas a monitorizar en este estudio han seguido dos criterios:

1. Proteínas con probada participación en la carcinogénesis en general y/o como dianas terapéuticas .
2. Péptidos que identifiquen específicamente a las proteínas seleccionadas y que hayan sido detectados por espectrometría de masas en el Servicio de Proteómica de la UPV/EHU (**Material suplementario: Excel\_proteómica (X1)**).

### 3.4.10 ANÁLISIS PROTEÓMICO BASADO EN CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Figura 3.4.1: Esquema del análisis y exposición estandarizada de resultados de proteómica<sup>22</sup>.



#### **Cromatografía líquida y espectrometría de masas**

Para el análisis de los péptidos por espectrometría de masas se han utilizado dos equipos diferentes y 3 modos de adquisición dependiendo de los objetivos del análisis.

Modo de adquisición:

- a) NanoAcquity (Waters) SYNAPT HDMS (Waters) MSE
- b) EASY nLC-1000 (Thermo Scientific) Q EXactive (Thermo Scientific) DDA
- c) EASY nLC-1000 (Thermo Scientific) Q EXactive (Thermo Scientific) Targeted-MS2

#### **a) NanoAcquity-SYNAPT HDMS (Waters)**

Los péptidos digeridos se cargaron en una precolumna Symmetry 300 C18 (Waters) conectada a una columna analítica BEH130 C18 (Waters). Los péptidos se eluyeron directamente al nanoemitter mediante un gradiente lineal de 3% a 40% de acetonitrilo en 0.1% de ácido fórmico durante 120 min y a un flujo de 300 nl/min.

Los espectros de masas se adquirieron usando el modo de adquisición independiente de datos (MSE-Data Independent Acquisition)<sup>23</sup>.

Brevemente, se realizaron adquisiciones de masa alternas de 1 s a baja (6 eV) y alta (12-35 eV) energía de colisión y el “offset” de radio frecuencia (RF) se ajustó de modo que los espectros se adquirieron en un rango de m/z de 350 a 1990. Los espectros se analizaron manualmente con el programa MassLynx 4.1 (Waters).

#### **b) EASY nLC100-Q Exactive (Thermo Scientific)**

Hemos realizado el análisis LC-MS/MS en un espectrómetro de masas Q Exactive (operado en modo “data dependent acquisition (DDA)” o “parallel reaction monitoring (PRM)”) acoplado a un sistema cromatográfico Easy-nLC 1000 nanoUPLC System.

Los péptidos digeridos se cargaron en una precolumna Acclaim PepMap100 (Thermo Scientific) conectada a una columna analítica Acclaim PepMap RSLC (Thermo Scientific). Los péptidos se eluyeron directamente al nanoES Emitter (Thermo Scientific) mediante un gradiente lineal de 5% a 30% de acetonitrilo en 0.1% de ácido fórmico durante 90 o 240 min y a un flujo de 300 nl/min.

Para el análisis DDA el Q Exactive se ha operado en modo Full MS/dd-MS2 (Top15).

Los espectros MS se adquirieron a una resolución de 70000 ( $m/z$  200) y los espectros de fragmentación a 17500 ( $m/z$  200). Para la selección de los péptidos hemos utilizado una ventana de 2.0 th y para la fragmentación de los péptidos hemos aplicado una energía de colisión normalizada de 28. El tiempo máximo de inyección fue de 120 ms para las adquisiciones MS y MS/MS y se utilizaron valores de AGC de  $3e6$  para las adquisiciones MS y de  $5e5$  para las MS/MS.

Los espectros fueron procesados con Proteome Discoverer 1.3 (Thermo Scientific).

Hemos seleccionado 10 ppm y 0.05 Da como tolerancia para los precursores y fragmentos respectivamente y se permitió un máximo de 1 omisión de corte para la tripsina. Hemos seleccionado la carbamidometilación de cisteínas como modificación fija y la oxidación de metioninas como modificación variable y hemos utilizado una base de datos SwissProt humana (versión 2013\_05). Se permitió una tasa de falsos positivos máxima del 1%.

Los resultados obtenidos los hemos exportado a Microsoft Office Excel (Microsoft) para su posterior análisis. Para el análisis funcional de las proteínas identificadas se ha utilizado el programa STRAP (Software Tool for Rapid Annotation of Proteins)<sup>24</sup>.

Se ha obtenido información de function, catalytic activity, GO-Biological Process, GO-cellular component, GO-Molecular Function.

Para el análisis PRM el Q Exactive se ha operado en modo “Targeted-MS2”. Para la selección de los péptidos hemos utilizado una ventana de 2.0 th y para la fragmentación de los péptidos hemos aplicado una energía de colisión normalizada de 28. El tiempo máximo de inyección fue de 500 ms y hemos utilizado un valor de AGC de  $5e5$ . Los espectros se adquirieron a una resolución de 17500 ( $m/z$  200).

Los espectros fueron procesados con Proteome Discoverer 1.4 (Thermo Scientific) para la identificación de los péptidos seleccionados. Hemos seleccionado 10 ppm y 0.05 Da como tolerancia para los precursores y fragmentos respectivamente y hemos permitido un máximo de 1 omisión de corte para la tripsina. Hemos seleccionado la carbamidometilación de cisteínas como modificación fija, la oxidación de metioninas y el marcaje isotópico pesado como modificaciones variables y también hemos utilizado una base de datos SwissProt humana (versión 2013\_05).

Para la cuantificación relativa de los péptidos hemos utilizado el programa Skyline v 2<sup>25</sup>.

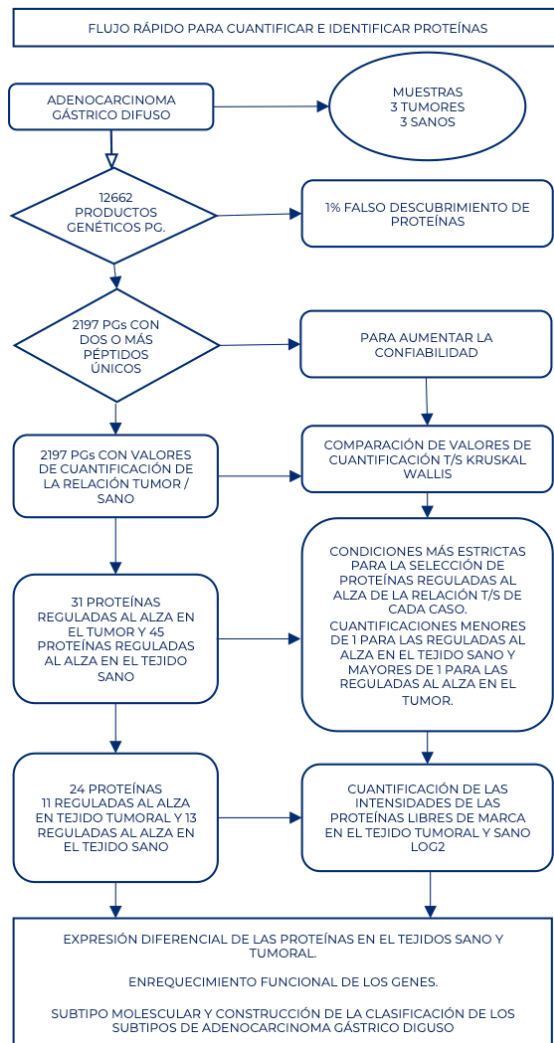
Todos los picos integrados han sido inspeccionados de forma manual para verificar su correcta asignación y los valores totales del área del pico han sido exportados a Microsoft Office Excel (Microsoft) para su posterior análisis. En todos los casos se han calculado los cocientes T/S para cada péptido individuo. Estos valores se han utilizado

para la comparación de la cuantificación entre individuos.

### 3.4.11 FILTROS UTILIZADOS PARA LA PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS PROTEÓMICO

Empleamos un flujo de trabajo de espectrometría de masas (MS) rápida para el perfil de proteomas (fast-seq)<sup>26</sup>.

Figura 3.4.2: Diagrama de flujo para identificar y cuantificar proteínas.

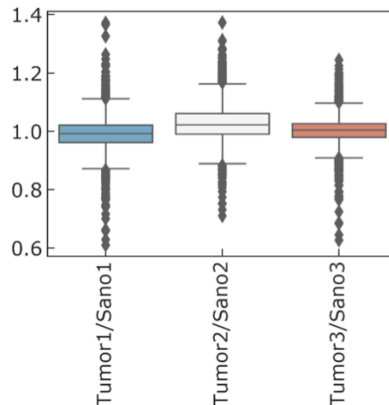




Un total de 6 muestras con adenocarcinoma gástrico difuso (3 tumores y 3 sanos de tejidos cercanos) han sido analizadas. Se han identificados un total de 12.552 productos génicos (PGs) que son identificados y cuantificados por proteómica del descubrimiento (X\_1).

1. De los 12.552 PGs identificados, debe haber una tasa global del 1% con falso descubrimiento de proteínas (FDR).
2. Para aumentar la confiabilidad, se ha requerido que los PGs identificados tengan dos o más péptidos únicos. Como resultado se han identificado 2.197 PGs únicos de alta confianza, expresados diferencialmente entre los tumores y el tejido sano cercano, (X\_2).
3. Los valores de cuantificación de la relación tejido tumoral /tejido sano de estos 2.197 PGs, se han comparado con la prueba Kruskal Wallis, siendo la relación entre los tres casos significativa ( $p < 0,01$ ), lo que indica una buena reproducibilidad, (X\_2).

**Figura 3.4.3 Adenocarcinoma gástrico casos 1, 2 ,3, relación de los valores de cuantificación proteínas de la relación tejido tumoral/sano**



4. Se han establecido unas condiciones más estrictas para definir las proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral con CGD y a alza en el sano. Los valores de cuantificación de la relación T/S de cada caso deben ser menor de 1 para las proteínas reguladas al alza en el tejido sano y mayor de 1 para las reguladas al alza en el tumor. Las proteínas reguladas al alza de la relación tejido T/S han sido 31, mientras que las reguladas al alza en el tejido sano han sido 45 (X\_3). La distribución de las mismas, se muestran en el capítulo de resultado.

5. MaxLFQ. Es una cuantificación que se realiza con péptidos únicos incluidas las modificaciones por acetilación, oxidación y desaminación. Los péptidos que están presentes en varias muestras, que no se identifican mediante espectrometría de masas MS/MS, aún pueden identificarse mediante el emparejamiento entre experimentos. La búsqueda en la base de dato canónica humana se realiza en Uniprot Swiss. MaxQuant informa de la intensidad para cada proteína y emplea el algoritmo MAX-LFQ para la cuantificación sin etiqueta Excel hoja.

Se ha analizado la cuantificación de las intensidades de las proteínas libres de etiqueta en el tejido tumoral y sano de los tres casos analizados, calculando su LOG2. Posteriormente, con este resultado se ha calculado la cuantificación de la relación del tejido tumoral y sano. Se identifican 21 proteínas reguladas diferencialmente, 10 reguladas al alza en el tejido tumoral y 11 reguladas al alza en el tejido sano (X\_4).

Con los datos clínicos y proteomicos se buscan coincidencias con los subtipos moleculares de CGD previamente establecidos.

#### **3.4.12 SISTEMAS BIOINFORMÁTICOS UTILIZADOS. BASES DE DATOS INTEGRADOS DE RECURSOS GENÓMICOS Y PROTEÓMICOS.**

Las bases de datos integradas de recursos genómicos y proteomicos utilizadas incluyen:

1. La base de conocimientos UniProt es un recurso de secuencias de proteínas con sus referencias detalladas<sup>27</sup>.
2. Gene Ontology proporciona conocimiento estructurado y computable sobre las funciones de los genes y los productos genéticos<sup>28</sup>.
3. La base de conocimiento Reactome (<https://reactome.org>) proporciona detalles moleculares de la transducción de señales, transporte, replicación del ADN, metabolismo y otros procesos celulares como una red ordenada de transformaciones moleculares<sup>29</sup>.
4. Además, para el análisis de enriquecimiento funcional se ha utilizado el software FunRich<sup>30</sup>. Incluye el análisis de las funciones moleculares de diferentes productos genéticos, como catálisis o transporte, de componentes celulares y ubicaciones relativas a las estructuras celulares y de procesos biológicos como la reparación del DNA y la transducción de genes.
5. El software Instant Clue<sup>31</sup> permite analizar visualmente los datos cuantitativos proteómicos y genómicos y obtener información sobre los procesos biológicos

en el cáncer gástrico difuso.

6. Los datos de cuantificación proteomica en cáncer gástrico difuso utilizados para la comparación con los datos propios proceden de Ge et al<sup>32</sup>. Los datos de fosfoproteomica en cáncer gástrico difuso proceden de Tong et al<sup>33</sup>.



# 4.

## **Emaitzak** Resultados

<b>4. EMAITZAK</b>	<b>87</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>93</b>

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

## 4. EMAITZAK

### 4.11 IKERKETA. ANATOMIA PATOLOGIKOAREN ERAGINA URDAILEKO MINBIZIAREN PRONOSTIKOAN

*Espainiako digestio-aparatuaren aldizkarian argitaratua 2021ean. Material gehigarrian: Rev Esp Enferm Dig. 2020 Nov 24. doi: 10.17235/reed.2020.7184/2020.*

1.052 urdaileko minbizi kasu diagnostikatu ziren hamar urteetan; horietatik heren batek (348 kasu, % 33) M1 gaixotasun metastasikoa zuen. 578 (% 52) gaixo operatu ziren, eta horietako 95 (% 9) kasuren tumoreak ezin izan ziren erauzi. Erauzitako 468 (% 44) tumoreetatik 328 (% 70) Laurenen eta MOEren sailkapen anatomo-patologikoen bidez sailkatu ziren.

Esklusio-irizpideak aplikatu ostean, 292 paziente aztertu dira, 193 gizon (% 66,1) eta 99 emakume (% 33,9), batez beste 67 urteko adina dutenak (35-92). **4.1.3 taulan** adierazten dira ezaugarri kliniko-patologikoak eta biziraupena, Laurenen eta MOEren sailkapenen arabera. Batez beste 2 urte eta 4 hilabeteko jarraipena izanda (4 hilabete -10 urte), 157 gaixo (% 54) hil ziren gaixotasunak jota.

#### **Laurenen eta MOEren sailkapenen arteko ezberdintasunak**

Laurenen sailkapenaren arabera, 177 (% 60,6) pazienteek urdaileko minbizi intestinala (UMI) pairatu dute, eta 115ek (% 39,4) urdaileko minbizi difusoa (UMD). MOEren sailkapenari dagokionez, 158 (% 54,1) papilar edo tubular moduan sailkatu ziren (intestinalak), 86 (% 29,4) kohesiorik gabeko urdaileko minbizi moduan (KGM), 29 (% 10) zigilu-eraztun moduko zelulez osatutako urdaileko minbizi moduan (ZEZM) eta 19 (% 6,5) kartzinoma mukitsu moduan (KM).

Laurenen sailkapenak hobeto sailkatzen ditu pazienteak sexuaren arabera; emakume gehiago sailkatzen ditu UMDaren taldean UMIarenean baino (% 41,7 vs % 28,8). Sailkapen biek adierazten dute ondo UMD duten gaixoak gazteagoak direla UMI pairatzen dutenak baino (62 urte vs 70 urte).

Urdailean agertzen dira UMD kasu gehienak, batez ere ZEZM dutenak (% 82,8). UMDen % 7,8 linitis plastiko bezala agertu ziren (LP); UMDen % 98,3, berriz, gutxi desberdindutako edo desberdindu gabeko legez. MOEren sailkapenari dagokionez, gauza bera gertatu zen

ZEZMen % 100arekin, KGMen % 97,7arekin eta KMen % 73,7arekin.

Lokalki garatutako tumore (>T3/N+) moduan agertu ziren UMD gehienak (% 80,9), eta, bereziki, ZEzMak (% 86,2). UMDen artean, >T3 (% 65,2). Erasan linfatikoari dagokionez, UMD gehienak N+ (% 81,7) izan dira. ZEZMen % 89,7k izan du erasan linfatikoa, tumore-karga handiarekin, (N1: % 10,3; N2: % 24,1; N3: % 55,2). Hortaz, UMD gehienak (% 53,1) III. estadioan sailkatu ziren, batez ere ZEzMak (% 65,5).

Horren guztiaren ondorioz, UMDen % 64,3k tratamendu adjubantea edo gehigarria jaso zuten, gehienek (% 78) kimio-erradioterapia bidez, McDonald eskema jarraituz.

### **Biziraupen globalaren ikerketa**

Biziraupen globalaren analisia egiteko, aldagai bakarreko eta aldagai anitzeko ikerketak (**4.1.4 taula**) gauzatu dira. Aldagai bakarrekoetan, Laurenen sailkapeneko UMDaren biziraupen-tasa hobea nabari da UMDarekiko (HR: 1,405 (1,024-1,927)) (**4.1.2a. figura**). MOEren sailkapenari dagokionez (**4.1.2b. figura**) KMen pronostiko hobea nabarmendu da (HR: 0,378 (0,164-0,868)), eta ezin izan da baieztatu ZEZMen pronostiko okerragoa (HR: 1,354 (0,792-2,314)).

Hala ere, aldagai anitzeko ikerketan, ezin izan da UMDaren pronostiko okerragoa baieztatu. Ikerketa honetan, pronostiko txarreko faktore gisa agertu dira gizona izatea, infiltrazio lokala (T), erasan linfatikoa (N) eta tratamendu adjubantea ez jasotzea.

## **4.2 2 IKERKETA. DIAGNOSTIKOA ETA TRATAMENDUAREN ERAGINA URDAILEKO MINBIZIAREN PRONOSTIKOAN**

*Cirugía y Cirujanos aldizkarian 2021ean onartua argitaratzeke. Material gehigarrian.*

Bigarren ikerketan, 2010-2014 urte-bitartean Gurutzetako ospitalean (ESI EE Cruces) operatutako 222 urdaileko minbizi kasu aztertu dira. 14 kasu baztertu dira kirurgiaren momentuan metastasiak M1 izateagatik, eta 9 kasu operatu osteko lehen 4 hilabeteetan hil zirelako. Guztira 199 kasu ikertu dira; horietatik 134 gizonetzko (% 67,3) eta 65 emakumezko (% 32,7), batez besteko adina 68,2 (11,8) urte izanik. **4.2.1 eta 4.2.2 taulak**.

82 kasu (% 41,2) UMI eta 62 (% 31,2) UMD aurkitu ziren; gainontzeko 55 kasuak (% 27,6) zehaztugabeak edo mistoak. MOEren sailkapenari dagokionez, 72 kasu (% 37,5) papilar edo tubular (UMI), 72 (% 29,4) GKM, eta horietatik 29 (% 15,1) ZEZM eta 10 (% 5,2) KM.



UMDen kasuan, emakumezkoak gehiago ziren (% 40,3), eta adinez gazteagoak; batez beste, 63,5 urte (12,7).

#### 4.2.1 LINITIS PLASTICA (LP)

Erauzitako 199 kasuetatik 62 (% 32,8) UMDak izan ziren, eta horietako 13 (% 6,5) «linitis plastiko» (LP) moduan agertu ziren. LP kasuen erauzketen herena R1tzat hartu zen, erauzketa-marjinen infiltrazioa baieztatu baitzen. LP kasu guztiek urdaileko horma osoaren infiltrazioa zuten (T3/T4), eta gongoil linfatikoen tumore-karga altua (N0: % 7,69 vs % 30,1 eta N3: % 71,6 vs % 23,5).

LP kasuen biziraupen globala, batez beste, 12 hilabetekoa izan zen (% 95 KI 1-54); 14 hilabetekoa erauzitako tumoreetan (16,8 hilabete R0 kasuetan) eta 3 hilabetekoa erauzi gabekoetan. Bai aldagai bakarreko ikerketan, kaplan meier taulek adierazten duten moduan, eta bai aldagai anitzeko ikerketan, LP pronostiko txarreko faktore gisa agertu da biziraupen globalarekiko, HR 3,26 (1,58-6,72). UMDen talde barruan ere pronostiko txarreko faktorea da LP: HR 2,97 (1,49; 5,94).

#### 4.2.2 ESTADIAJEA

Tumore gehienak garatutako minbiziak izan dira, TNM 8. edizioaren arabera (% 45,2 III. estadioa), batez ere UMD kasuak (% 66 III. estadioa).

Infiltrazio lokala (T), margen kirurgikoak eta urdailaren erauzketaren teknika

UMD kasuen % 72,6 urdaileko horman garatutako tumoreak (T3/T4) dira. Erauzketa-marjinak % 17,7 kasutan positiboak dira UMDan, eta, beraz, % 83,1ean baino ezin izan da R0 erauzketatzat hartu.

Infiltrazio lokala pronostiko txarreko faktore moduan agertu da aldagai bakarreko ikerketan: T3ren HR-a 3,74 (KI % 95: 1,71-8,17) eta T4rena 7,93 (KI % 95: 3,49-18). Aldagai anitzeko ikerketak pronostiko txarreko faktore gisa sailkatu ditu R1-2 erauzketak, HR-a 3,63 (KI % 95: 1,92-6,81).

UMDek sarriago behar izan dute gastrektomia osoa, % 34,7an. Gainera, gastrektomia osoen % 43,6k bakarrik izan dute 1 cm baino marjina txikiagoa tumoreraino. Biziraupen globaleko aldagai bakarreko ikerketan, 1 cm baino marjina txikiagoa pronostiko txarreko faktore bezala agertu da.

#### *Linfadenektomia*

UMD kasuak urdaileko beste tumoreek baino gongoil linfatikoetako tumore-

karga handiagoa dute (p: 0,001). (N0: % 18,3; N1: % 15; N: % 21,7; N3a: % 30; N3b: % 15). Biziraupenaren aldagai bakarreko ikerketan pronostiko txarreko faktore bezala agertu da. UMDaren kasuan, D2 linfadenektomia gehiago egin da (% 43,3).

N ratio eta LODDS gongoil linfatikoen estadiatze-sistemak ere aztertu dira, eta UMDan erabilgarri agertu; biziraupen globalari dagokionez, ROC testaren bidez ebaluatu ondoren, froga oso egokitzat hartu dira.

#### 4.2.3 KIRURGIA OSTEKO KONPLIKAZIOAK

Pazienteen % 53,3ak izan du kirurgia osteko konplikazioen bat; horietatik % 14,1ak (28 paziente) ebakuntza kirurgikoa behar izan zuen (Clavien Dindo (CD)>3b). 9 paziente hil ziren lehen 180 egunetan (CD>5), eta biziraupenaren analisitik baztertu egin dira haiek. % 19,6 konplikazio medikoak izan dira —hala nola, neumonia, bihotz-gutxiegitasuna edo besteak—, eta % 16,1 anastomosi-ihesak edo peritonitisak.

Biziraupen globalaren aldagai bakarreko ikerketan, pronostiko txarreko faktore gisa agertu da konplikazioak izatea. HR: 1,51 (1,05; 2,16), batez ere, CD>2 HR: 1,54 (1,07; 2,20), eta konplikazio medikoak HR: 1,83 (1,16;2,88). Gaixotasunik gabeko biziraupenaren aldagai bakarreko ikerketan, konplikazio larrien (CD>4) % 70 anastomosi-ihesagatik izan ziren, eta % 80k berrebakuntza behar izan zuen; gaixotasuna berragertzeko arrisku-faktore moduan agertu dira, HR: 3,52 (1,08-11,4).

#### 4.2.4 TRATAMENDU GEHIGARRIAK

Kasuen % 54,8k (UMDen % 64,2) tratamendu gehigarri bat behar izan zuen kirurgiaz gaindi; % 40,2ak (UMDen % 47,2) kimio-erradioterapia bidezkoa, McDonald eskema jarraituta.

Tratamendu gehigarriak biziraupen globaleko aldagai anitzeko ikerketan faktore-ponostiko babesle moduan agertu dira, bai QT-RT: HR 0,43 (0,22;0,84) eta bai kimioterapia bakarrik HR: 0,31 (0,18;0,54).

### 4.3 TEKNIKA KIRURGIKOAK ERABERRITZEAREN IKERKETA: «% 95EKO GASTREKTOMIA GUZTIZ LAPAROSKOPIKOA»

*Cirugía Española aldizkarian argitaratua 2018an. Short-Term Results of Near-Total (95%) Laparoscopic Gastrectomy. Material gehigarrian: CirEsp.2018;96:634–639. DOI: 10.1016/j.cireng.2018.11.011*

Luxenburgoko Centre Hospitalier Luxembourg ospitalean, 3 hilabeteko egonaldian, urdaileko minbizia tratatzeko erabiltzen duten «% 95eko gastrektomia» mota berriari buruzko ikerketa egin zuten. Osatzeko asmoarekin egindako teknika honen 67 kasu ikertu ziren. 4.3.1 taulan adierazten dira ezaugarri kliniko patologikoak eta biziraupena. Haien arteko % 20 inguru urdaileko minbizi difusoaren kasuak izan dira.

#### **4.3.1 EMAITZA KIRURGIKOAK**

Kirurgien emaitzak 4.3.2 taulan laburbiltzen dira. Ebakuntza guztiak laparoskopiaz gauzatu ziren, eta ez zen konbertsio kasurik egon.

Bi pazienteek (% 2,98) konplikazio bat edo gehiago izan zituzten (CD > IIIa). Gaixoetako batek ingresatu egin behar izan zuen kirurgia osteko hamargarren egunean odoljariora izan zuelako, eta endoskopia bidez tratatu zuten. Beste gaixoetako batek ebakuntza kirurgikoa behar izan zuen hesteetako buxadura zela-eta, 52. egunean. Sei pazienteek bizkortze-unitatea behar izan zuten, eta egun bateko egonaldia izan zuten batez beste. Ospitaleko egonaldia, batez beste, sei egunekoa izan zen (3-13).

#### **4.3.2 ANATOMIA PATOLOGIKOAREN EMAITZAK**

Erauzketa erradikala R0 gauzatu zen kasu guztietan, eta ez zen ez marjina proximal ez eta marjina distal positiborik aurkitu.

#### **4.3.3 BIZIRAUPENA**

Jarraipenaren iraupena 4 eta 48 hilabete artekoa izan da. Sei gaixoren jarraipena galdu da, eta hiru gaixo hil dira urdaileko minbizia ez den beste gaixotasun batek jota. Zazpi (% 11,47) pazienterengan gaixotasuna hedatu egin da jarraipenean zehar, eta horietako bi hil egin dira (% 3,28). Ez da urdail inguruko berragerpen kasurik ikusi.

## **4.4 URDAILEKO MINBIZI DIFUSOAREN LAGIN KIRURGIKOETAN EGINDAKO PROTEOMIKA IKERKETA**

Euskadiko tumoreen Biobankuan (OSI EE Cruces) 2018. urtean deposituan utzitako 23 urdaileko minbizien kasuetatik hamar UMDaren laginak ziren, eta horietako hiru kasu aukeratu dira proteomika ikerketa esperimentalak gauzatzeko. Tumore-laginak (T) aukeratu ziren anatomia patologikoko zerbitzuan, eta inguruko ehun normalaren laginekin (N) bikotekatuta gorde ziren. Material gehigarrian, X1\_5 taulan aurkezten dira pazienteen datu klinikoak eta patologikoak.

### UMDaren proteomaren ezaugarri orokorrak

2.197 proteina aurkitu ziren UMD laginetan. Proteinen % 81 bai tumoreetan bai inguruko lagin osasuntsuetan agertu ziren, % 16 tumoreetan soilik, eta % 2,8 GP inguruko ehunetan bakarrik. Proteinen aldaketa nabarmena dago tumoreen eta inguruko ehunen artean. (X1\_2)

Bestalde, ikerketa estatistikoa gauzatu da laginen proteina-maila (tumorea/osasuntsua) kontuan hartuz, eta, kasu guztietan, T eta N artean ikertu dira bereziki adierazi direnak. Gorriz adierazitako proteinak tumorean ageri dira gehiago, eta urdinak osasuntsuan. (X1\_3).

Adierazgarria da proteina horietako asko (% 10) matrize extrazelularrekoak direla, eta horrek adieraz dezake UMDan oso garrantzitsua dela **tumore kanpoko ingurunea**. Bestalde, urdailaren eta bere funtzioen proteina bereizgarriak (LIPF, PGA, ANXA10, TFF2, MUC5AC, MUC6 PGC eta GIF, GAST eta ATP4A) aztertzean, tumore-laginetan gutxituta aurkitu dira, eta horrek UMDaren desberdindu gabeko tumorearen egitura baieztatu dezake.

WNT, **seinalizazio-bide** RhoAren inhibitzaileak modu positiboan erregulatuta agertu dira, eta, aldi berean, E-cadherinak gidatutako seinalizazio-bideak negatiboan; agerian geratu da, beraz, bide garrantzitsu horien deserregulazioa (X1\_10).

### UMDaren proteoman oinarritutako tumore azpimotak

Gure emaitzak hiru kasutan oinarrituta daude, eta proteinen detektagarritasuna baino ez dute adierazi nahi. Hala ere, Gee-k aurkeztutako lanean, UMDaren proteoma zehatza aurkezten da, eta hori lortzeko erabilitako 84 kasuen datu klinikoak kontuan hartuta, hiru tumore azpimota sailkatzen ditu. Guk, azpimota horien ezaugarriekin, taldeen berezitasun klinikoak aztertu ditugu, ikuspuntu klinikoagoa eskainiz Gee-ren lanari. **PX1** da ziklo zelularrekin erlazionatutako proteinak nagusitu diren taldea, eta UMDaren ezaugarri kliniko antzekoagoak ditu. **PX2** ziklo zelularreko eta epitelio-mesekima trantsizioeko proteinak nagusitu dira, eta UMDaren ezaugarri klinikoak ditu. **PX3** prozesu immunologikoetako proteinak nagusitu dira, eta, pronostiko okerrenea den arren, immunoterapia erabilgarri suerta daiteke horien tratamenduan.

Gure helburua izan da gure kasuen proteina-neurketekin Ge-ren azpimota tumoralak antzematea. Horretarako, Ge-k erabilitako proteina berdinen gure kasuen neurketetan balore absolutu eta logaritmikoekin bero-mapak eraiki eta konparatu dira (X1\_7). Cruces\_1- PX2,

Cruces\_3-PX1 eta Cruces\_2-PX3 erlazioak susmatu dira. Ondoren, gure kasuen eta guk eraikitako PX1-2-3 tumoreen ezaugarri klinikoak konparatu ditugu, eta elkarketak egokiak izan daitezkeela ondorioztatu dugu (X1\_8).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 ESTUDIO 1: IMPACTO DE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA EN EL PRONÓSTICO DEL CÁNCER GÁSTRICO

*Publicado en la revista española de enfermedades digestivas en 2021: Material Complementario: Rev Esp Enferm Dig. 2020 Nov 24. doi: 10.17235/reed.2020.7184/2020.*

#### 4.1.1 DATOS DEMOGRÁFICOS/ EPIDEMIOLOGIA

En el primer estudio, se obtuvieron del registro de tumores un total de 1052 casos de cáncer gástrico diagnosticados durante los años 2005-2014, 684 hombres (65%) y 368 mujeres (35%) con una mediana de edad de 71 (rango 21-95) años.

**Taula/Tabla 4.1.1 Frecuencia y porcentaje por histología anual de los casos de cáncer gástrico.**

Año diagnóstico		AP LAUREN				Total
		Indiferenciado o mixto	Intestinal	Difuso	Otros	
2005	Recuento	44	34	16	3	97
	% dentro del año	45,4%	35,1%	16,5%	3,1%	100,0%
2006	Recuento	29	42	27	3	101
	% dentro del año	28,7%	41,6%	26,7%	3,0%	100,0%
2007	Recuento	44	45	30	3	122
	% dentro del año	36,1%	36,9%	24,6%	2,5%	100,0%
2008	Recuento	36	33	27	1	97
	% dentro del año	37,1%	34,0%	27,8%	1,0%	100,0%
2009	Recuento	51	44	39	5	139
	% dentro del año	36,7%	31,7%	28,1%	3,6%	100,0%
2010	Recuento	36	37	29	1	103
	% dentro del año	35,0%	35,9%	28,2%	1,0%	100,0%
2011	Recuento	38	35	27	2	102
	% dentro del año	37,3%	34,3%	26,5%	2,0%	100,0%

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

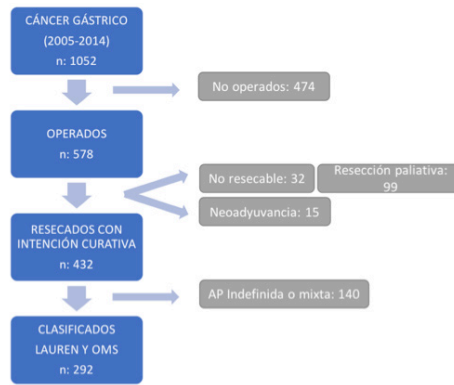
<b>2012</b>	Recuento	42	25	19	6	92
	% dentro del año	45,7%	27,2%	20,7%	6,5%	100,0%
<b>2013</b>	Recuento	38	23	24	5	90
	% dentro del año	42,2%	25,6%	26,7%	5,6%	100,0%
<b>2016</b>	Recuento	38	32	33	6	109
	% dentro del año	34,9%	29,4%	30,3%	5,5%	100,0%
<b>TOTAL</b>	Recuento	396	350	271	35	1052
	% dentro del año	37,6%	33,3%	25,8%	3,3%	100,0%

Un tercio de los casos diagnosticados, 348 (33%), presentó **enfermedad diseminada al diagnóstico (M1)**, por lo que no se planteó tratamiento curativo y se remitió a tratamiento paliativo, bien quimio-radioterápico o sintomático. De los 704 pacientes restantes 126 (12%) no se consideraron pacientes operables por las diferentes comorbilidades de los pacientes.

**Se intervinieron** un total de 578 (55%) pacientes, en los cuales 95 (9%) tumores no fueron resecables, bien por presentar enfermedad diseminada en su mayoría en forma de carcinomatosis, por la existencia de metástasis evidenciadas durante la intervención quirúrgica o bien por tratarse de un tumor localmente avanzado con infiltración de órganos vecinos (hígado, cava, aorta, páncreas...) que imposibilitaba la resección quirúrgica. Cabe destacar que al tratarse del periodo de tiempo de la instauración de los protocolos de neoadyuvancia en el hospital de Cruces, únicamente 15 casos recibieron tratamiento quimioterápico preoperatorio. Tal y como se describe previamente con el objeto de evitar sesgos, todos estos pacientes han sido excluidos del análisis analítico y de supervivencia.

**En los casos no resecados** (547; 52%), la muestra tumoral se obtuvo de la biopsia realizada en la mayoría de los casos por gastroscopia. Solo en el 46,6% de los casos pudo identificarse el tipo de tumor gástrico, siendo de ellos 125 casos (22,8%) carcinomas difusos (42,2% mujeres con edad mediana 69 a) y 167 (30,5%) de estirpe intestinal (31,7% mujeres con edad mediana 74,8 a).

**Figura 4.1.1: Diagrama de flujo de los casos de cáncer gástrico diagnosticados.**



**De los casos resecados** (468; 44%), la muestra tumoral se obtuvo de la pieza quirúrgica. Se identificaron y lograron clasificar según la clasificación de Lauren y de la OMS 328 (70%) de los tumores, siendo el 38,1% (125) de los casos carcinomas difusos y el restante 61,9% (203) adenocarcinomas intestinales. No obstante 140 tumores, el 30% no fue clasificado según ninguna de las clasificaciones histopatológicas vigentes en el momento, por lo que solo se diagnosticado de adenocarcinoma gástrico. De los 328 casos con pieza de resección quirúrgica, 32 (9,8%) fueron resecciones con intención paliativa, casos intervenidos con intención curativa pero con hallazgo intraoperatorio de carcinomatosis peritoneal o metástasis hepáticas.

**Taula/ tabla 4.1.2: Tabla cruzada frecuencias clasificación de Lauren y de la OMS.**

	Intestinal	Difuso	Indeterminado o mixto	Total
<b>Tubular/ Papilar</b>	158 (54,1%)	0 (0%)	0 (0%)	158 (54,1%)
<b>Mucinoso</b>	19 (6,5%)	0 (0%)	0 (0%)	19 (6,5%)
<b>Pobremente cohesivo</b>	0 (0%)	86 (29,4%)	0 (0%)	86 (29,4%)
<b>Células en anillo de sello</b>	0 (0%)	29 (10%)	0 (0%)	29 (10%)
<b>Mixto o indiferenciado</b>	0 (0%)	0 (0%)	140 (32,4%)	140 (32,4%)
<b>Total</b>	177 (40,1%)	115 (26,6%)	140 (32,4%)	432 (100%)

Por último, como se indica previamente 4 casos han sido excluidos por presentar éxitus en el posoperatorio inmediato (30 días). Por lo tanto, en el análisis de supervivencia del primer estudio, se han analizado un total de 292 pacientes, con una media de edad de 67 años (rango 35-92). Las características clínico-patológicas y la supervivencia se detallan en la **tabla 4.1.3**. A fecha de 1 de enero de 2019, 157 (54%) pacientes habían muerto por la enfermedad con un tiempo mediana de seguimiento de 2 años y 3 meses (4 meses-10 años).

#### 4.1.2 ANATOMÍA PATOLÓGICA

Los diferentes diagnósticos según cada clasificación y los las características clínico-patológicas y la supervivencia se detallan en la tabla **4.1.2** y tabla **4.1.3**. divididos según las clasificaciones de Lauren y la de la OMS.

##### Diferencias entre las Clasificaciones de Luren y de la OMS

En cuanto a la **clasificación de Lauren** 177 (60,6%) pacientes presentaron cáncer gástrico de tipo intestinal (CDI) y 115 (39,4%) cáncer gástrico difuso (CGD). Respecto a la **clasificación de la OMS** 158 casos (54,1%) fueron clasificados de tipo papilar o tubular (intestinal), 86 (29,4%) pobremente cohesivo (PC), 29 (10%) de anillo de sello (CCAS) y 19 (6,5%) mucinoso (MC).

La clasificación de Lauren discrimina mejor los pacientes según el sexo, siendo proporcionalmente mayor el número de **mujeres en el tipo difuso** frente a los de tipo intestinal (41,7% vs 28,8%). Ambas clasificaciones reflejan que los pacientes con carcinomas de tipo **difuso son más jóvenes** que los que padecen tumores de estirpe intestinal ( 62 años vs 70 años).

En cuanto a la **localización**, en el tercio superior gástrico y cardias predominan los tumores de estirpe intestinal (CGI); en el cuerpo gástrico se presentan la mayoría de los tumores difusos (CGD), a expensas de la mayoría de los tumores de células en anillo de sello (CCAS) (82,8%); y en el antro gástrico la mayoría de los tumores fueron intestinales, presentándose también en esta localización la mayoría de los tumores mucinosos (CM) (63,2%). El 7,8% de los tumores de estirpe difusa se presentó a modo de "linitis plástica" (LP), del mismo modo que particularmente lo hizo uno de los tumores mucinosos.

El 74% de los tumores intestinales fueron clasificados como bien o moderadamente diferenciados frente a los 98,3% de los tumores difusos que se clasificaron como pobremente diferenciados o indiferenciados. En cuanto a la clasificación de la OMS fueron clasificados como pobremente diferenciados o indiferenciados el 100% de los CCAS, 97,7% de los PC y el 73,7% de los CM.



En lo que al **estadiaje tumoral** respecta, la mayoría de los tumores (69,2%) se diagnosticaron en estadios **localmente avanzados**, considerando como tal los que son mayor o igual a T3 o N+, sobre todo a expensas de los tumores difusos (CGD) (80,9%), y en particular los CCAS (86,2%). No existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la invasión local T, no obstante, entre los tumores CGD predominan los tumores >T3 (65,2%) y los tumores mucinosos destacan por presentar infiltración T2 o menor (53%). Respecto a la infiltración ganglionar, un gran porcentaje de los tumores intestinales (40,7%) no presenta infiltración ganglionar (N0), a diferencia de los CGD, de los cuales la gran mayoría son N+ (81,7%). Los CCAS presentan infiltración ganglionar en un 89,7% con importante carga ganglionar positiva (N1: 10,3%; N2: 24,1%; N3:55,2%). Por el contrario, los tumores mucinosos (CM) presentan alto grado de infiltración ganglionar (73,7%) en comparación con los tumores intestinales (56,6%), pero con baja carga tumoral (N1: 47,4%; N2: 21,1%; N3: 5,3%). Por lo tanto, el 68,4% de los CGI se clasificó en estadios I y II, a diferencia con el CGD donde la mayoría (53,1%) se encontraban en estadio III. El CCAS se clasificó como en estadio III en un 65,5% de los casos, a diferencia de los MC que se encontraban en estadios I y II en un 84,1% de los casos.

Existen grandes diferencias en cuanto al **tratamiento** recibido. Mas de la mitad de los tumores intestinales únicamente recibieron tratamiento quirúrgico (57,2%) frente al 64,3% de los CGD que precisaron tratamiento adyuvante, la mayoría (78%) mediante radio y quimioterapia postoperatoria según esquema de Mc Donald.

**Taula/ tabla 4.1.3: Características clínico-patológicas y supervivencia global a 1, 3 y 5 años.**

Variable	LAUREN			OMS				p	Total
	Intestinal	Difuso		Intestinal	Pobrementemente cohesivo	Anillo de sello	Mucinoso		
<b>Sexo</b>	177 (60,6%)	115 (39,4)		158 (54,1%)	86 (29,4%)	29 (10%)	19 (6,5%)		292 (100%)
<i>H</i>	126 (71,2%)	67 (58,3%)	0,023	114 (72,2%)	50 (58,1%)	17 (58,2%)	12 (63,2%)	0,121	193 (66,1%)
<b>Edad</b>	70,11 ± 11	61,9 ± 11,6	<0,001	70,2 ± 11	62 ± 12	61,6 ± 9,6	69 ± 9,5	<0,001	
<b>Localización</b>			0,044					0,005	
<i>Tercio superior</i>	16 (9%)	5 (4,3%)		14 (8,9%)	4 (4,7%)	1 (3,4%)	2 (10,5%)		21 (7,2%)
<i>Cuerpo</i>	86 (48,6%)	72 (62,6%)		81 (51,3%)	48 (55,8%)	24 (82,8%)	5 (26,3%)		158 (54%)
<i>Antro</i>	75 (42,4%)	38 (33,0%)		63 (39,9%)	34 (39,5%)	4 (13,8%)	12 (63,2%)		113 (38,7%)
<b>LINITIS PLASTICA</b>	1 (0,6%)	9 (7,8%)	<0,001	0	8 (9,3%)	1 (3,4%)	1 (5,3%)	0,005	10 (3,4%)
<b>GRADO DE DIFERENCIACIÓN</b>			<0,001					0,001	

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

<i>Bien diferenciado</i>	39 (22%)	0 (0%)	39 (24,7)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	39 (13,4%)
<i>Moderadamente diferenciado</i>	92 (51,9%)	2 (1,7%)	87 (55,1%)	2 (2,3)	0 (0%)	5 (26%)	94 (32,2%)
<i>Pobre-indiferenciado</i>	46 (25,9%)	113 (98,3%)	32 (20,3%)	84 (97,7)	29 (100%)	14 (73,7%)	159 (54,3%)
<b>DISEMINACIÓN</b>			<0,001				0,003
<i>Localmente avanzado</i>	109 (61,6%)	93 (80,9%)	95 (60,1%)	68 (79,1%)	25 (86,2%)	14 (73,7%)	202 (69,2%)
<b>N</b>			<0,001				<0,001
0	72 (40,7%)	21 (18,3%)	67 (42,4%)	18 (20,9%)	3 (10,3%)	5 (26,3%)	93 (31,8%)
1	44 (24,9%)	23 (20,0%)	35 (22,2%)	20 (23,3%)	3 (10,3%)	9 (47,4%)	67 (22,9%)
2	46 (26%)	36 (31,3%)	42 (26,6%)	29 (33,7%)	7 (24,1%)	4 (21,1%)	82 (28,1%)
3	15 (8,5%)	35 (30,4%)	14 (8,9%)	19 (22,1%)	16 (55,2%)	1 (5,3%)	50 (17,1%)
<b>Estadio (7ª Edición)</b>			<0,001				0,001
IA	18 (10,2%)	9 (7,8%)	17 (10,8%)	9 (10,5%)	0	1 (5,3%)	27 (9,2%)
IB	32 (18,1%)	5 (4,3%)	30 (19%)	5 (5,8%)	0	2 (10,5%)	37 (12,7%)
IIA	39 (22%)	18 (15,7%)	32 (20,3%)	13 (15,1%)	5 (17,2%)	7 (36,8%)	57 (19,5%)
IIB	32 (18,1%)	22 (19,1%)	26 (16,5%)	17 (19,8%)	5 (17,2%)	6 (31,6%)	54 (18,5%)
IIIA	29 (16,4%)	26 (22,6%)	28 (17,7%)	20 (23,3%)	6 (20,7%)	1 (5,3%)	55 (18,8%)
IIIB	21 (11,9%)	17 (14,8%)	20 (12,7%)	11 (12,8%)	6 (20,7%)	1 (5,3%)	38 (13%)
IIIC	6 (3,4%)	18 (15,7%)	5 (3,2%)	11 (12,8%)	7 (24,1%)	1 (5,3%)	24 (8,2%)
<b>Tratamiento adyuvante</b>			0,002				0,003
<i>No: Solo Cirugía</i>	103 (57,2%)	40 (35,7%)	94 (58,4%)	32 (38,6%)	8 (27,6%)	9 (47,4%)	143 (48,9%)
<i>Quimioterapia</i>	19 (10,5%)	14 (12,5%)	18 (11,1%)	7 (8,4%)	7 (24,1%)	1 (5,3%)	33 (11,3%)
<i>Quimio-Radioterapia</i>	58 (32,2%)	58 (51,8%)	49 (30,4%)	44 (53%)	14 (48,3%)	9 (47,4%)	116 (39,7%)
<b>Recaída</b>			0,289				0,364
<i>Local</i>	18 (45%)	14 (38,9%)	16 (43,2%)	11 (40,7%)	3 (33,3%)	2 (66,7%)	32 (42,1%)
<i>Distancia</i>	22 (55%)	22 (61,1%)	21 (56,7%)	16 (59,3%)	6 (66,7%)	1 (33,3%)	44 (57,9%)
<b>Supervivencia</b>			0,03				0,022
1º año	90,0%	85,6%	89,4%	87,9%	78,6%	94,7%	
3º año	55,9%	47,7%	52,3%	48,4%	46,2%	83,2%	
5º año	41,3%	32,2%	36,3%	31,7%	33,2%	75,7%	

### 4.1.3 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Se han realizado análisis de supervivencia uni y multivariante (tabla 4.1.4) donde se incluyen las siguiente variables: Sexo, edad, linitis plástica, tipo histopatológico (Clasificaciones de Lauren y OMS), localización, grado de diferenciación, extensión, Estadio TNM, (AJCC 7º edición) recidiva y tratamiento recibido.

**Taula/tabla 4.1.4: Análisis univariado y multivariado de supervivencia global.**

	p-valor	HR (I.C 95%)	p-valor	HR (I.C 95%)
<b>Sexo (hombre)</b>	0,038	1,447 (1,020-2,054)	0,037	1,483 (1,024-2,146)
<b>Edad</b>	0,225	1,008 (0,995-1,022)		
<b>Localización (ref Cardias)</b>	0,335			
<i>Cuerpo</i>	0,185	0,668 (0,396-1,195)		
<i>Antro</i>	0,143	0,655 (0,372-1,154)		
<b>Grado diferenciación (ref 1)</b>	0,733			
2	0,802	0,923 (0,494-1,724)		
3	0,896	1,038 (0,589-1,831)		
<b>Extensión ( ref localizado)</b>	<0,001			
<b>Localmente avanzado</b>	<0,001	3,622 (2,372-5,531)		
<b>T patológico_rec1 (ref T1)</b>	<0,001		0,001	
2	0,018	2,825 (1,193-6,692)	0,043	2,465 (1,029-5,907)
3	<0,001	5,398 (2,334-12,483)	0,004	3,669 (1,533-8,781)
4	<0,001	9,382 (3,902-22,561)	<0,001	5,505 (2,170-13,962)
<b>N patológico_rec (ref 0)</b>	<0,001		<0,001	
1	0,001	2,389 (1,458-3,917)	<0,001	3,955 (2,286-6,844)
2	<0,001	4,471 (2,825-7,075)	<0,001	6,077 (3,537-10,440)
3	<0,001	5,017 (2,992-8,413)	<0,001	6,758 (3,587-12,731)
<b>Recaída (re locoregional)</b>	0,112			
<i>A distancia</i>	0,043	0,576 (0,337-0,983)		
<b>Tratamiento (ref C+QM+RT)</b>	0,055		<0,001	
C+QM	0,360	1,173 (0,833-1,652)	0,004	2,076 (1,256-3,433)
C	0,016	1,823 (1,119-2,972)	<0,001	3,205 (2,163-4,749)

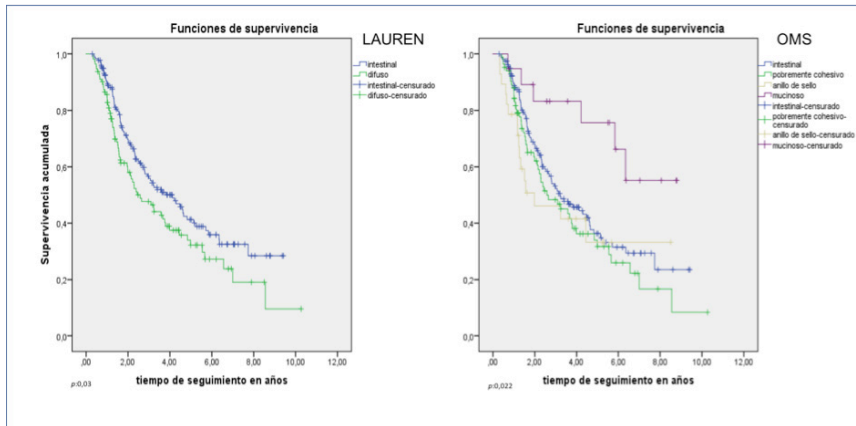
#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

<b>Estadio (ref IA)</b>	<0,001	
<i>IB</i>	0,217	2,222 (0.666-7.889)
<i>IIA</i>	0,058	3,207 (0.961-10.707)
<i>IIB</i>	<0,001	8,768 (2.695-28.523)
<i>IIIA</i>	<0,001	12,633 (3.886-41.068)
<i>IIIB</i>	<0,001	9,747 (2.920-35.543)
<i>IIIC</i>	<0,001	17,997 (5.179-62.542)
<b>Lauren (ref intestinal)</b>	0,03	
<i>Difuso</i>	0,035	1,405 (1.024-1.927)
<b>OMS (ref intestinal)</b>	0,031	
<i>Pobremente cohesivo</i>	0,221	1,242 (0.878-1.757)
<i>Anillo de sello</i>	0,268	1,354 (0.792-2.314)
<i>Mucinoso</i>	0,022	0,378 (0.164-0.868)

Respecto al análisis univariante de la supervivencia en cuanto a las dos clasificaciones histopatológicas, los porcentajes de supervivencia a 1, 3 y 5 años se detallan en la **tabla 1.3**. Destacan una mejor tasa de supervivencia de los CGI frente al CGD (HR: 1.405 (1.024-1.927)) de la clasificación de Lauren (**Figura 4.1.2a**). En cuanto a la clasificación de la OMS (**Figura 4.1.2b**) llama la atención el mejor pronóstico de los CM (HR: 0.378 (0.164-0.868)), sin poder probar un peor pronóstico de los CCAS (HR: 1.354 (0.792-2.314)).

En el análisis multivariante únicamente destacan como factores de mal pronóstico el sexo masculino (HR: 1,483 (1,024-2,146)), la infiltración local (T) ( $p < 0,05$ ), la invasión ganglionar (N) ( $p < 0,05$ ) y el tratamiento adyuvante ( $p < 0,05$ ).

**Figura 4.1.2a y b: Análisis Kaplan-Meier de la supervivencia global de los subtipos de cáncer gástrico según las clasificaciones de Lauren (a) y de la OMS (b).**



## 4.2 ESTUDIO 2: VALOR PRONÓSTICO DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN EL H.U.CRUCES

*Aceptado, pendiente de ser publicado en la revista Cirugía y Cirujanos en 2021. Material complementario.*

### 4.2.1 DATOS DEMOGRÁFICOS

En el segundo estudio se han analizado 222 casos de cáncer gástrico intervenidos en el Hospital de Cruces (OSI EE Cruces) durante los años 2010-2014. Han sido excluidos 14 casos por presentar M1 al momento de ser tratados quirúrgicamente y 9 por causar éxitus en los primeros 4 meses desde el diagnóstico como consecuencia de complicaciones quirúrgicas. En total han sido analizados 199 pacientes de los cuales 134 hombres (67,3%) y 65 mujeres (32,7%) con una mediana de edad que fue de 68,2 (11,8) años.

En cuanto a los carcinomas difusos, las mujeres representaron un porcentaje proporcionalmente mayor (40,3%) y significativamente mas joven con una mediana de edad de 63,5 (12,7).

Taula/Tabla 4.2.1: Características clínico-patológicas y supervivencia global a 5 años.

	[ALL] N=199	No Dif N=137	Difusos N=62	p	No PC N=127	PC N=72	p	N
<b>Edad</b>	68.2 (11.8)	70.4 (10.7)	63.5 (12.7)	<0.001	70.3 (10.9)	64.6 (12.6)	0.002	199
<b>Edad categórica</b>				0.014			0.068	199
≤65 años	76 (38.2%)	44 (32.1%)	32 (51.6%)		42 (33.1%)	34 (47.2%)		
>65 años	123 (61.8%)	93 (67.9%)	30 (48.4%)		85 (66.9%)	38 (52.8%)		
<b>Sexo:</b>				0.166			0.117	199
<b>Hombres</b>	134 (67.3%)	97 (70.8%)	37 (59.7%)		91 (71.7%)	43 (59.7%)		
<b>Mujeres</b>	65 (32.7%)	40 (29.2%)	25 (40.3%)		36 (28.3%)	29 (40.3%)		
<b>HER2:</b>				0.746			0.598	197
<b>No</b>	148 (75.1%)	105 (77.2%)	43 (70.5%)		98 (77.8%)	50 (70.4%)		
<b>HER2: -</b>	44 (22.3%)	27 (19.9%)	17 (27.9%)		24 (19.0%)	20 (28.2%)		
<b>Fish -</b>	1 (0.51%)	1 (0.74%)	0 (0.00%)		1 (0.79%)	0 (0.00%)		
<b>Fish +</b>	1 (0.51%)	1 (0.74%)	0 (0.00%)		1 (0.79%)	0 (0.00%)		
<b>HER2: +</b>	3 (1.52%)	2 (1.47%)	1 (1.64%)		2 (1.59%)	1 (1.41%)		
<b>Gastro.localizacion:</b>				0.277			0.249	199
<b>Tercio superior</b>	39 (19.6%)	31 (22.6%)	8 (12.9%)		29 (22.8%)	10 (13.9%)		
<b>Cuerpo</b>	54 (27.1%)	36 (26.3%)	18 (29.0%)		35 (27.6%)	19 (26.4%)		
<b>Antro</b>	106 (53.3%)	70 (51.1%)	36 (58.1%)		63 (49.6%)	43 (59.7%)		
<b>Tecnica:</b>				0.759			0.571	190
<b>Total</b>	60 (31.6%)	39 (30.5%)	21 (33.9%)		35 (29.7%)	25 (34.7%)		
<b>Subtotal</b>	130 (68.4%)	89 (69.5%)	41 (66.1%)		83 (70.3%)	47 (65.3%)		
<b>Reintervencion</b>				0.894			1.000	199
<b>No</b>	174 (87.4%)	119 (86.9%)	55 (88.7%)		111 (87.4%)	63 (87.5%)		
<b>Sí</b>	25 (12.6%)	18 (13.1%)	7 (11.3%)		16 (12.6%)	9 (12.5%)		
<b>Histologia.Lauren:</b>				<0.001			<0.001	192
<b>Indeterminado</b>	47 (24.5%)	45 (33.8%)	2 (3.39%)		45 (36.6%)	2 (2.90%)		
<b>Adeno intestinal</b>	82 (42.7%)	79 (59.4%)	3 (5.08%)		77 (62.6%)	5 (7.25%)		
<b>Difuso</b>	63 (32.8%)	9 (6.77%)	54 (91.5%)		1 (0.81%)	62 (89.9%)		
				<0.001			<0.001	199

<b>Indeterminado</b>	54 (27.1%)	54 (39.4%)	0 (0.00%)	54 (42.5%)	0 (0.00%)
<b>Papilar/Tubular</b>	73 (36.7%)	73 (53.3%)	0 (0.00%)	73 (57.5%)	0 (0.00%)
<b>Cell anillo sello</b>	29 (14.6%)	0 (0.00%)	29 (46.8%)	0 (0.00%)	29 (40.3%)
<b>Mucinoso</b>	10 (5.03%)	10 (7.30%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	10 (13.9%)
<b>Pobrementemente cohesivo</b>	33 (16.6%)	0 (0.00%)	33 (53.2%)	0 (0.00%)	33 (45.8%)
<b>T_PATOLOGICO:</b>				0.006	0.012 199
<b>&lt;Tis</b>	2 (1.01%)	1 (0.73%)	1 (1.61%)	1 (0.79%)	1 (1.39%)
<b>T1</b>	23 (11.6%)	16 (11.7%)	7 (11.3%)	16 (12.6%)	7 (9.72%)
<b>T2</b>	40 (20.1%)	31 (22.6%)	9 (14.5%)	28 (22.0%)	12 (16.7%)
<b>T3</b>	94 (47.2%)	71 (51.8%)	23 (37.1%)	66 (52.0%)	28 (38.9%)
<b>T4a</b>	39 (19.6%)	18 (13.1%)	21 (33.9%)	16 (12.6%)	23 (31.9%)
<b>T4b</b>	1 (0.50%)	0 (0.00%)	1 (1.61%)	0 (0.00%)	1 (1.39%)
<b>T_PATOLOGICO_recod:</b>				0.003	0.006 199
<b>&lt;Tis/T1</b>	25 (12.6%)	17 (12.4%)	8 (12.9%)	17 (13.4%)	8 (11.1%)
<b>T2</b>	40 (20.1%)	31 (22.6%)	9 (14.5%)	28 (22.0%)	12 (16.7%)
<b>T3</b>	94 (47.2%)	71 (51.8%)	23 (37.1%)	66 (52.0%)	28 (38.9%)
<b>T4a/T4b</b>	40 (20.1%)	18 (13.1%)	22 (35.5%)	16 (12.6%)	24 (33.3%)
<b>N_PATOLOGICO:</b>				0.001	0.005 196
<b>N0</b>	56 (28.6%)	45 (33.1%)	11 (18.3%)	42 (33.3%)	14 (20.0%)
<b>N1</b>	37 (18.9%)	28 (20.6%)	9 (15.0%)	25 (19.8%)	12 (17.1%)
<b>N2</b>	52 (26.5%)	39 (28.7%)	13 (21.7%)	36 (28.6%)	16 (22.9%)
<b>N3a</b>	38 (19.4%)	20 (14.7%)	18 (30.0%)	20 (15.9%)	18 (25.7%)
<b>N3b</b>	13 (6.63%)	4 (2.94%)	9 (15.0%)	3 (2.38%)	10 (14.3%)
<b>M_PATOLOGICO: M0</b>	199 (100%)	137 (100%)	62 (100%)	127 (100%)	72 (100%) 199
<b>Linfad.D:</b>				0.340	0.029 195
<b>Paliativa</b>	11 (5.64%)	7 (5.19%)	4 (6.67%)	5 (4.00%)	6 (8.57%)
<b>D1</b>	113 (57.9%)	83 (61.5%)	30 (50.0%)	81 (64.8%)	32 (45.7%)
<b>D2</b>	71 (36.4%)	45 (33.3%)	26 (43.3%)	39 (31.2%)	32 (45.7%)
<b>Reseccin.ampliada:</b>				0.056	0.111 198
<b>No</b>	183 (92.4%)	128 (94.1%)	55 (88.7%)	118 (93.7%)	65 (90.3%)
<b>Bazo</b>	6 (3.03%)	5 (3.68%)	1 (1.61%)	5 (3.97%)	1 (1.39%)

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

<b>Pancreas</b>	5 (2.53%)	1 (0.74%)	4 (6.45%)	1 (0.79%)	4 (5.56%)	
<b>Colon</b>	1 (0.51%)	1 (0.74%)	0 (0.00%)	1 (0.79%)	0 (0.00%)	
<b>Hígado</b>	3 (1.52%)	1 (0.74%)	2 (3.23%)	1 (0.79%)	2 (2.78%)	
<b>Reseccion.ampliada.cat:</b>				0.270		0.700 199
<b>No</b>	183 (92.0%)	128 (93.4%)	55 (88.7%)	118 (92.9%)	65 (90.3%)	
<b>Sí</b>	16 (8.04%)	9 (6.57%)	7 (11.3%)	9 (7.09%)	7 (9.72%)	
<b>Bordes.anastomosis:</b>						
<b>Bordes.anastomosis: -</b>	175 (88.8%)	124 (91.9%)	51 (82.3%)	115 (92.0%)	60 (83.3%)	
<b>Bordes.anastomosis: +</b>	22 (11.2%)	11 (8.15%)	11 (17.7%)	10 (8.00%)	12 (16.7%)	
<b>Proximal.Distal:</b>				0.143		0.040 156
<b>Proximal</b>	61 (39.1%)	45 (43.7%)	16 (30.2%)	43 (46.2%)	18 (28.6%)	
<b>Distal</b>	95 (60.9%)	58 (56.3%)	37 (69.8%)	50 (53.8%)	45 (71.4%)	
<b>G:</b>				<0.001		<0.001 183
<b>Bien diferenciado</b>	47 (25.7%)	46 (36.5%)	1 (1.75%)	45 (38.5%)	2 (3.03%)	
<b>Moderadamente diferenciado</b>	45 (24.6%)	43 (34.1%)	2 (3.51%)	43 (36.8%)	2 (3.03%)	
<b>Pobremente diferenciado o Indiferenciado</b>	91 (49.7%)	37 (29.4%)	54 (94.7%)	29 (24.8%)	62 (93.9%)	
<b>R:</b>				0.092		0.035 197
<b>R:0</b>	177 (89.8%)	126 (92.6%)	51 (83.6%)	118 (93.7%)	59 (83.1%)	
<b>R:1 o 2</b>	20 (10.2%)	10 (7.35%)	10 (16.4%)	8 (6.35%)	12 (16.9%)	
<b>Adyuvancia:</b>			0.242		0.451	157
<b>No</b>	71 (45.2%)	52 (50.0%)	19 (35.8%)	47 (49.0%)	24 (39.3%)	
<b>QT</b>	23 (14.6%)	14 (13.5%)	9 (17.0%)	14 (14.6%)	9 (14.8%)	
<b>QT-RT</b>	63 (40.1%)	38 (36.5%)	25 (47.2%)	35 (36.5%)	28 (45.9%)	
<b>Recidiva:</b>				0.004		0.024 195
<b>No</b>	92 (47.2%)	73 (54.5%)	19 (31.1%)	67 (53.6%)	25 (35.7%)	
<b>Sí</b>	103 (52.8%)	61 (45.5%)	42 (68.9%)	58 (46.4%)	45 (64.3%)	
<b>Estadaje TNM7ed:</b>						181
<b>IA</b>	18 (9.94%)	13 (9.92%)	5 (10.0%)	13 (10.7%)	5 (8.47%)	
<b>IB</b>	23 (12.7%)	20 (15.3%)	3 (6.00%)	18 (14.8%)	5 (8.47%)	
<b>IIA</b>	28 (15.5%)	21 (16.0%)	7 (14.0%)	19 (15.6%)	9 (15.3%)	



<b>IIB</b>	25 (13.8%)	20 (15.3%)	5 (10.0%)	18 (14.8%)	7 (11.9%)	
<b>IIIA</b>	38 (21.0%)	30 (22.9%)	8 (16.0%)	28 (23.0%)	10 (16.9%)	
<b>IIIB</b>	36 (19.9%)	24 (18.3%)	12 (24.0%)	23 (18.9%)	13 (22.0%)	
<b>IIIC</b>	13 (7.18%)	3 (2.29%)	10 (20.0%)	3 (2.46%)	10 (16.9%)	
<b>Estadaje TNM8ed:</b>						181
<b>IA</b>	18 (9.28%)	13 (9.63%)	5 (8.47%)	13 (10.4%)	5 (7.25%)	
<b>IB</b>	23 (11.9%)	20 (14.8%)	3 (5.08%)	18 (14.4%)	5 (7.25%)	
<b>IIA</b>	28 (14.4%)	21 (15.6%)	7 (11.9%)	19 (15.2%)	9 (13.0%)	
<b>IIB</b>	25 (12.9%)	20 (14.8%)	5 (8.47%)	18 (14.4%)	7 (10.1%)	
<b>IIIA</b>	51 (26.3%)	39 (28.9%)	12 (20.3%)	36 (28.8%)	15 (21.7%)	
<b>IIIB</b>	37 (19.1%)	18 (13.3%)	19 (32.2%)	18 (14.4%)	19 (27.5%)	
<b>IIIC</b>	12 (6.19%)	4 (2.96%)	8 (13.6%)	3 (2.40%)	9 (13.0%)	
<b>SG 5º año</b>	47,7%	54,2%	36,5%	55,7%	34,2%	
<b>Complicaciones</b>				0.640	0.965	199
<b>No</b>	93 (46.7%)	62 (45.3%)	31 (50.0%)	60 (47.2%)	33 (45.8%)	
<b>Sí</b>	106 (53.3%)	75 (54.7%)	31 (50.0%)	67 (52.8%)	39 (54.2%)	
<b>Tipo de complicaciones:</b>				0.217	0.276	199
<b>No complicaciones</b>	93 (46.7%)	62 (45.3%)	31 (50.0%)	60 (47.2%)	33 (45.8%)	
<b>Médicas</b>	39 (19.6%)	23 (16.8%)	16 (25.8%)	20 (15.7%)	19 (26.4%)	
<b>Quirúrgicas</b>	38 (19.1%)	29 (21.2%)	9 (14.5%)	27 (21.3%)	11 (15.3%)	
<b>Ambas</b>	29 (14.6%)	23 (16.8%)	6 (9.68%)	20 (15.7%)	9 (12.5%)	
<b>Complicaciones fuga:</b>				0.790	0.849	199
<b>No</b>	93 (46.7%)	62 (45.3%)	31 (50.0%)	60 (47.2%)	33 (45.8%)	
<b>Complicaciones distinto de fuga</b>	74 (37.2%)	53 (38.7%)	21 (33.9%)	48 (37.8%)	26 (36.1%)	
<b>Fuga</b>	32 (16.1%)	22 (16.1%)	10 (16.1%)	19 (15.0%)	13 (18.1%)	
<b>Complicaciones graves 1 clavier dindo &gt;=2:</b>				0.809	0.660	199
<b>No</b>	105 (52.8%)	71 (51.8%)	34 (54.8%)	69 (54.3%)	36 (50.0%)	
<b>Sí</b>	94 (47.2%)	66 (48.2%)	28 (45.2%)	58 (45.7%)	36 (50.0%)	
<b>Complicaciones graves 1 clavier dindo &gt;=3A:</b>				0.506	0.764	199
<b>No</b>	153 (76.9%)	103 (75.2%)	50 (80.6%)	99 (78.0%)	54 (75.0%)	

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

Sí	46 (23.1%)	34 (24.8%)	12 (19.4%)	28 (22.0%)	18 (25.0%)
<b>Complicaciones graves 2 clavien dindo &gt;=3B:</b>				0.590	0.875 199
No	171 (85.9%)	116 (84.7%)	55 (88.7%)	110 (86.6%)	61 (84.7%)
Sí	28 (14.1%)	21 (15.3%)	7 (11.3%)	17 (13.4%)	11 (15.3%)
<b>Complicaciones graves 3 clavien dindo &gt;=4:</b>				0.177	0.334 199
No	189 (95.0%)	128 (93.4%)	61 (98.4%)	119 (93.7%)	70 (97.2%)
Sí	10 (5.03%)	9 (6.57%)	1 (1.61%)	8 (6.30%)	2 (2.78%)
<b>Pobremente.cohesivos:</b>				<0.001	<0.001 199
No	127 (63.8%)	127 (92.7%)	0 (0.00%)	127 (100%)	10 (13.9%)
Sí	72 (36.2%)	10 (7.30%)	62 (100%)	0 (0.00%)	62 (86.1%)
<b>Distancia mínima</b>				0.868	0.862 150
<b>Bordes anastomosis=1</b>					
o <1	43 (28.7%)	29 (28.7%)	14 (28.6%)	25 (27.5%)	18 (30.5%)
[1,3]	65 (43.3%)	45 (44.6%)	20 (40.8%)	41 (45.1%)	24 (40.7%)
>=3	42 (28.0%)	27 (26.7%)	15 (30.6%)	25 (27.5%)	17 (28.8%)
<b>N ratio categórica:</b>				0.019	0.203 195
0	54 (27.7%)	43 (31.9%)	11 (18.3%)	40 (32.0%)	14 (20.0%)
[0.01, 0.09]	10 (5.13%)	7 (5.19%)	3 (5.00%)	7 (5.60%)	3 (4.29%)
[0.09, 0.25]	33 (16.9%)	27 (20.0%)	6 (10.0%)	22 (17.6%)	11 (15.7%)
>=0.25	98 (50.3%)	58 (43.0%)	40 (66.7%)	56 (44.8%)	42 (60.0%)
<b>N ratio categórica:</b>				0.003	0.042 195
0	54 (27.7%)	43 (31.9%)	11 (18.3%)	40 (32.0%)	14 (20.0%)
(0, 0.33]	57 (29.2%)	45 (33.3%)	12 (20.0%)	40 (32.0%)	17 (24.3%)
(0.33,0.66]	58 (29.7%)	35 (25.9%)	23 (38.3%)	33 (26.4%)	25 (35.7%)
>0.66	26 (13.3%)	12 (8.89%)	14 (23.3%)	12 (9.60%)	14 (20.0%)
<b>Linitis.AP:</b>				<0.001	<0.001 199
No	186 (93.5%)	137 (100%)	49 (79.0%)	127 (100%)	59 (81.9%)
Sí	13 (6.53%)	0 (0.00%)	13 (21.0%)	0 (0.00%)	13 (18.1%)
<b>LODDS categorizado:</b>				0.002	0.045 193
<=-1.5	87 (45.1%)	69 (51.5%)	18 (30.5%)	63 (50.8%)	24 (34.8%)
(-1.5,-1]	15 (7.77%)	13 (9.70%)	2 (3.39%)	11 (8.87%)	4 (5.80%)
(-1,0]	55 (28.5%)	35 (26.1%)	20 (33.9%)	33 (26.6%)	22 (31.9%)
>0	36 (18.7%)	17 (12.7%)	19 (32.2%)	17 (13.7%)	19 (27.5%)

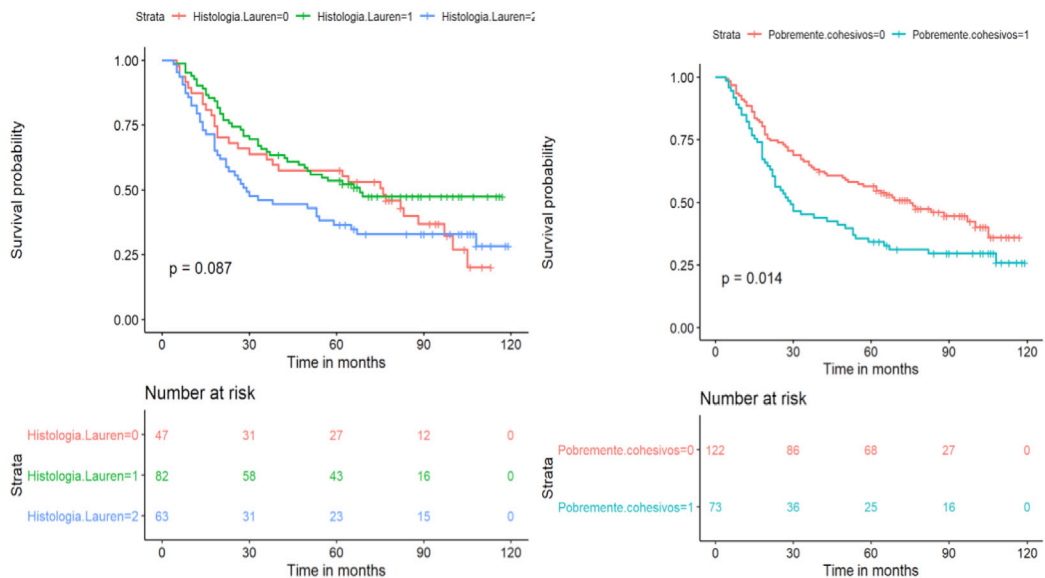
## 4.2.2 ANATOMÍA PATOLÓGICA

Los 199 pacientes han sido filiados según las clasificaciones de Lauren y la de la OMS, sobre los que se detallan sus características clínico-patológicas y la supervivencia mediana en la **tabla 4.2.1**.

En cuanto a la clasificación de Lauren 82 casos (41,2%) pacientes presentaron cáncer gástrico de tipo intestinal (CGI), 62 (31,2%) cáncer gástrico difuso (CGD) y 55 casos (27,6%) indeterminados o mixtos. Respecto a la clasificación de la OMS 72 casos (37,5%) fueron clasificados de tipo papilar o tubular (intestinal), 72 (29,4%) pobremente cohesivos (PC) de los cuales: 29 (15,1%) de anillo de sello (CCAS) y 10 (5,21%) mucinoso (CM).

En la **tabla 4.2.1** se muestran las características clínico patológicas según la principal variable de estudio, es decir, si los tumores son carcinomas Difusos (n=62) o pobremente cohesivos (n=72).

**Figura 4.2.1: Análisis Kaplan-Meier de la supervivencia global de los subtipos de cáncer gástrico según las clasificaciones de Lauren: (0: indeterminado; 1: CGI; 2: CGD) y de la OMS (1:PC; 0: Otros).**



### 4.2.3 LINITIS PLÁSTICA

Durante los 5 años entre 2010 y 2014 han sido resecaos con intención curativa 199 casos de cáncer gástrico, entre los cuales 62 (32.8%) fueron de tipo difuso y 13 (6,5%) de ellos presentaron LP.

Por otro lado, en dicho periodo de tiempo han sido confirmados por anatomía patológica otros 6 casos de linitis plástica, que han sido excluidos del análisis comparativo por tratarse de tumores de localización extragástrica: tres casos de cánceres de localización colorrectal, solo uno de ellos de localización primaria rectal y dos como metástasis a distancia de cáncer gástrico difuso en el contexto del proceso conocido como “escudo de Blumer”; dos de localización esofágica primaria y otro de localización en intestino delgado como metástasis de cáncer gástrico difuso.

De los 19 tumores con “linitis plástica” de localización gástrica, 13 (68%) pudieron ser resecaos con intención curativa, todos ellos tumores localmente avanzados T3 o T4 y N+ (Estadíos II/III). El 32% restante presentó como hallazgo intraoperatorio enfermedad a distancia M1, a modo de carcinomatosis peritoneal, por lo que no se realizó resección tumoral completa (R2). Únicamente el 61,5% de los tumores resecaos pudo considerarse R0, ya que el 38,5% presentó afectación microscópica del margen de resección (R1). Los casos con resección paliativa recibieron tratamiento quimioterápico paliativo y aquellos con resección R0 fueron tratados mediante QT-RT (Mc Donald).

Ha presentado linitis plástica el 6,5% del total de casos resecaos con intención curativa. Los pacientes con LP fueron un 76,9% hombres, con una edad media de 64,8 (12,2) años. Todos los tumores fueron pobremente diferenciados o indiferenciados y de histología difusa según la clasificación de Lauren (15,9 % de los tumores difusos) y según la clasificación de la OMS el 38,5% presentó histología de células en anillo de sello y 61,5% de tipo pobremente cohesivo. Por otro lado, destaca que el 100% de los casos de LP presentó afectación tras mural gástrica T3/T4 frente al 65% del resto de casos y que la carga ganglionar tumoral fue muy importante, N0: 7,69% vs 30,1% y N3: 71,6% vs 23,5% respectivamente.

#### Implicación pronóstica de la LP

La mediana de **supervivencia global** de los pacientes con LP fue de 12 meses (IC 95% 1-54), 14 meses (IC 95% 9-27) en el grupo de los tumores resecaos (16,8 meses en los R0) y 3 meses en los no resecaos. En el análisis univariado, la supervivencia a 1, 3 y 5 años fue significativamente menor que en los grupos de tumores difusos sin linitis plástica y el resto de casos de la serie, como se muestra en los gráficos de Kaplan-Meier (Fig 2.2) y en la tabla 2.2. La supervivencia mediana de la LP fue significativamente inferior en comparación con los casos de carcinoma gástrico difuso no linitis plástica y el resto de adenocarcinomas resecaos en el mismo periodo de tiempo 14 meses (IC 95% 9-27)

vs 51.5 meses (IC 95% 25-70) y 62 meses (IC 95% 43-68) . En el análisis multivariante de supervivencia global la presencia de linitis plástica se ha mostrado como un factor de riesgo para la mortalidad, HR 3,26 (IC 95% 1,58-6,72). Del mismo modo se han presentado como factores independientes de supervivencia la infiltración ganglionar (N) ( $p < 0,002$ ), la linfadenectomía con más de 15 ganglios ( $p < 0,001$ ), la resección tumoral completa (R0) ( $p < 0,001$ ) y el tratamiento adyuvante recibido ( $p < 0,013$ ). (Tabla 4.2.2).

La LP también se ha mostrado como factor independiente de mal pronóstico en el análisis multivariante dentro de los difusos con un HR de 2,97 (1,49;5,94).

**Figura 4.2.2: Análisis Kaplan-Meier de la supervivencia global de los casos de LP (AP=1) frente al resto de tumores (AP=0).**

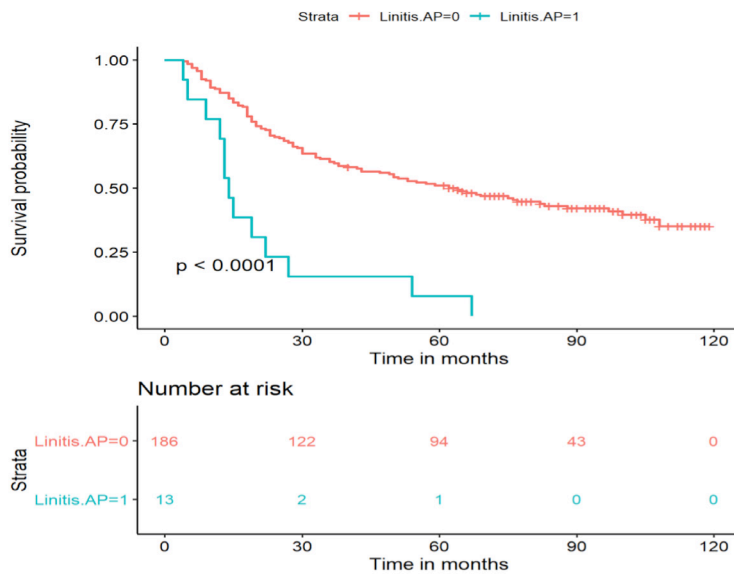


Tabla 4.2.2: Análisis univariado y multivariado de supervivencia global.

	Análisis Univariante			Análisis Multivariante		
	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
<b>Edad</b>	1.02	(1.00;1.03)	0.028	1	(0.98;1.03)	0.7
<b>Sexo: Mujeres</b>	0.93	(0.63;1.35)	0.689	1.33	(0.85;2.09)	0.213
<b>Linitis AP: Sí</b>	4.11	(2.28;7.39)	<0.001	3.26	(1.58;6.72)	0.001
<b>Intestinal (ref)</b>			0,087			
<b>Difuso</b>	1,611	(1.05;2,47)	0,028			
<b>Localización (ref Cardias)</b>			0.106			
<i>Cuerpo</i>	0.59	(0.35;1.00)	0.049			
<i>Antro</i>	0.67	(0.43;1.05)	0.080			
<b>Grado diferenciación (ref 1)</b>			0.001			
2	1.86	(1.02;3.38)	0.041			
3-4	2.56	(1.52;4.32)	<0.001			
<b>T patológico_rec1 (ref T1)</b>			<0.001			
2	1.48	(0.60;3.64)	0.389			
3	3.74	(1.71;8.17)	0.001			
4	7.93	(3.49;18.0)	<0.001			
<b>N patológico rec (ref N0)</b>			<0.001			
<b>N Patológico: N1</b>	1.56	(0.82;2.96)	0.173			
<b>N Patológico: N2</b>	3.28	(1.92;5.60)	<0.001	3.44	(1.57;7.54)	0.002
<b>N Patológico: N3</b>	5.13	(2.07;12.7)	<0.001	4.33	(2.01;9.33)	<0.001
<b>Linfad.D: D1</b>	0.29	(0.15;0.56)	<0.001	0.15	(0.07;0.33)	<0.001
<b>Linfad.D: D2</b>	0.28	(0.14;0.56)	<0.001	0.14	(0.06;0.31)	<0.001
<b>R: (ref R0)</b>			<0.001			
<b>R: 1 o 2</b>	3,01	(1.84;4.91)	<0.001	3.62	(1.92;6.81)	<0.001
<b>Adyuvancia: (ref No)</b>			0,003			
<b>Adyuvancia: QT</b>	0.76	(0.44;1.31)	0.318	0.43	(0.22;0.84)	0.013
<b>Adyuvancia: QT-RT</b>	0.49	(0.32;0.74)	0.001	0.31	(0.18;0.54)	<0.001

### 4.2.4 ESTADIAJE

La mayoría de los tumores se diagnostican en estadios avanzados según la TNM 8° edición (45,2% en estadio III), sobre todo a expensas de los tumores difusos CGD (66,1% en estadio III).

La mediana (rango intercuartil) de seguimiento fue de 53 (19,84) meses y la mediana de SG de 46 (13 meses). La SG a uno, 3 y 5 años fue del 81,5%, 62,3% y 47,7%, respectivamente. La mediana de SV libre de enfermedad7 fue de 37 (11,83) meses, siendo a 5 años del 44,3%. La SG a 5 años según el estadio tumoral patológico fue del 83% para el estadio I, del 66% para el estadio II y del 27,6% para el estadio III (p=0,0001).

Respecto a la 7° edición del TNM se puede ver una importante migración de casos hacia estadios IIIb y IIIc de la 8° edición del 13% en cada estadio. **Tabla 4.2.3.**

**Figura 4.2.3. Análisis Kaplan-Meier de la supervivencia global según estadio. 7° y 8° ediciones de TNM.**

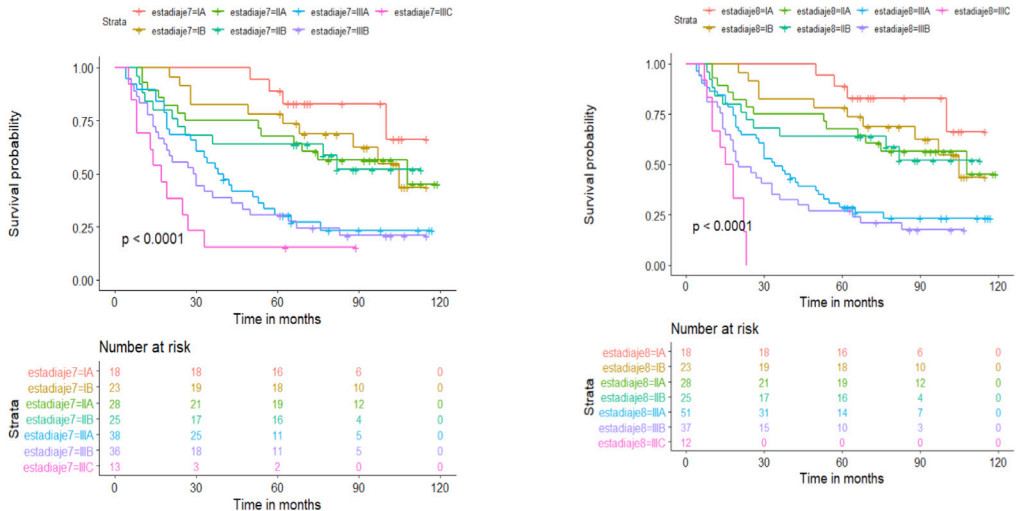


Tabla 4.2.3: Migración de estadiaje.

	IA	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
IA	18 (9.94%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
IB	0 (0.00%)	23 (12.7%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
IIA	0 (0.00%)	0 (0.00%)	28 (15.5%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
IIB	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	25 (13.8%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
IIIA	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	38 (21.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
IIIB	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	13 (7.18%)	23 (12.7%)	0 (0.00%)
IIIC	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	13 (7.18%)	0 (0.00%)

#### 4.2.5 RESECCIÓN LOCAL

##### Infiltración local (T)

Un muy importante número de casos totales se presentó como un tumor transmural (T3 47,2%; T4 20,1%), sobre todo a expensas de los tumores difusos donde este porcentaje asciende al 72,6%. En el 8,4% de los casos hubo que realizarse una resección ampliada a órganos vecinos para intentar garantizar la resección R0 (Bazo, Páncreas, hígado, colon). Este porcentaje fue mayor en los CGD (11,3%). Los márgenes de resección fueron positivos en el 11,2% de los casos (17,7% en los CGD/ 16,7% en los PC). Con todo ello pudo garantizarse la resección R0 en el 89,8% de los casos, siendo significativamente menor en el caso de los tumores pobremente cohesivos (83,1%).

La **infiltración local** con presentación a modo de tumor transmural, se mostró como factor predictor de supervivencia en el **análisis univariado**, con HR para el T3 de 3,74 (IC 95%:1,71-8,17) y para T4 de 7,93 (IC 95%:3,49-18) y la necesidad de resección multivisceral HR 2,11 (IC 95%:1,18-3,77). El **análisis multivariante** mostró como factor pronóstico independiente para supervivencia global la resección R0, presentándose las resecciones R1-2 un HR de 3,63 (IC 95%:1,92-6,81).

##### Técnica quirúrgica y márgenes quirúrgicos

Un 34,7% de los tumores PC precisó una gastrectomía total frente a un 31,6% del total de casos.

Para valorar la importancia de los márgenes negativos en la consecución de una resección R0 y valorar su implicación pronóstica, estos datos se han analizado de manera

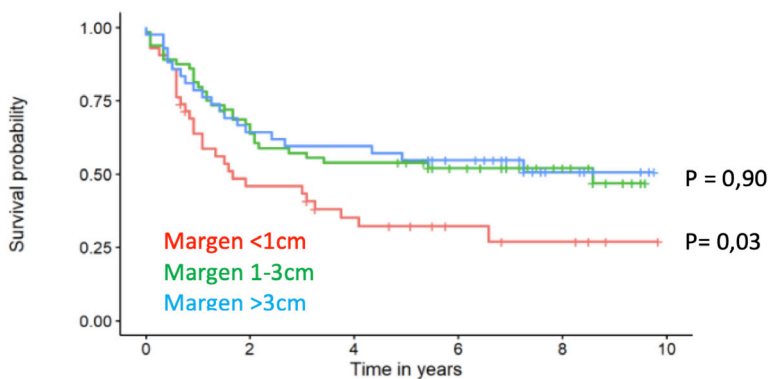


independiente. En 156 pacientes existía una medición de la distancia entre el margen de resección quirúrgica y el tumor. Se observó que en el 28% de los casos la distancia era mayor de 3cm; en el 43,3% entre 1 y 3 cm y en el 28,7% menos de 1 cm del tumor (14,2% de los casos se consideró un margen <5mm y por lo tanto se consideró como un margen de resección afecto). El **margen proximal** es el de mayor compromiso longitudinal, presentando un margen menor de un centímetro el 35% de las resecciones, frente a un 20,5% de los márgenes distales. Del mismo modo son las **gastrectomías totales** las más comprometedoras respecto al margen quirúrgico, con un 43,6% de margen menor de 1cm frente al 23,8% de la gastrectomía subtotaes. En las gastrectomías totales el 35,1% presenta un margen proximal menor de 1cm

De los tumores pobremente cohesivos en los que existía registro de los márgenes quirúrgicos, se observó que en el 28,8% de los casos la distancia era mayor de 3cm; en el 40,7% entre 1 y 3 cm y en el 30,5% menos de 1 cm del tumor (16,7% de los casos se consideró un margen <5mm y por lo tanto afecto).

En el análisis **univariante supervivencia libre de enfermedad** se objetivó que los márgenes de resección mayores de 1cm se mostraron como factor protector de recidiva HR 0,20 (IC 95%: 0,08- 0,53); y mayor de 3cm HR 0,18 (IC 95%: 0,07-0,5). De este modo, las curvas de Kaplan-Meier muestran un riesgo de recidiva significativamente mayor en los casos de márgenes de resección menor de 1cm frente a los casos con márgenes más amplios, sin que existan diferencias entre los márgenes de 1 a 3cm y más de 3cm.

**Figura 4.2.4. Análisis Kaplan-Meier de la supervivencia libre de enfermedad según márgenes quirúrgicos.**



En el análisis **multivariante** el margen quirúrgico <1cm no se muestra protector respecto al margen afecto HR 1,01 (IC 95%: 0,43- 2,35), a diferencia de los márgenes de 1 a 3cm HR: 0,59 (IC 95%: 0,29-1,21), y mayor de 3cm HR 0,71 (IC 95%: 0,34- 1,48). En el análisis no afectó que la localización del margen de resección fuera proximal, en caso de gastrectomías totales por tumores proximales, o distal en caso de tumores distales.

Lo mismo sucede con el análisis de la **supervivencia global**, en los que los márgenes de resección mayores de 1cm resultan protectores: de 1 a 3cm HR 0,46 (IC 95%: 0,27- 0,76) y en casos mayores de 3cm HR 0,5 (IC 95%: 0,29- 0,89), no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

#### **Tabla. 4.2.4 (Anexo 2): Análisis univariante y multivariante de supervivencia global y libre de enfermedad.**

#### **4.2.6 LINFADENECTOMÍA**

Los tumores resecaos se han presentado en su gran mayoría (71,4%) con afectación ganglionar (N0: 28,6%; N1:18,9; N:26,5%; N3a: 19,4%; N3b 6,63%). Dicha afectación se ha presentado en un grado significativamente mayor en los tumores gástricos de tipo difuso CGD (p: 0,001). (N0: 18,3%; N1:15; N:21,7%; N3a: 30%; N3b 15%).

La estadificación de la infiltración ganglionar (N) se ha mostrado como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariante de supervivencia global HR para N2: 2.75 (1.43-5.3) y N3a/N3b: 6.23 (2.89-13.41). La supervivencia a 5 años de estos pacientes fue de 80.3% para N0, 59.4 % para N1, 28.8% para N2 y 25.5% para N3.

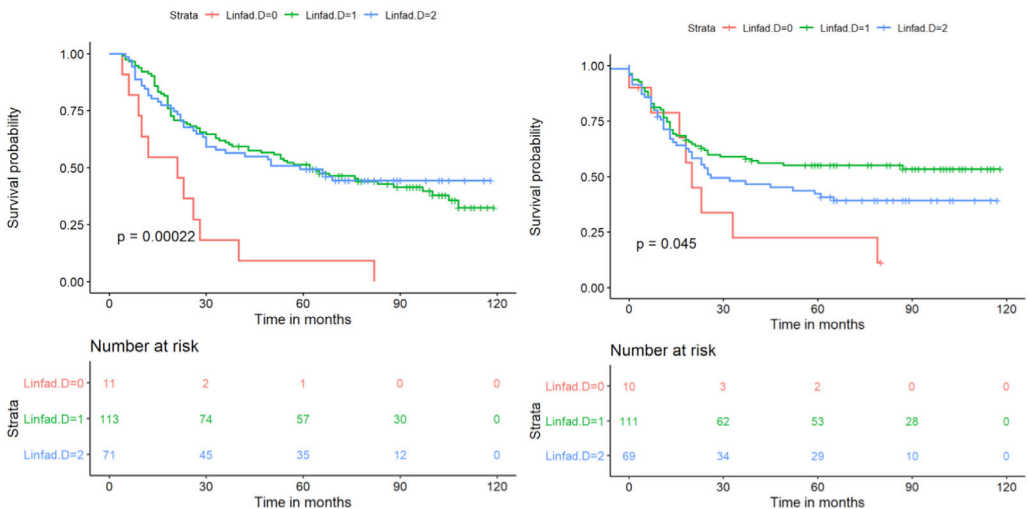
De los casos en los que se especificaba el tipo de linfadenectomía, se ha realizado una linfadenectomía D1 en el 57,7%, D2 en el 36,9% y una linfadenectomía únicamente paliativa en el 5,2%. En cuanto a los CGD se ha realizado linfadenectomía D1 en el 50% y D2 en el 43,3%. Se han obtenido de mediana 16,2 ganglios en la linfadenectomía D1 con 4,61 ganglios positivos y 20,9 ganglios en la linfadenectomía D2 con 5,51 ganglios positivos sin que existan diferencias estadísticamente significativas entre los ganglios positivos de ambas linfadenectomías.

Se han obtenido más de 15 ganglios en el 56% de los casos, no obstante no ha habido diferencias en cuanto a la supervivencia global entre los grupos (HR >15: 0.81 [0.56-1.16]). Sin embargo, en el **análisis multivariante** de supervivencia global, el tipo de linfadenectomía realizada si se ha mostrado como un factor protector cuando se realiza una linfadenectomía D1 HR 0,15 (0,07;0,33) o D2 HR0,14 (0,06; 0,31) respecto a la linfadenectomía paliativa. No han existido diferencia entre D1 y D2 para la supervivencia global, ni para la supervivencia libre de enfermedad.

**Tabla 4.2.5. Tipo de linfadenectomías.**

	[ALL]	Paliativa	D1	D2	p.overall	N
	N=192	N=10; 5,2%	N=111; 57,7%	N=71; 36,9%		
<b>Ganglios +</b>	4.81 [4.02;5.60]	2.10 [0.21;3.99]	4.61 [3.61;5.62]	5.51 [4.08;6.95]	0.159	191
<b>Número total de ganglios</b>	16.5 [15.3;17.7]	7.30 [4.96;9.64]	16.2 [14.7;17.6]	20.9 [19.0;22.8]	<0.001	192

**Figura 4.2.5: Análisis Kaplan-Meier de la supervivencia global y libre de enfermedad según linfadenectomía.**



N ratio y otros sistemas de evaluación de la infiltración ganglionar:

Con el fin de valorar su eficacia (AUC) y utilidad clínica, se han realizado tres diferentes modelos de análisis multivariante para la valoración de los sistemas alternativos de la estadificación ganglionar mediante el método del ratio ganglionar (NR): NR0=0%, 1%≤NR1<9%, 9%≤NR<25% y NR3≥25%, LODDS log([pLN + 0.5] / [nLN + .5]): LODDS1≤-1.5, -1.5<LODDS2≤-1, -1<LODDS3≤0 y LODDS4>0. y ratio nodal en terciles (NRt): NRt0=0, 0<NRt1≤0.33, 0.33<NRt2≤0.66, NRt3>0.66.

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

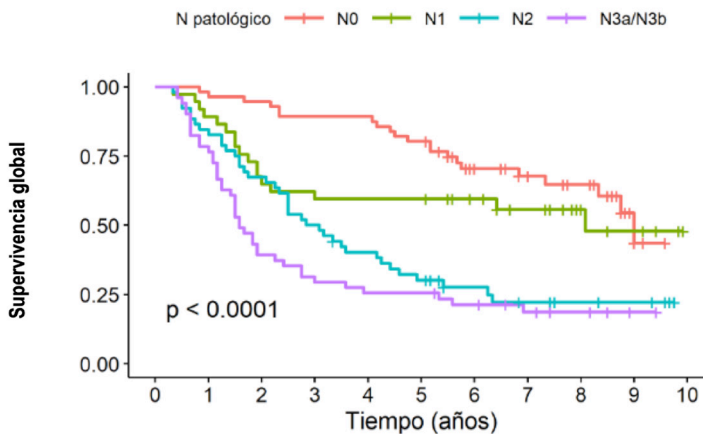
La estadificación de la infiltración ganglionar mediante el sistema alternativo (NR) se ha mostrado como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariante de supervivencia HR para NR3: 3.01 (1.72;5.24). La supervivencia a 5 años de estos pacientes fue de 75,8% para NR 0, 80 % para NR 1, 54,5% para NR 2 y 25.5% para NR 3. El AUC 0.751(0.708;0.794).

La estadificación de la infiltración ganglionar mediante el sistema alternativo (LODDS) se ha mostrado como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariante de supervivencia HR para LODDS 2: 2.6 (1.6;4.2) y LODDS3: 4.9 (2.86;8.38). La supervivencia a 5 años de estos pacientes fue de 72,4% para LODDS1, 60 % para LODDS 2, 29.1% para LODDS 3 y 13.9% para LODDS 4. El AUC 0.76 (0.722;0.799).

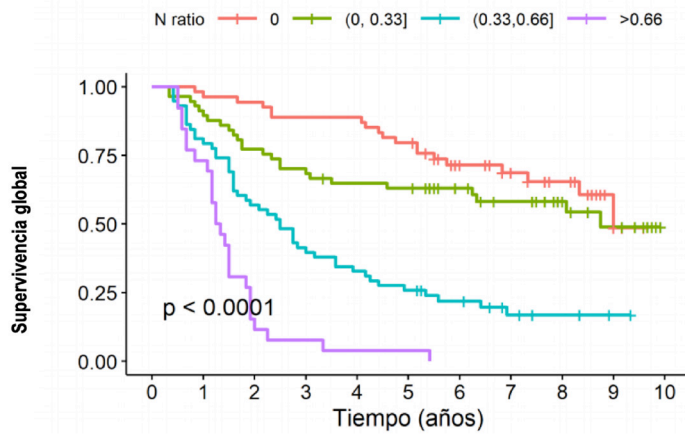
La estadificación de la infiltración ganglionar mediante el sistema alternativo (NRt) se ha mostrado como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariante de supervivencia HR para NRt2: 2.36 (1.35;4.13) y NRt3: 6.17 (3.18;11.97). La supervivencia a 5 años de estos pacientes fue de 75,8% para NRt 0, 61,4 % para NRt 1, 25,8% para NRt 2 y 3,84% para NRt 3. El AUC 0.755(0.716;0.794).

**Figura 4.2.6 Análisis Kaplan-Meier. Supervivencia global de los sistemas de estadificación. a) Según la clasificación N del TMN. b) Según el ratio nodal expresado en terciles. c) Según el LODDS.**

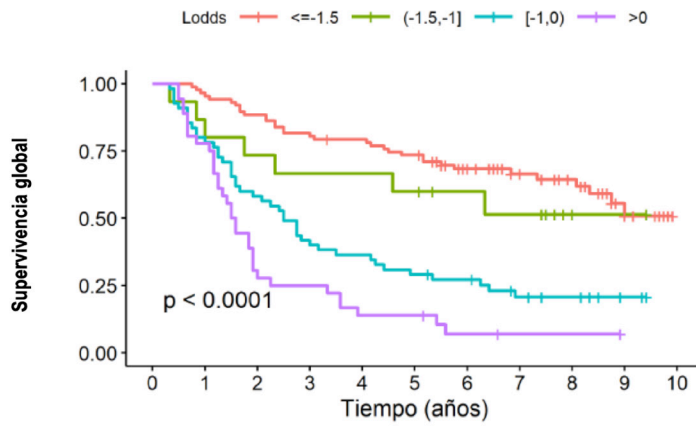
a)



b)



c)



**Taula/Tabla. 4.2.6: Análisis multivariante de supervivencia global de los sistemas de estadificación de diseminación linfática.**

	1 ANALISIS MULTIBARIANTE			2 ANALISIS MULTIBARIANTE			3 ANALISIS MULTIBARIANTE			4 ANALISIS MULTIBARIANTE		
	HR	%95CI	p	HR	%95CI	p	HR	%95CI	p	HR	%95CI	p
<b>Edad</b>	1.79	[1.16;2.76]	0.009	1.61	[1.08;2.4]	0.019	1.86	[1.24;2.79]	0.003	1.75	[1.18;2.58]	0.005
<b>Localización</b>												
<b>Cuerpo</b>	0.57	[0.33;0.99]	0.046				0.51	[0.29;0.89]	0.018			
<b>Antro</b>	0.83	[0.5;1.35]	0.446				0.79	[0.5;1.26]	0.326			
<b>Diferenciado.</b>	1.27	[0.66;2.46]	0.476									
<b>Pobre dif./ indif.</b>	1.86	[1.05;3.3]	0.033									
<b>T2</b>	0.85	[0.929;2.54]	0.776	0.83	[0.32;2.17]	0.019	0.93	[0.36;2.37]	0.874	1.08	[0.43;2.74]	0.871
<b>T3</b>	1.62	[0.58;4.53]	0.36	2.24	[0.96;5.22]	0.061	2.03	[0.9;4.59]	0.09	2.4	[1.02;5.64]	0.044
<b>T4a/T4b</b>	3.01	[1.0;8.95]	0.048	4.83	[1.98;11.79]	<0.001	4.12	[1.71;9.91]	0.002	4.07	[1.64;10.01]	0.002
<b>N pato. (TNM)</b>												
<b>N0</b>	Ref.											
<b>N1</b>	1.84	[0.86;3.92]	0.116									
<b>N2</b>	2.75	[1.43;5.3]	0.002									
<b>N3a/N3b</b>	6.23	[2.89;13.41]	<0.001									
<b>NR</b>												
<b>NR0</b>				Ref.								
<b>NR1</b>				0.59	[0.13;2.6]	0.487						
<b>NR2</b>				1.13	[0.56;2.31]	0.733						
<b>NR3</b>				3.01	[1.72;5.24]	<0.001						
<b>LODDS</b>												
<b>LODDS1</b>							Ref.					
<b>LODDS2</b>							1.55	[0.66;3.64]	0.315			
<b>LODDS3</b>							2.6	[1.6;4.2]	<0.001			
<b>LODDS4</b>							4.9	[2.86;8.38]	<0.001			
<b>NR terciles</b>												
<b>NRm0</b>										Ref.		
<b>NRm1</b>										0.9	[0.49;1.64]	0.725
<b>NRm2</b>										2.36	[1.35;4.13]	0.003
<b>NRm3</b>										6.17	[3.18;11.97]	<0.001

En la presente cohorte, los tres sistemas de valoración de la afectación ganglionar pueden considerarse buenos predictores pronósticos según las curvas ROC, con áreas bajo la curva [AUC] >0,75 (Tabla 4). En la valoración concreta de los casos con linfadenectomías subóptimas (< 15 ganglios), el sistema LODDS fue el que mejor puntuación obtuvo con un AUC=0,734. Asimismo, los sistemas NRt y categoría N del TNM mostraron valores similares: AUC=0,706 y AUC=0,711, respectivamente (**Tabla 4.2.7**).

**Taula/Tabla 4.2.7. Comparación del valor pronóstico de los diferentes sistemas de estadificación.**

	Test ROC	%95 CI
N patológico (TNM 7º edición)	0.764	[0.724;0.804]
NRt	0.755	[0.716;0.794]
LODDS	0.76	[0.722;0.799]
<b>&lt; 15 ganglios</b>		
N patológico (TNM)	0.711	[0.644;0.777]
NRt	0.706	[0.641;0.77]
LODDS	0.734	[0.675;0.794]
<b>&gt; 15 ganglios</b>		
N patológico (TNM)	0.759	[0.7;0.818]
NRt	0.753	[0.701;0.805]
LODDS	0.746	[0.692;0.8]

**Taula/Tabla 4.2.8. Analisis multivariante de supervivencia global de los sistemas de estadificación de diseminación linfática en DGC.**

	Pacientes	Supervivencia a 5 años	ANALISIS UNIBARIANTE			ANALISIS MULTIBARIANTE		
			HR	%95CI	p	HR	%95CI	p
<b>DGC</b>	62							
<b>N pato.</b>								0.735 (0.666;0.805)
<b>(TNM) (N0)</b>	11 (18,3%)	(47,4%)						
<b>N1</b>	9 (%15)	(23,2%)	3,13	[0,88;11,2]	0.079	3,41	[0,95;12,32]	0.061
<b>N2</b>	13 (%21,7)	(15,8%)	4,81	[1,53;15,1]	0.007	4,27	[1,36;13,4]	0.013
<b>N3</b>	27 (%45)	(13,7%)	5,49	[1,87;16,1]	0.002	6,05	[2,05;17,85]	0.001
								0.73 (0.659;0.801)
<b>LODDS (1)</b>	18 (30,5%)	(67,7%)						
<b>LODDS2</b>	2 (3,39%)	(9,68%)	1,68	[0,69;4,12]	0.253	24,27	[4,3;137]	<0.001
<b>LODDS3</b>	20 (33,9%)	(17,2%)	3,88	[2,33;6,47]	<0,001	2,52	[1,05;6,03]	0.039
<b>LODDS4</b>	19 (27,5%)	(5,38%)	6,49	[3,77;11,2]	<0.001	4,54	[1,93;1072]	<0.001
								0.725 (0.654;0.797)
<b>NR (0)</b>	11 (18,3%)	(46,7%)						
<b>NR1</b>	3 (5%)	(13,3%)	1,18	[0,13;10,6]	0.882	1,52	[0,17;4,58]	0.709
<b>NR2</b>	6 (10%)	(6,67%)	5,43	[1,44;20,4]	0.012	7,74	[1,98;30,2]	0.003
<b>NR3</b>	40 (66,7%)	(%33,3%)	5,17	[1,81;14,7]	0.002	4,95	[1,73;14,16]	0,003
								0.755 (0.755;0.794)
<b>NRt (0)</b>	11 (18,3%)	(75,8%)						
<b>NRm1</b>	12 (20%)	(61,4%)	2,67	[0,78;9,15]	0,117	3,87	[1,08;13,85]	0.037
<b>NRm2</b>	23 (38,3%)	(25,8%)	4,79	[1,61;14,2]	0.005	4,08	[1,37;12,2]	0.012
<b>NRm3</b>	14 (23,3%)	(3,84%)	10,3	[3,25;32,7]	<0.001	11,72	[3,63;37,85]	<0.001

En cuanto a los DGC la estadificación de la infiltración ganglionar mediante el sistema alternativo (**NRt**) se ha mostrado como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariante de supervivencia HR para NRt1: 3,87 (1.08;13,85), NRt2: 4,08 (1,37;12,2) y NRt3: 11,72 (3,63;37,85). La supervivencia a 5 años de estos pacientes fue de 75,8% para NRt 0; 61,4 % para NRt 1; 25,8% para NRt 2 y 3,84% para NRt 3. El AUC 0.755(0.716;0.794).



#### 4.2.7 COMPLICACIONES

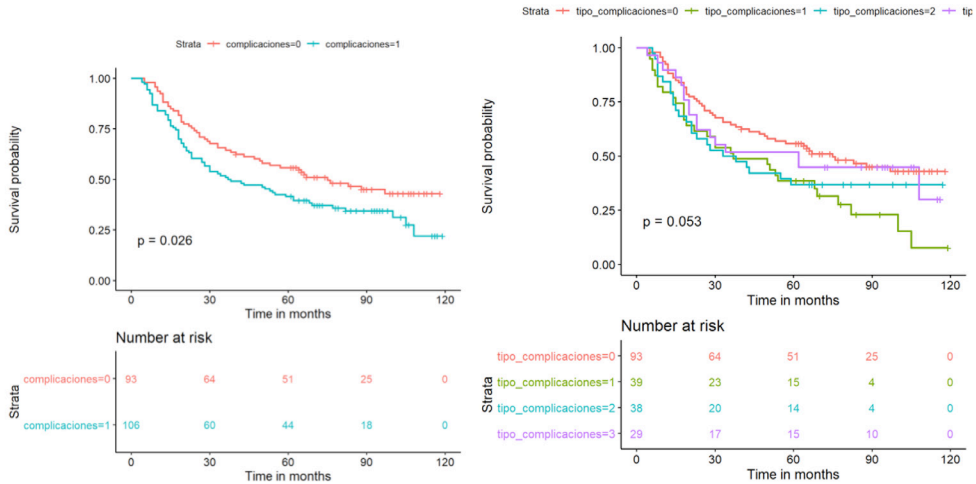
Como consecuencia de la cirugía han presentado complicaciones el 53,3% de los pacientes. 19,6% han sido complicaciones médicas como neumonía, insuficiencia cardiaca u otras; 19,1% quirúrgicas y 14,6% complicaciones médicas y quirúrgicas. El 16,1% de los pacientes presentó infección profunda quirúrgica, 18 casos (9%) de dehiscencia anastomótica. El 47,2% de las complicaciones han precisado mínimo tratamiento médico (CD>2) y 28 pacientes (14,1%) han requerido reintervención quirúrgica (CD>3b). Ha fallecido como consecuencia de la cirugía (CD=5) en los primeros 4 meses 9 pacientes que ha sido excluidos del análisis de supervivencia.

**Taula/ Tabla 4.2.9: Análisis univariante de supervivencia y complicaciones.**

	Supervivencia global			Libre de enfermedad		
	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
<b>Complicaciones SI</b>	1,51	(1,05;2,16)	0,027	1,24	(0,81;1,87)	0,319
<b>CD&gt;2</b>	1,54	(1,07;2,20)	0,019	1,06	(0,69;1,61)	0,802
<b>CD&gt;4</b>	0,92	(0,38;2,25)	0,855	3,52	(1,08;11,4)	0,037
<b>Compl Médicas</b>	1,83	(1,16;2,88)	0,009	1,29	(0,69;2,40)	0,431
<b>Compl Qx</b>	1,5	(0,92;2,44)	0,106	1,39	(0,76;2,55)	0,282
<b>Fuga</b>	1,55	(0,93;2,59)	0,09	1,61	(0,86;2,99)	0,134

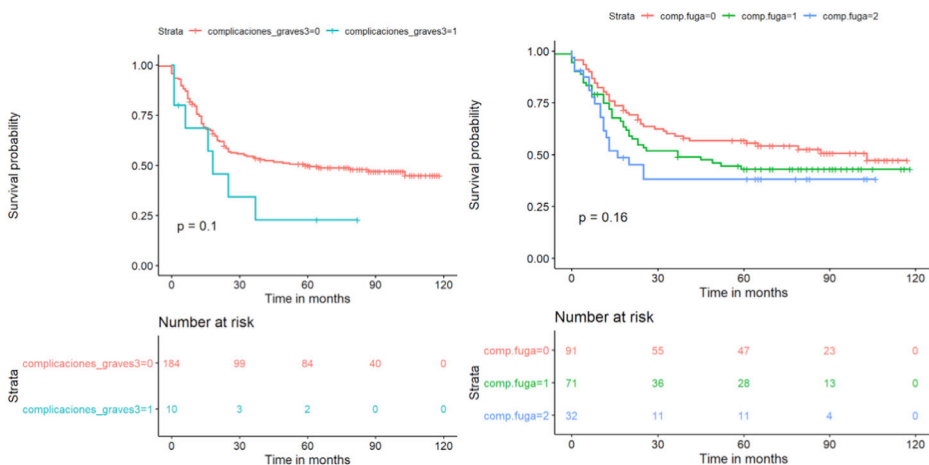
En el análisis univariante de supervivencia, la presencia de complicaciones, se ha mostrado como factor relacionado con la supervivencia global HR: 1,51 (1,05; 2,16). Las complicaciones que precisaron algún tipo de tratamiento CD>2 HR: 1,54 (1,07; 2,20). En concreto las complicaciones médicas presentan un HR de 1,83 (1,16;2,88).

Figura 4. 2.7: a) Kaplan Meier Complicaciones, b) Tipo de complicaciones.



En cuanto a la supervivencia libre de enfermedad, las complicaciones graves (CD>4) de las cuales el 70% fueron como consecuencia de fuga anastomótica y el 80% requirió reintervención, presentan un HR: 3,52 (1,08-11,4).

Figura 4.2.8: a) Kaplan Meier Complicaciones graves, b) Fuga anastomótica y del muñón duodenal.



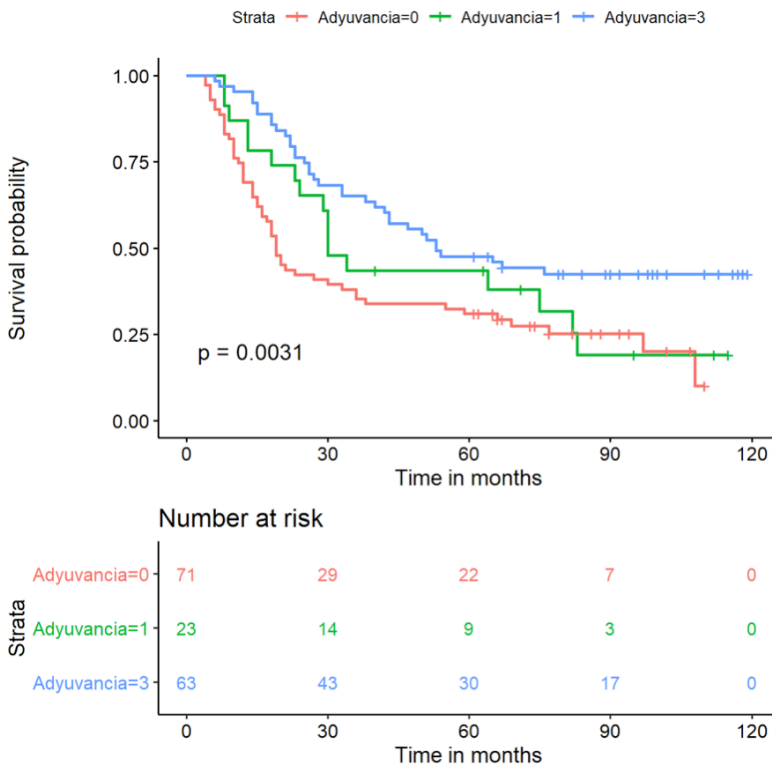
### 4.2.8 ADYUVANCIA

#### Postoperatoria:

Más de la mitad de los casos precisaron adyuvancia posoperatoria (54,8%), la mayoría (40,2%) mediante radio y quimioterapia postoperatoria (Mc Donald) y el resto (14,6%) únicamente tratamiento quimioterápico.

Se han incluido en el análisis de supervivencia aquellos casos en los que por su estadiaje localmente avanzado (>T3N1) o por otras circunstancias (linfadenectomía limitada o margen de resección afecto) se consideró la necesidad de tratamiento adyuvante, 157 pacientes (78 %). El tratamiento adyuvante se ha mostrado como factor independiente de supervivencia en el análisis multivariante de supervivencia global, tanto en su modalidad QT-RT (Ady 3) con un HR de 0,43 (0,22;0,84) como para los que recibieron solo quimioterapia adyuvante (Ady 1) HR: 0,31 (0,18;0,54) respecto a los que no recibieron tratamiento adyuvante alguno.

Figura 4. 2.9: a) Kaplan Meier Adyuvancia.



### **Carcinoma Difuso (DGC):**

Más de la mitad de los DGC precisaron adyuvancia posoperatoria (64,2%), la mayoría (47,2%) mediante radio y quimioterapia postoperatoria según esquema de Mc Donald y el resto (17%) únicamente tratamiento quimioterápico.

El tratamiento adyuvante combinando (QT-RT) se ha mostrado como el único factor independiente de supervivencia en el análisis multivariante de supervivencia global, con un HR de 0,25 (0,12;0,49). El tratamiento con quimioterapia adyuvante ha presentado un HR: 0,47 (0,2;1,1).

### **Neoadyuvancia:**

Aunque con el fin de no interferir en la posible filiación del subtipo histológico habían sido excluidos de un primer análisis, se han analizado de manera independiente los 15 casos de pacientes con cáncer gástrico que habían recibido neoadyuvancia durante el mismo periodo de tiempo 2010-2014. Se trata de un reducido grupo de pacientes debido a la reciente implantación del tratamiento neoadyuvante del cáncer gástrico en el Hospital de Cruces.

De los 15 pacientes 6 fueron carcinomas de tipo difuso y todos ellos se encontraban en un estadio preoperatorio localmente avanzado >T3N+. Todos los pacientes recibieron el esquema de tratamiento MAGIC (EOX). Durante el seguimiento dos presentaron progresión tumoral, uno de ellos por metástasis hepática y el otro por carcinomatosis peritoneal diagnosticada intraoperatoriamente.

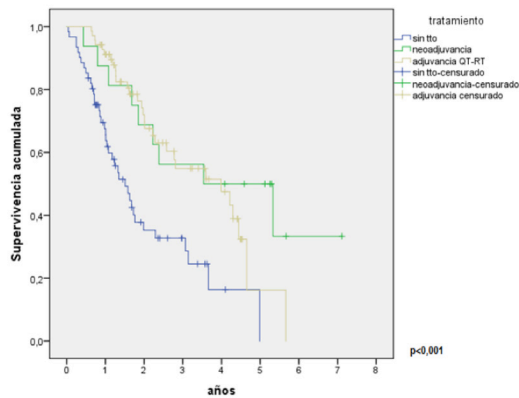
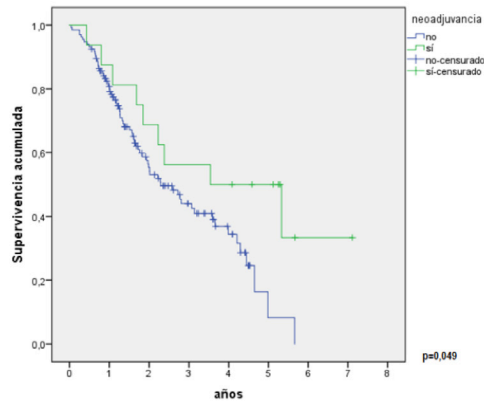
En 9 casos (60%) se pudo observar una regresión tumoral parcial y en 2 casos (13%) se consiguió una regresión tumoral total. Es reseñable que uno de los pacientes no pudo completar el tratamiento preoperatorio por toxicidad y dos pacientes no pudieron completar el tratamiento posoperatorio por complicaciones derivadas de la intervención quirúrgica (13%).

Con el fin de poder valorar el efecto del tratamiento neoadyuvante en el cáncer gástrico se ha realizado un análisis univariado de supervivencia comparándolo con todos los tumores localmente avanzados >T3N+ diagnosticados en el mismo periodo de tiempo (157 casos), lo que supone el 10%.

Con un seguimiento mediana de 46 meses, la supervivencia mediana del grupo con neoadyuvancia ha sido de 42 meses (IC 95%: 5-80) frente a los 28 meses (95% CI 19-36) del grupo que recibió adyuvancia postoperatoria. Los tumores de tipo intestinal han presentado una supervivencia mediana de 64 meses (IC 95%: 32-96) y los difusos 27 meses (IC95%: 23-63).

La supervivencia global a 1, 3 y 5 años fue de 85,7%; 56,5% y 50% respectivamente frente a los 80,8%; 44% y 8,2% del grupo sin tratamiento preoperatorio, que en su mayoría recibieron tratamiento adyuvante mediante quimio-radioterapia según el esquema Mc Donald.

Figura 4. 2.10: a) Kaplan Meier Adyuvancia, b) Tipo de adyuvancia.



Taula/Tabla 4.2.10: a) SG Adyuvancia, b) SG Tipo de adyuvancia.

	Adyuvancia SI	Adyuvancia NO	
SG 1º año	%87,5	%80,8	
SG 3º año	%56,5	%44	
SG 5º año	%50	%8,2	

	Sin TTO	Neoadyuvancia	Adyuvancia QT-RT
SG 1º año	%67,6	%87,5	%91,2
SG 3º año	%35,3	%56,3	%54,9
SG 5º año	%0	%50	%16,2

### 4.3 ESTUDIO SOBRE INNOVACIÓN EN TÉCNICA QUIRÚRGICA: “GASTRECTOMÍA 95% TOTALMENTE LAPAROSCÓPICA”

*Publicado en la revista Cirugía Española en 2018. Short-Term Results of Near-Total (95%) Laparoscopic Gastrectomy. CirEsp.2018;96:634–639. DOI: 10.1016/j.cireng.2018.11.01. Material complementario.*

*Publicado en la revista Laparosc Surgery en 2018: Totally laparoscopic 95% gastrectomy for gastric cancer: how to reduce complications while maintaining oncological radicality. DOI: 10.21037/ls.2018.03.07 Laparosc Surg 2018;2:10. Material complementario.*

Durante el periodo de estudio se incluyeron sesenta y siete pacientes consecutivos con gastrectomías por cáncer gástrico con intención curativa. Las características clínicas de los pacientes se detallan en la **tabla 4.3.1**. Se operaron 16 casos en 2014, 21 en 2015, 19 en 2016 y 11 en 2017, de los cuales 10 fueron cáncer gástrico precoz (CGP) y 57 cáncer gástrico avanzado (CGA). La duración del seguimiento ha sido de entre 4 y 48 meses en los cuales se han perdido 6 pacientes, 3 de los cuales han fallecido por otra causa no relacionada con el cáncer.

**Taula/ Tabla 4.3.1: Características clínicas.**

Total	95% G (n=67)
Edad	66 (37-85)
H/M	48/19
IMC	28 (21-37)
Comorbilidad	37 (55,22%)
ASAI	20 (29,85%)
ASAII	41 (61,19%)
ASAIII	6 (9,00%)
<b>Estadaje tumoral</b>	
cT0-2	40 (59,70%)
cT3-4	27 (40,30%)
cTx	0
cN0	10 (14,92%)
cN1-3	57 (85,07%)
cNx	0
Quimioterapia Neoadjuvante	57 (85,07%)

#### 4.3.1 RESULTADOS QUIRÚRGICOS:

Los resultados intraoperatorios se resumen en la **tabla 4.3.2**. Se realizó gastrectomía 95% en 67 pacientes (67;100%) y reconstrucción en Y de Roux mediante anastomosis entre el muñón gástrico y el yeyuno manual con sutura barbada y pie de asa yeyuno-yeyunal latero lateral semimécánica en 67 pacientes (67;100%). Todos los pacientes fueron intervenidos por laparoscopia (67;100%), con una tasa de conversión nula. La pieza quirúrgica se extrajo mediante incisión de Pfannenstiel y aro protector de herida en todos los casos.

**Taula/ Tabla 4.3.2. Resultados intraoperatorios.**

Nº de pacientes	95% G(n=67)
<b>Vía de abordaje</b>	
<i>Abierta</i>	0
<i>Miniinvasiva</i>	67 (100%)
<b>Conversión a cirugía abierta</b>	0 (0%)
<b>Tiempo quirúrgico en minutos</b>	168(130-245)
<b>Pérdida sanguínea en ml</b>	50 (0-200)
<b>Reconstrucción (Y Roux)</b>	67 (100%)
<b>Anastomosis</b>	
<i>Yeyuno-yeyunal: Semimecánica</i>	67 (100%)
<i>Gastro-yeyunal: Manual</i>	67 (100%)

**4.3.2 DATOS POSOPERATORIOS:**

Dos pacientes (2,98%) presentaron una o más complicaciones Clavien Dindo igual o mayor de IIIa. Un paciente reingresó el 10º día posquirúrgico por hemorragia digestiva siendo tratado mediante endoscopia. Un paciente precisó reintervención por obstrucción intestinal causada por hernia interna el 52º día posoperatorio. La estancia media en reanimación fue de 1 día en los 6 pacientes que precisaron cuidados intensivos por enfermedades relevantes asociadas. La estancia total fue de 6 (3-13) días. Los últimos 31 pacientes fueron incluidos en un protocolo de rehabilitación multimodal “fast track” por lo que no portaron drenajes, sonda nasogástrica, ni vesical y presentaron movilización inmediata mediante la utilización de analgésicos y antieméticos adaptada.

**Taula/Tabla 4.3.3: Complicaciones postoperatorias.**

Nº de pacientes	95% G (n=67)
<b>Complicaciones posoperatorias (CD≥IIIa)</b>	2(2,98%)
<b>Fuga anastomótica muñón gástrico-yeyunal</b>	0
<b>Hemorragia digestiva.</b>	1(1,49%)
<b>Infeción cutánea.</b>	1(1,49%)
<b>Complicaciones médicas:</b>	1(1,49%)



<b>Mortalidad a 60 días</b>	0
<b>Estancia hospitalaria</b>	6 (3-13)
<b>Estancia en UCI</b>	6 pacientes (1 día)
<b>Reingreso a 60 días</b>	2 (2,98%)
<b>Quimioterapia adyuvante posoperatoria</b>	48 (71,63%)

### 4.3.3 RESULTADOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

Se realizó resección radical R0 en los 67 pacientes (67;100%) y ni el margen proximal ni el distal fue positivo en ningún paciente (67;0%). Ningún paciente presentó células tumorales en el lavado intraperitoneal. No se encontraron ganglios linfáticos ni implantes peritoneales en las piezas quirúrgicas de los primeros 20 pacientes en los que se realizó omentectomía total.

**Tabla 4.3.4: Anatomía patológica.**

<b>Nº de pacientes</b>	<b>95% G(n=67)</b>
<b>Resección radical (R0)</b>	67 (100%)
<b>R1</b>	0 (100%)
<i>Márgen proximal positivo</i>	0
<i>Margen distal positivo</i>	0
<i>Positividad de superficie serosa (T4)</i>	0
<b>Respuesta completa patológica</b>	0
<b>Localización tumoral</b>	
<i>Tercio proximal</i>	4 (6,00%)
<i>Cuerpo gástrico (Tercio medio)</i>	21 (31,34%)
<i>Tercio distal</i>	42 (62,69%)
<b>Subtipo histológico (Clasificación de Laurén)</b>	
<i>Adenocarcinoma intestinal</i>	54 (80,6%)
<i>Carcinoma Difuso o mixto</i>	13 (19,4%)
<b>Grado de diferenciación tumoral</b>	
<i>G1</i>	14 (29,25%)

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

G2	36 (53,73%)
G3	7 (10,45%)
<b>Extensión tumoral local</b>	
(y)pT1 – 2	27 (40,23%)
(y)pT3 – 4	40 (59,70%)
<b>Extensión ganglionar</b>	
(y)pN0	6 (8,95%)
(y)pN1 – 3	61 (91,04%)
<b>Enfermedad metastásica (y)pM1</b>	0
<b>Enfermedad metastásica (y)pM1</b>	41 (26 – 58)
<b>Nº de ganglios linfáticos reseca- dos</b>	
<b>Nº de ganglios linfáticos positivos</b>	0/20
<b>Ganglios linfáticos en epiplón</b>	0/20
<b>Implantes tumorales en epiplón</b>	0/20
<b>Estadío tumoral (TNM 8º edición)</b>	
Ia	0
Ib	5 (7,46%)
IIa	17 (25,37%)
IIb	29 (43,28%)
IIIa	13 (19,40%)
IIIb	3 (4,48%)
IIIc	0
IV	0

#### 4.3.4 SUPERVIVENCIA

La duración del seguimiento ha sido de entre 4 y 48 meses. 6 pacientes han sido perdidos, de los cuales 3 han fallecido por otra causa no relacionada con el cáncer. 7 (11,47%) pacientes han presentado diseminación generalizada de la enfermedad en este periodo de tiempo de los cuales 2 han fallecido (3,28%). No se ha detectado ningún caso de recidiva local aislada.

## 4.4 ESTUDIO 4: ESTUDIO DE PROTEÓMICA SOBRE PIEZAS QUIRÚRGICAS DE CANCER GÁSTRICO DIFUSO.

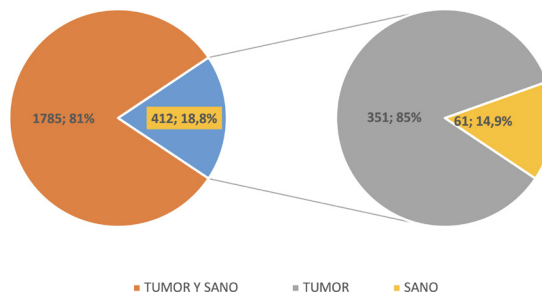
### 4.4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL PROTEOMA DEL DGC

A continuación se detalla el análisis de la expresión diferencial de las proteínas entre el tejido tumoral y sano y el análisis del enriquecimiento funcional de un conjunto de genes implicados en la carcinogénesis que se aplica sistematizadamente en los estudios de proteómica. (Material complementario Excel\_1: Análisis proteómico (X1))

Análisis de la expresión diferencial T/S de las proteínas en el DGC

De las 2.197 PGs detectados en las muestras de los pacientes con CGD, el 81,2% se ha localizado tanto en tumores como en los tejidos cercanos sanos; el 16% sólo en tumores y el 2,78 % solo en tejidos cercanos sanos. Existe una clara distinción entre el proteoma de los tumores y el de los tejidos cercanos, revelando un paisaje proteómico alterado.

**Figura.4.4.1. Distribución de los productos génicos del Carcinoma gástrico difuso. Se muestran los hallados tanto en tejido tumoral y sano como solo en tejido tumoral o sano.**

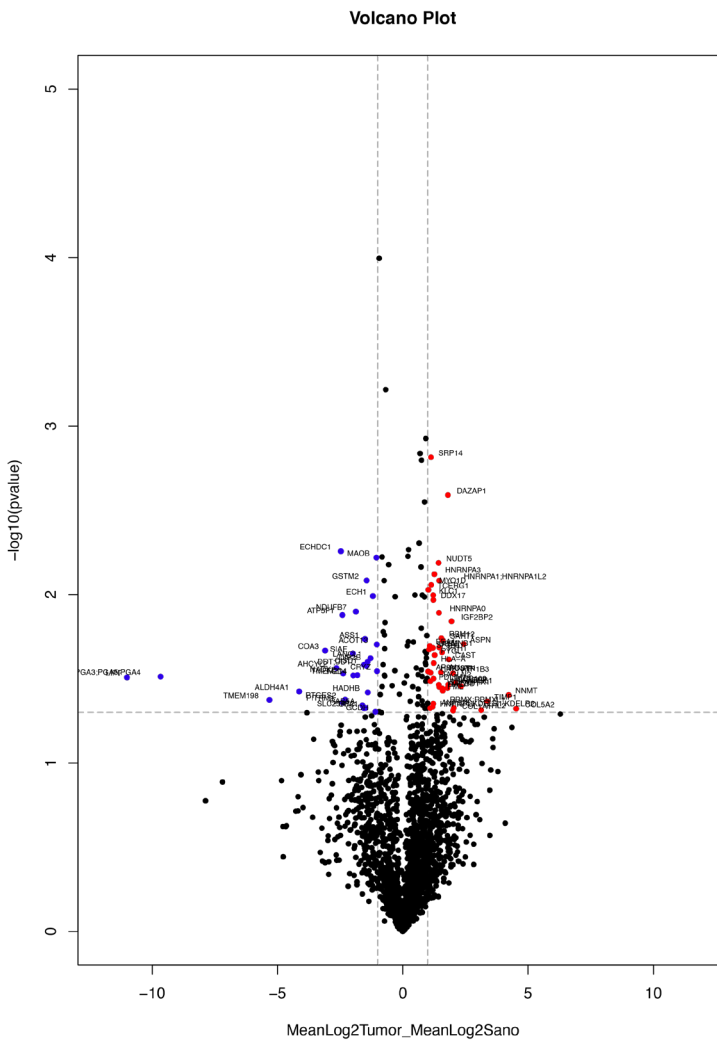


Por otro lado, se ha realizado un análisis masivo para la identificación de las proteínas así como un análisis estadístico pareado teniendo en cuenta cada paciente tumor-sano.

Identificación y distribución de abundancia diferencial de proteínas. reguladas al alza en tejido tumoral y sano.

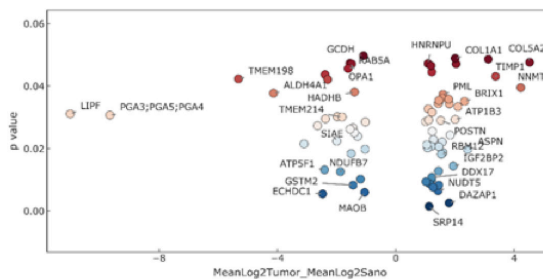
En la Fig. 4.2, se muestra un Plot Volcano con la distribución de los 2197 PGs analizados, con la abundancia diferencial de las proteínas, unas reguladas al alza en el tejido tumoral y sano. Las proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral están representadas en rojo a la derecha del plot ( $\uparrow T / \downarrow S = >1$ ), mientras que las reguladas al alza en el tejido sano ( $\downarrow T / \uparrow S = <1$ ), están representadas en azul a la izquierda del plot.

**Figura 4.4.2. Plot Volcano. Adenocarcinoma gástrico difuso. En el eje X abundancia diferencial de proteínas LOG2 de tejido tumoral y tejido sano. En el eje Y abundancia de proteínas en  $-\log_{10}$  p value.**



Con ello, se han permitido identificar 31 proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral y 45 reguladas al alza en el tejido sano. En el eje X se muestra la media de la relación de cuantificación del tejido tumoral y sano  $\text{Log}_2$ , mientras que en el eje Y está el valor de p. En esta, los puntos marcados en rojo representan las proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral y en azul las proteínas reguladas al alza en el tejido sano, en función de la significación estadística (p). Los puntos están acompañados de las iniciales del nombre del gen que representan, no poniendo el nombre las proteínas por su extensión. Fig. 4.3. Destacan en la parte alta del Volcano las proteínas HNRNPU, COL1A1, COL5A2, TIMP1 y NNMT. (Material complementario: X\_3)

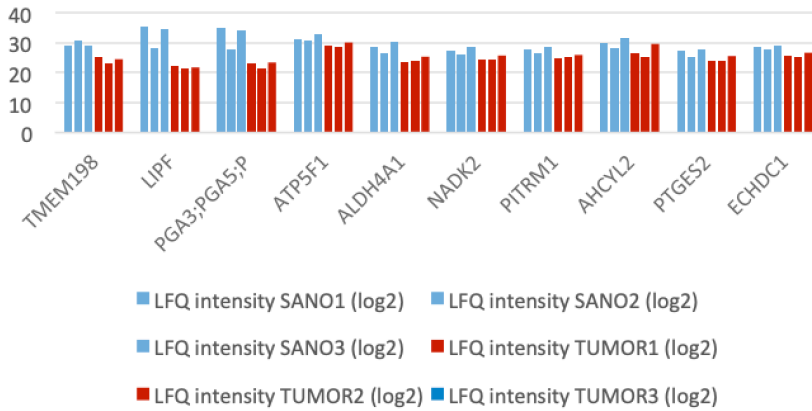
**Figura 4.4.3. Plot Volcano. Adenocarcinoma gástrico difuso. Proteínas más destacadas.**



### Cuantificación de las intensidades de señal de proteínas libres de etiqueta en el tejido tumoral y sano del CGD de los casos 1,2,3

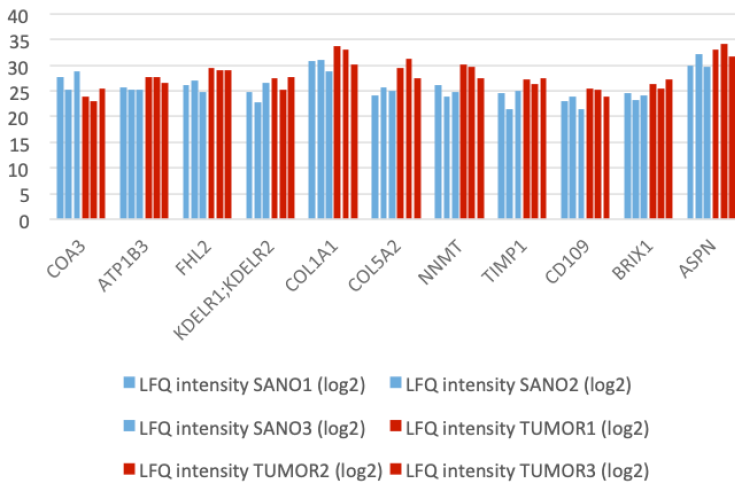
Se ha analizado la cuantificación de las intensidades de señal de las proteínas libres de etiqueta en el tejido tumoral (grupo A) y sano (grupo B) de los tres casos, calculando su  $\text{LOG}_2$  y posteriormente hallando la relación tejido tumoral y sano.

**Figura 4.4.4. Cuantificación de intensidades de proteínas libres de etiqueta reguladas al alza en el tejido sano**



Incluyen genes asociados con varias vías metabólicas (ALD-H4A1), transporte de moléculas pequeñas o metales pesados (ATP5F1), respuesta de defensa, inmunidad y otras funciones. Las proteínas identificadas al alza en el tejido tumoral son mostradas en la FIG 4.4.

**Figura 4.4.5. Cuantificación de intensidades de proteínas libres de etiqueta reguladas al alza en tejido tumoral**



Estas proteínas reguladas al alza tienen una variedad de funciones, incluyendo entre otras, diversas vías metabólicas (NNMT), transporte (ATP1B3), proliferación celular (ASPN), adhesión celular y citoesqueleto (COL1A1, FHL2), motilidad celular y matriz extracelular (TIMP1). De manera significativa, se han detectado muchas proteínas de la matriz extracelular expresadas de manera diferencial entre T y N lo que sugiere que, el microambiente tumoral es un componente significativo en el proteoma del CGD, FIG 4.5.

Las proteínas determinadas bajo condiciones estrictas, son mostradas con los siguiente epígrafes (Anexo12): el nombre de la proteínas y símbolo, código de acceso a Uniprot, función y especie. Incluyen 11 proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral y 13 proteínas reguladas al alza en el tejido sano. Entre las proteínas seleccionadas en condiciones estrictas, las reguladas al alza en el tejido tumoral representan un 32% y entre las proteínas reguladas al alza en el tejido sano el 22% , del total de las proteínas de alta confianza.

Una vez se ha realizado la identificación las proteínas por cromatografía líquida y espectrometría de masas, se requiere recuperar el perfil funcional de los genes para comprender los procesos biológicos.

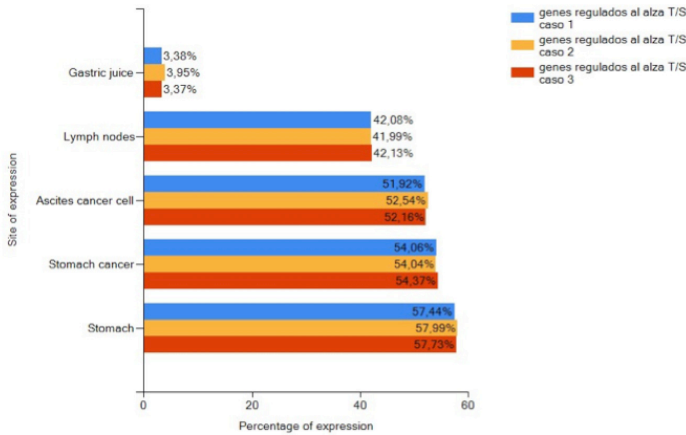
De las 24 proteínas seleccionadas cuantificadas en condiciones estrictas y a partir de la relación tejido tumoral y sano, de los casos 1, 2 y 3 se han observado 6 proteínas reguladas al alza en el tumor y 11 en el tejido sano.

Enriquecimiento funcional celular en el carcinoma gástrico difuso.

Localización de la expresión de los 2197 PGs analizados

La localización de la expresión de 24 genes identificados y cuantificados son mostrados en la FIG. 4.6. Se puede observar una localización de estos genes similar en los tres casos analizados, con un 54% en cáncer gástrico y un 57 % en el estómago sano. También hemos observado estos genes regulados al alza en los ganglios linfáticos en un 42% de los casos 1,2,3.

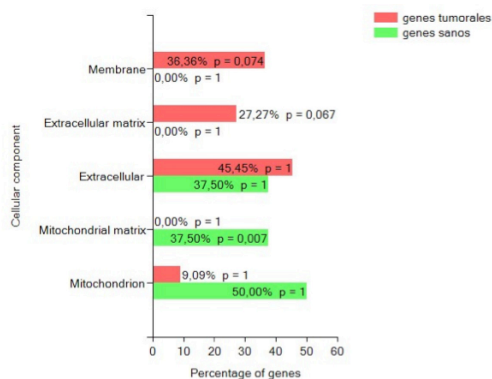
**Figura 4.4.6. Localización de los genes regulados al alza en la relación T/S de los casos 1,2,3**



Componentes celulares de 11 genes regulados al alza en el tejido tumoral y 13 en el tejido sano.

El componente celular con un mayor porcentaje de genes sobrerregulados al alza en el tejido tumoral y sano del carcinoma gástrico difuso, es a nivel extracelular, FIG 4.7. En la cabecera de la FIG. se encuentran presentes las proteínas de membrana y de la matriz extracelular, presentes unicamente en el tejido tumoral, en el 36,3% y 27,2% respectivamente.

**Figura 4.4.7. Componente celular de los genes en el tejido tumoral y sano**

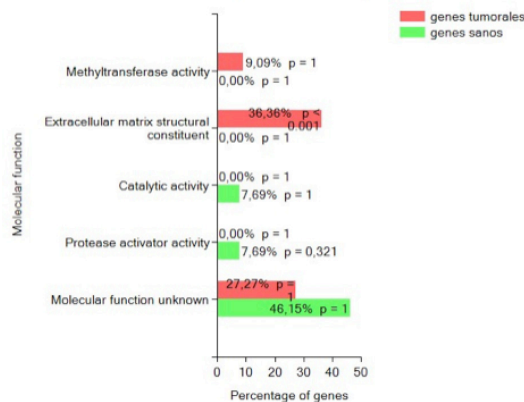




### Función molecular de 24 proteínas obtenida en condiciones estrictas.

Entre las funciones moleculares de las 24 proteínas, encabezan la lista, la actividad metiltransferasa y la función estructural de la matriz extracelular, funciones solo presentes en el tejido tumoral en el 9,09 % y un 36,36%, respectivamente, FIG.4.8. Sin embargo, en el tejido sano exclusivamente son la actividad catalítica y la activadora de las proteasas las funciones mejor representadas. De estos genes hay un porcentaje elevado del 27,27% en el tejido tumoral y de un 46,15%, cuya función molecular es desconocida.

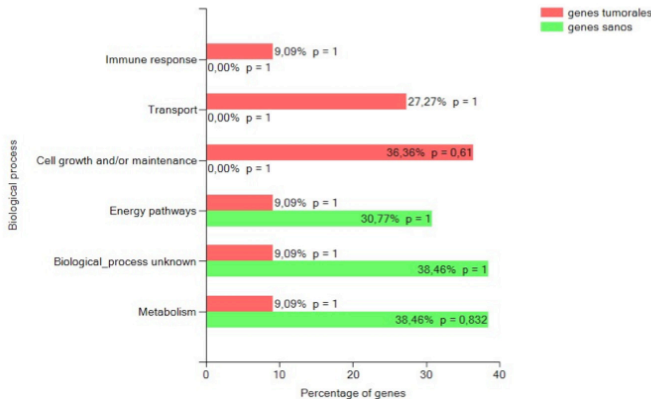
**Figura. 4.4.8 Función molecular de los genes tumorales y sanos en CGD**



### Participación de los procesos biológicos.

Las funciones biológicas relacionadas con el sistema inmune, transporte y crecimiento tumoral se encuentra reguladas al alza en el tejido tumoral . En la relación T/S los procesos biológicos en los que participan son el metabolismo y en las vías relacionadas con la energía, 9,09% en ambos. FIG. 4.9.

**Figura 4.4.9 . Procesos biológicos en los que participan los 24 genes identificados en el tejido tumoral y sano**



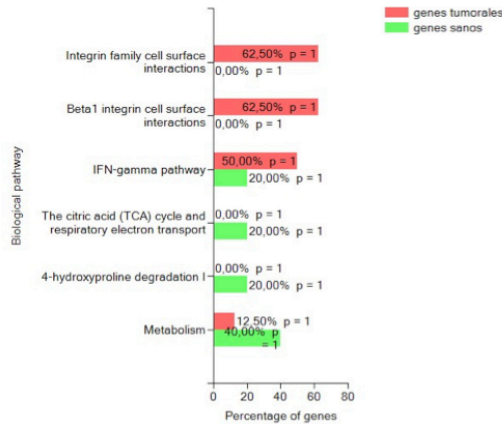
Encabezan la lista los genes regulados al alza en el tejido tumoral. Los procesos biológicos en los que participan estos genes son la respuesta inmune, transporte y crecimiento celular, en un 9,09%, 27,27% y en un 36,36 % repectivamente. Sin embargo en el tejido sano la función metabólica y las vías relacionadas con el aporte energética tiene funciones en un porcentaje mayor, FIG.4.9.

Al analizar cada proteína, llama la atención que muchas de las proteínas específicas del estómago cuantificadas en los casos, como LIPF, PGA, ANXA10, TFF2, MUC5AC y MUC6 y proteínas imprescindibles para las funciones del estómago como la digestión, absorción, secreción y generación de ácido del estómago, como PGC, GIF, GAST y ATP4A, disminuyeron en las muestras tumorales (X1\_6). Las proteínas específicas del estómago estaban significativamente reguladas a la baja en comparación con las proteínas que no lo son, lo que revela que la desdiferenciación del tejido gástrico es una característica distintiva del CGD.

**Vías biológicas de señalización celular identificadas.**

En el tejido tumoral, las vías biológicas de señalización celular identificadas a partir de los 2197 productos génicos, son la vía de las integrinas en un 62,5%. cabecera de la FIG.4.10. En un 40% las vías biológicas relacionadas con el metabolismo se manifiestan en el tejido sano en un 40%.

**Figura. 4.4.10. Vía biológicas de señalización celular en la relación T/S**



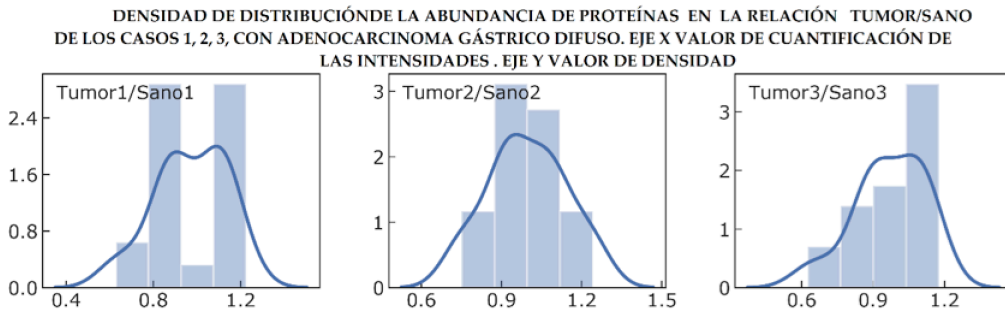
Las vías de señalización identificadas a partir de los 2197 productos génicos, entre otras son: EGFR, PI3K, MTOR, HIF, RHO, NOTCH , HEDGEHOG, WNT, E -CADHERINA, INTEGRINAS, INMUNE, VEGF. FIG.9. Los genes de las proteínas reguladas positivamente representaron variedad de funciones, incluyendo diversas vías metabólicas (NNMT), transporte (ATP1B3), proliferación celular (ASPN), adhesión celular y citoesqueleto (COL1A1, FHL2), motilidad celular y matriz extracelular (TIMP1) y otras funciones. De manera significativa, se han detectado muchas proteínas de la matriz extracelular expresadas de manera diferencial entre T y N, lo que sugiere que el microambiente tumoral es un componente significativo en el proteoma del CGD.

#### 4.4.2 DISTRIBUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS REGULADAS AL ALZA EN EL TEJIDO TUMORAL Y SANO

##### Densidades de la distribución de la abundancia de proteínas en la relación tejido tumor/ sano

La relación de los valores de cuantificación del tejido tumoral y sano de los casos 1,2,3, es mostrada en la FIG.4.11. En el eje X se representan los valores de cuantificación y en el eje Y el valor de las densidades de la intensidad de señal.

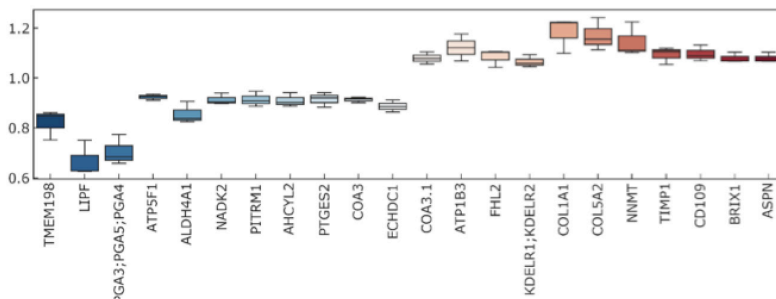
**Figura. 4.4.11: Densidad de Distribución de abundancia de proteínas T/S.**



**Valor de cuantificación de proteínas en condiciones estrictas**

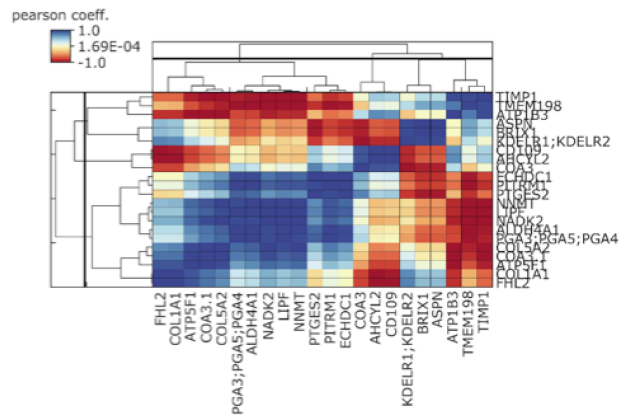
Estableciendo condiciones más estrictas para definir proteínas sobreexpresadas o infraexpresadas en el CGD, relación media Log<sub>2</sub> tumor y sano >2 o < -2, y observado en todos de los pacientes, se identificaron 21 proteínas expresadas diferencialmente, con 10 sobreexpresadas y 11 infraexpresadas (X1\_4). Para valorar la relación tejido T /S de 24 proteínas identificadas en el CGD, mostramos los box plot con los símbolos de los genes cuantificados. Los valores promedio y extremos de cuantificación de las 13 proteínas reguladas al alza en el tejido sano (azul) y las 11 proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral (rojo), son mostradas en la FIG.4.12.

**FIGURA 4.4.12. CGD. Box Plot con las proteínas cuantificación al alza en el tejido sano y tumoral**



Con estas proteínas hemos realizado un mapa de calor en el que se pueden observar las correlaciones entre las proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral y en el tejido sano. Además hemos realizado un análisis de correlación de Pearson. Se observan dos agrupamientos jerárquicos principales; de ellos, el que tiene mayor agrupamiento de genes, es el de los regulados al alza en el tejido sano, NMMT, LIPF, NADK2, ALDH4A1 y PGA3. En este mismo agrupamiento también se observan genes regulados al alza en el tejido tumoral como, COL5A2, COA3.1, ATP5F1, COL1A1 y FHL2, FIG.4.13.

**Figura.4.4.13. CGD. Mapa de calor de genes regulados al alza en el tejido tumoral sano.**



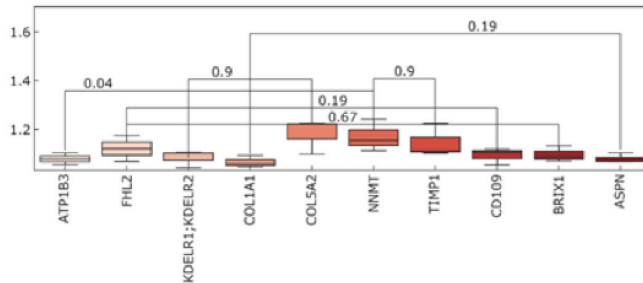
Agrupamiento jerárquico. Coeficiente de correlación de Pearson

Hemos establecido las relaciones binarias entre proteínas en los casos 1, 2, 3. Se observa una relación entre TIMP1 y LIPF, AHCYL2, FHL2 y CD109. También hay una relación BRX1 y ATP5F1, COA3, COL1A1 y ASPN. Por último hemos observado la relación entre COL5A2 y NADK2, COA3.1 y NNMT

### Correlación cruzada entre cada dos proteínas

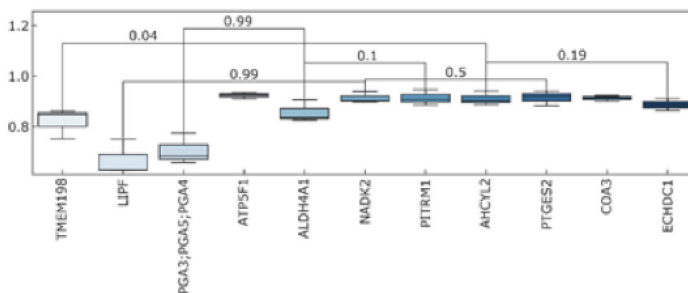
Con ello, hemos analizado la significación estadística de las variables continuas, proteínas relacionadas reguladas al alza en el tejido tumoral y reguladas al alza en el tejido sano.

**FIGURA 4.4.14 a).** Diferencias entre dos proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral. Test Withney Mann. Valor de p.



De las 11 proteínas detectadas en el tumor hay dos proteínas con correlación ATP1B3 y NNMT,  $p=0,04$ .

**Figura 4. 4.14 b).** Diferencias entre dos proteínas reguladas al alza en el tejido sano. Test Withney Mann. Valor de p.



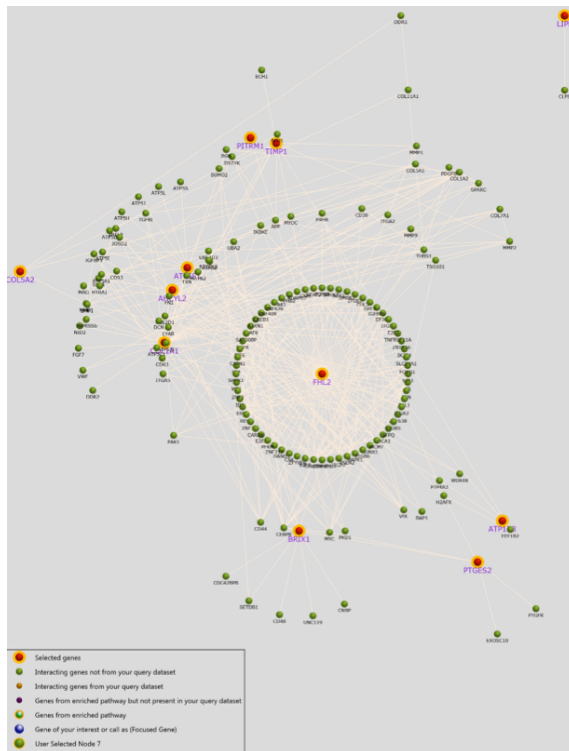
De las 13 proteínas reguladas al alza en el tejido sano, la correlación entre TMEM198 y AHCYL2 tiene una relación una significación,  $p=0,04$ , FIG. 23 b).

También hemos realizado un test no paramétrico Kruskal Wallis para determinar si estas proteínas reguladas al alza en el tejido tumoral y sano están relacionadas, calculando el valor de p. Se utiliza para comparar dos o más muestras independientes de tamaños, de muestra iguales o diferentes. Las proteínas reguladas al alza tienen una relación significativa ( $p<0,05$ ), tanto con las proteínas del tejido sano como con las del tejido tumoral (Anexo 15).

### Interacciones proteína-proteína

La interacción proteína-proteína de las 24 proteínas reguladas al alza en la relación tejido tumoral y sano son mostradas en las FIG.24, determinadas en Funrich.

**Figura 4.4.15 Diagrama de interacción de las proteínas reguladas al alza en la relación tejido tumoral y sano en los casos 1,2,3**



Los genes seleccionados están representados por un círculo rojo con un halo naranja. En color violeta está escrito el nombre del gen. 11 genes han sido identificado y cuantificados en el tejido tumoral de los tres casos de carcinoma gástrico difuso, cuyas interacciones con otros genes-proteínas son mostradas en la FIG. 4.15.

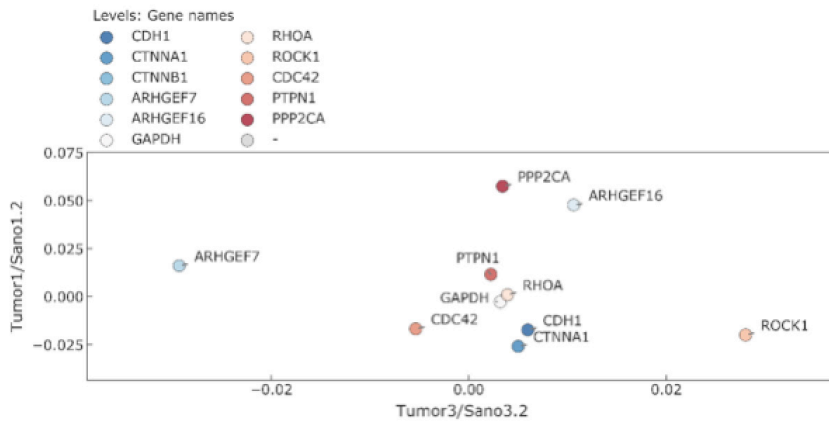
De las proteínas y fosfatasa diferencialmente expresadas hemos incluido por su interés en el cáncer gástrico difuso las siguientes: CDH1, CTNNA1, CTNNB1, RHOA, RHO, GTPase, ARHGEF7, ARHGEF16, GAPDH, PPP2CA, PTPN1.

### Proteínas de la vía de señalización WNT

Proteínas de la vía canónica WNT mediada por los RAC, inhibidor del RhoA, se han mostrado reguladas positivamente con una importante regulación al alza en el tejido tumoral y en el sano, y las proteínas de las vías mediadas por E-Cadherina negativamente, lo que sugiere la desregulación de estos importantes tipos de vías (Material complementario: E1\_10).

El análisis de los genes involucrados en estas vías muestran como las proteínas de la adhesión CDH1, CTNNA1 y CTNNB1 están reguladas al alza en la relación tumor /sano en la media de los casos, pero se encuentran infrareguladas en dos casos, en especial en el caso cruces\_1 en el de manera más significativa. Sin embargo las proteínas RHOA, ROCK 1 está reguladas a la baja, al igual que las fosfoproteínas PTPN1 y PPP2CA en la relación T/S de todos los casos, FIG4.16.

**Figura 4.4.16. CGD. 25 Proteínas de la vía canonica WNT y fosfatasa en cáncer gastrico difuso**



### 4.4.3 SUBTIPOS TUMORALES BASADOS EN EL PROTEOMA DE CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO.

#### Clasificación de los casos 1, 2 y 3 de Cruces según su proteoma.

El objetivo es, utilizar cromatografía líquida y espectrometría de masas para identificar y cuantificar los valores de las proteínas tisulares por proteomica del descubrimiento y



determinar los subtipos moleculares de CGD en los casos 1,2,3 de Cruces. Para ello se utilizan las mismas proteínas que las utilizadas por Ge et al para su clasificación PX 1,2,3 (Material complementario: E1\_7).

#### Selección de proteínas extraídas de los casos 1,2,3

Las mismas 25 proteínas reguladas al alza en la relación tejido tumoral y tejido sano, de las obtenidas por Ge, han sido identificadas y cuantificadas en los casos 1, 2, 3. Para lo cual, se han hallado las intensidades de las proteínas libres de marca en el tejido tumoral y sano, calculando su Log2. Posteriormente, con este resultado se ha calculado la cuantificación de la relación del tejido tumoral y sano, (E1\_6). Si la relación es mayor de 1 se considera que estas proteínas están reguladas al alza en el tejido tumoral. Si son menores de 1 las proteínas reguladas al alza lo están en el tejido sano. Además, se han agrupado las proteínas obtenidas según las diferentes funciones en los que participan, como ciclo celular (CC), transición epitelio mesénquima (TEM) y sistema inmune (INM).

**Figura. 4.4.17. CGD. Diagrama de Venn. Distribución de las 25 proteínas seleccionadas. Ciclo celular 6, transición epitelio mesénquima 17 y sistema inmune 2.**



#### **Resumen de los hallazgos epidemiológicos, clínico-patológicos de los subtipos moleculares del CGD.**

El objetivo de este apartado es conocer la significación clínica de los diferentes subgrupos de la clasificación molecular del CGD. Para ello, se han utilizando los datos complementarios del artículo de Ge et al. sobre las características de los pacientes del

estudio. Se realizó un análisis estadístico que permite la integración de los datos clínico-patológicos de cada uno de los subtipos de la clasificación molecular del CGD. (Anexo15).

El **subtipo PX1**, se comporta desde un punto de vista clínico-patológico como un intestinal-like, (IGD). Es más frecuente en hombres (68.8%) y de mayor edad 62,5 (IC: 8,92). Presenta importante número (25%) de células normales con escasa reacción mesenquimal, sin células en anillo de sello y no presenta necrosis. Está localizado con más frecuencia en cuerpo gástrico. Se presenta con diseminación linfática en la mayoría de los casos, pero con menor carga tumoral que el resto de los subtipos y rara vez produce diseminación peritoneal. Este subgrupo presenta la mejor supervivencia global.

El **subtipo PX2** se comporta como un auténtico difuso. Es frecuente en mujeres (50%) más jóvenes 54.7 (14.8). Presenta importante reacción mesenquimal y muchas veces células en anillo de sello (55.9%). Se localiza de forma frecuente en cuerpo gástrico. Se presenta con diseminación linfática en la mayoría de los casos con alta carga tumoral y es frecuente la diseminación peritoneal (62,5%).

El **subtipo PX3** es frecuente en hombres (73,5%) en edades medias de la vida 58,5 (IC:14,3). Destaca la importancia del estroma con escasa celularidad, al presentar importante reacción mesenquimal (41,2%) en ocasiones con necrosis (17,6%) y en ocasiones células en anillo de sello (38.2%). Destaca por su localización en antro gástrico. Presenta diseminación peritoneal en el (62,5%) y la peor supervivencia supervivencia global.

#### **Capacidad predictiva de los subtipos moleculares del CGD en los casos 1, 2 y 3 de Cruces.**

El objetivo es determinar la capacidad predictiva de la cuantificación proteica para clasificar los casos clínicos Cruces\_1,2,3 según la clasificación molecular del CGD. Para ello se han comparado tanto el valor absoluto y logarítmico como el valor resultante en un mapa de calor de las mismas proteínas que Ge et al. presentan en su mapa de calor del proteoma del CGD (E1\_7), que han sido identificadas y cuantificadas en los casos 1,2,3. Se ha tomado como referencia el mapa de calor de Ge en el que la intensidad de las proteínas se ha representado en color rojo y azul según el log<sub>10</sub> de la relación T/S se acercara más al 1 o -1 respectivamente. Para ello se han agrupado las proteínas en los diferentes aspectos en los que participan como son el ciclo celular (CC), la transición epitelio mesénquima (TEM) y las del grupo inmune (INM).

**Taula/Tabla 4.4.1: Comparativa de cuantificaciones proteicas de los Casos Cruces 1,2,3 y diferentes subtipos de CGD de Gee.**

Gene names		Tumor1/Sano	Tumor2/Sano	Tumor3/Sano	MEDIA PX1	MEDIA PX2	MEDIA PX3
					PX1	PX2	PX3
RCC2		0,00892046	0,02985162	0,02047651	0,59151416	0,65519209	0,30910528
PCNA		0,02568465	0,09705587	0,02208782	0,67428508	0,6374487	0,31812393
UBE2I	CC+	-0,0109438	0,09348873	0,02691454	0,3097701	0,48611918	0,18863824
RPA2		0,01178034	0,08484125	0,00103706	0,29395219	0,33838113	-0,0542182
RCC1		0,02153195	0,04368678	0,01343683	0,5655064	0,47111801	0,08125601
RPA2		0,01178034	0,08484125	0,00103706	0,29395219	0,33838113	-0,0542182
	VP	0,01145899	0,07229425	0,01416497	0,45483002	0,48777337	0,13144785
MMP9		0,0378591	0,02333972	-0,0469184	-0,1196073	0,56277261	1,08839516
COL5A2		0,08807582	0,08685566	0,04095828	0,14276695	0,21740008	0,22609433
COL3A1		0,07593015	0,10148664	0,03855929	-0,1256586	0,31739255	0,3506096
FN1		0,02887731	0,0024323	0,00065058	0,34280831	0,63714089	0,59722337
VIM		0,01498844	0,00996123	0,00837244	-0,0378083	0,31476674	0,19364258
COL4A1;COL4	TEM+	0,00818471	0,01220375	-0,0008167	0,1093153	0,39071789	0,32886627
ITGA5		0,03324511	6,4575E-05	-0,0011942	-0,004985	0,24369273	0,22764283
C1S		0,04519638	0,01403641	0,03063439	-0,0068744	0,52308195	0,32895972
NEXN		0,07426782	-0,0089344	-0,0147856	0,07379162	0,21412715	0,10442852
VCAN		0,06367009	0,01294953	0,01644883	0,27299548	0,6767821	0,19426327
	VP	0,04702949	0,02543954	0,00719089	0,06467439	0,40978747	0,36401256
GPX2		-0,0353807	0,01976254	0,02712995	-0,1394721	-0,0991995	-0,6518905
CDH1		-0,0173411	0,06953173	0,00599123	-0,1980564	-0,4763957	-0,6357262
CTNNB1		-0,0047833	0,02506861	0,00334882	-0,0774207	-0,375672	-0,4669064
CTNND1	TEM-	-0,0147784	0,03203163	0,00409613	0,03329117	-0,289849	-0,5769043
FBP1		-0,062069	0,02533306	0,01443859	-0,2060013	-0,3922042	-0,5955042
S100P		-0,0421525	-0,0138605	0,02411526	-0,2239655	-0,311187	-0,5028635
DSC2;DSC3		0,0596913	-0,0622908	-0,0321472	-0,0249041	0,00899142	-0,0872594
	VP	-0,0166877	0,01365374	0,00671039	-0,1195041	-0,2765023	-0,5024364
BASP1	INMUNE	0,01791246	0,03281854	0,00014872	0,03706903	0,31683539	0,48256219
PSMB5		0,00250362	0,00777143	-0,0405745	0,07754909	-0,2332654	0,24326257
	VP	0,01020804	0,02029499	-0,0202129	0,05730906	0,041785	0,36291238

#### 4. EMAITZAK / RESULTADOS

GEE			CRUCES			COMPARATIVA		
PX1	PX2	PX3	Caso1	Caso 2	Caso 3	Caso1	Caso 2	Caso 3
						PX2	PX3	PX1
			CC+			CC+		
			TEM+			TEM+		
			TEM-			TEM-		
			INM			INM		

Los hallazgos mostrados en la tabla previa (X1\_9) se han comparado con las características clínicas de los casos Cruces\_1,2,3 estudiados (X1\_5).

El caso Cruces\_1 mostró similar sobreexpresión en tejido tumoral y sano de las proteínas de la TEM que los mostrados en el proteoma del CGD, lo que nos hace sospechar que pudiera corresponder al subtipo PX2. Atendiendo a las características clínicas de dicho paciente, se trata de un varón de 67 años con un cáncer gástrico difuso con células en anillo de sello, de localización en cuerpo gástrico, T4N3a (33+/41). Se le realizó una gastrectomía subtotal y linfadenectomía D1+ laparoscópica y vivió 6 meses tras fallecer a causa de una recidiva precoz en forma de carcinomatosis peritoneal que no se trató. Clínicamente coincide con el grupo PX2 al tratarse de un tumor “difuso puro”, de cuerpo gástrico, con células en anillo de sello y alta carga ganglionar N3 (33+), sin respuesta a tratamiento y con recidiva precoz en forma de carcinomatosis peritoneal y mala tasa de supervivencia.

En el caso Cruces\_3 se aprecia sobreexpresión de las proteínas del ciclo celular lo que hace sospechar un tipo PX1. Clínicamente se trató de un hombre de 73 años con un cáncer gástrico difuso de localización en cuerpo gástrico, T3N2 (3+/16). Se le realizó una gastrectomía subtotal y linfadenectomía D1 y recibió quimioterapia mediante LV-5FU. Vive 5 años libre de enfermedad y fallecer a causa de neoplasia de pulmón. La clínica puede coincidir con lo descrito por Ge del subtipo PX1 al tratarse de un tumor “intestinal like” con mejor respuesta a tratamiento quirúrgico al que se añadió quimioterapia sistémica presentando mejor pronóstico.

El caso Cruces\_2 es el único que muestra sobreexpresión de las proteínas del grupo inmune y se podría clasificar como un PX3 son precisos mas datos de concordancia, puesto que el número de proteínas del grupo inmune detectadas es escaso. Se trató de una mujer de 86 años, que padeció un cáncer gástrico difuso de antro gástrico, con reacción desmoplásica con forma de “linitis plástica” e importante infiltración inflamatoria, T3N2 (3+/20). Se le realizó una gastrectomía subtotal y linfadenectomía D2 y vivió 8 meses tras fallecer a causa de una recidiva precoz en forma de carcinomatosis peritoneal que no se trató.

#### 4.4.4 TERAPIA DIRIGIDA

Con objeto de valorar la posibilidad de nominar nuevas proteínas candidatas a ser diana de fármacos dentro del contexto de la medicina personalizada, se han seguido los criterios de selección que se detallan a continuación.

Primero deben seleccionarse las proteínas con fármaco existentes a través de un análisis de datos sobre diferentes cánceres. Después, se procede a buscar candidatos a fármacos diana en función de los datos proteómicos propios. Para ello las proteínas deben estar **sobreexpresadas** diferencialmente en los tumores y pertenecer a categorías funcionales que se consideran convencionalmente como **farmacológicas** (enzimas, quinasas, canales iónicos, proteínas transmembrana y otras proteínas de membrana o proteínas de membrana extracelular), **contra las cuales se podrían desarrollar fármacos**; y su sobreexpresión debe haberse correlacionado previamente con una **peor supervivencia** ( $p < 0,05$ ,  $HR > 1$ ).

En nuestro caso no hemos encontrado proteínas que cumplieran todos los criterios para ser nominadas como nuevas candidatas a diana terapéutica. No obstante, de las proteínas con mayor sobreexpresión, el COL1A1 y COL5A2 además de haber sido propuestos como marcadores pronósticos en cáncer gástrico, pueden ser inhibidos mediante colagenasas como “Clostridium Histolyticum” lo que se ha utilizado en otras patologías como la enfermedad de Peyronie y se ha mostrado como una opción cáncer en ratones y podría ser probado en humanos. Por otro lado, el TIMP, inhibidor de las metaloproteinasas ha sido utilizado como diana terapéutica específicas en el hepatocarcinoma.



# 5.

## Eztabaida Discusión

<b>5. EZTABAIDA LABURRA</b>	<b>153</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>154</b>
<b>A. Características clínico-patológicas del Cáncer Gástrico difuso y su implicación pronóstica.</b>	<b>155</b>
5.1 Epidemiología y demografía	155
5.2 Dificultades diagnósticas	156
5.3 Limitaciones de la Anatomía patológica en CGD	158
5.4 Limitaciones de los sistemas de estadificación en CGD	160
5.5 Particularidades del tratamiento del CGD	161
<b>B. Perfil proteómico del CGD y aplicabilidad clínica</b>	<b>167</b>
5.6 Caracterización multiómica del cáncer gástrico de tipo difuso.	167
5.7 Aplicabilidad clínica	171

## 5. EZTABAIDA / DISCUSIÓN



## 5. EZTABAIDA LABURRA

Aurkeztutako ikerketen datuek adierazten eta literaturak baieztatzen duen legez, gaur egun urdaileko minbizien erdia da difuso azpimota. Laurenen sailkapen anatomo-patologikoko mota intestinaleko minbizia gutxitzen ari den bitartean, gero eta ohikoagoa da UMDa. Sarriago agertzen da emakumeengan, eta pertsona gazteagoak gaixotzen ditu. Sintoma gutxi sortzen dituenek, zaila da diagnostikoa, eta gaixoak ospitaleetan froga diagnostiko artean galtzen dira, diagnostikorik lortu gabe. Gainera, behin minbizia aurkitutakoan, tratamendua berandu heltzen da sarri askotan, eta oso pronostiko okerra du.

Klasikoki, histologiak eman izan du diagnostiko zehatza, eta Laurenen sailkapenak azpimota zehaztu; hala ere, gehienetan, informazio gutxi dago tratamendurako bide egokiena aukeratzeko eta pazientearen biziraupena luzatzeko.

Gure ustez, histologia klasikoaz harago, pazientearen egoeraren erdigunean kokatu eta minbizi difusoaren berezitasun klinikoa eta biologia molekularra erabiliz, tratamendu egokiena aukeratzeko bidea aurkitu daiteke pertsonalizatutako medikuntzaren testuinguruan. Beraz, klinika eta ikerkuntza uztartu nahi dituen doktorego-lana gauzatu da. Alde batetik, azken hamar urteetan Gurutzetako ospitalean diagnostikatutako urdaileko 1.000 minbizi kasu baino gehiago aztertu dira, eta biziraupenari buruzko aldagai anitzeko ikerketak gauzatu dira.

Ikerketotan, urdaileko minbizian Laurenen eta MOEren sailkapen histologikoek pronostikoan duten garrantzia aztertu da, alde batetik. UMDaren pronostiko okerragoa ezin izan da frogatu aldagai anitzeko ikerketan. Minbizi mota horrek sintomarik sortu gabe hedatzeko daukan gaitasunak estadio berantiarretan diagnostikatzea dakar, eta, ondorioz, lokalki garatua egotea (T) eta hedadura linfatikoa izatea (N). Azken bi ezaugarri horiek pronostiko okerragoarekin erlazionatu dira ikerketa horietan, eta hori izan daiteke UMDaren pronostiko txarraren azalpena.

Gainera, emaitzen arabera, ez dugu uste tumore mota guztiei diagnostiko, baliabide, tratamendu kirurgiko eta kimioterapiko bera eskaini behar zaizkienik. Horretarako, ospitalean erabilitako estadiatze diagnostikoaren (TNM) baliabideak neurtu eta ratio nodala bezalako metodo berriak proposatu eta aztertu dira, UMD erabilgarri izan daitezkeelakoan. Tratamenduari dagokionez, uste dugu ez dagoela orain arteko 8 zentimetroko marjina edota UMD guztiei gastrektomia osoa beti eskaintzeko argudiorik. Aurreko hori eta kirurgia osteko konplikazioek biziraupenarekin duten erlazioa frogatu ostean, atzerriko zentro espezializatuetan (CHL) ikasitako teknika berritzaileak proposatu dira, eta horien emaitzak neurtu dira. Gastrektomia ia osoak, marjina kirurgikoa errespetatuz gero, UMD kasu batzuetan apropos erabil daitezkeela uste dugu, gastrektomia osoek baino konplikazio-tasa baxuagoarekin eta emaitza onargarriekin.

Bestalde, susmatu bezala, nahiz eta urdaileko minbizi difusoak pronostiko txarragoa daukan, frogatu dugu histologia bera ez dela gai bera bakarrik diagnostikoa bideratu eta tratamendu egokiena aukeratzeko. Gure ikerketaren ildo beretik eta genomaren ikerketaren garapenak bultzatuta, urdaileko minbiziaren sailkapen molekular berriak garatu izan dira urteotan. Laurenek histologiari erreparatuta egindako sailkapenez gaindi, genomikan eta proteomikan oinarritutako urdaileko minbizi mota ezberdinak proposatu eta sailkatu dira, tumoreek sortzeko eta garatzeko erabiltzen dituzten mutazio eta seinalizazio-bide ezberdinak baliatuz bereizten direnak.

Ondorioz, guk ere gaixotasunaren barnean sakonago begiratu nahi izan dugu, ehunen histologian sakondu eta zelulen barnean bilatu. Biologia molekularra ulertzeko asmoarekin, ikerketa esperimentalak gauzatu dugu minbizidun urdailetako laginetan espektrometria bidezko proteomika-azterketa eginez.

Aurkitutako proteina guztietatik 2.197 agertu dira esanguratsu. Horietako 45 ugariagoak dira tumoreetan, eta 30 inguruko ehunetan. Proteinogramaren azterketak tumorearen biologia ulertzen lagundu digu, hala nola minbiziaren paradigma den zelulen migrazioa aztertzen. Urdaileko minbizi difusoaren zelulek, CDH1 mutazioetatik eratorritako E-cadherina espresioaren aldaketak direla medio, euren arteko loturak galdu eta migratzeko gaitasuna lortzen dute; odol- edo linfa-hodian eta peritoneoan sartu eta metastasiak emateko gaitasuna lortzen dute.

Bestalde, literaturan publikatutako minbizi difusoaren proteoman islatuz, gure laginetan detektatutako proteinen arabera azpisailka ditzakegu orain kasuak, eta tratamendu egokiena aukeratzeko saiatu, bai erazketa kirurgikoaren hedadura, bai linfadenektomia mota eta bai izango duen kimioterapikoekiko erantzuna aurreikusiz.

Ondorioz, gure eskura dauden teknologia berriak erabiliz, zientzia babes dugula, gaixo eta minbizi mota bakoitzarentzako tratamendurik egokiena eskaintzen saia gaitzke etorkizunean, kirurgia zehatza bezain zuzena izan dadin, neurrira egindako medikuntzaren testuinguruan.

## 5. DISCUSIÓN

En los últimos años se han producido avances en biología molecular que han mejorado los conocimientos preexistentes sobre el cáncer gástrico difuso (DGC) y han derivado en nuevas clasificaciones moleculares<sup>37</sup>. Los análisis genéticos y proteómicos en muestras tisulares de CGD caracterizan las diferencias de cada tumor.

Todo ello puede ser de gran ayuda para conseguir un diagnóstico más precoz de la enfermedad, la identificación de pacientes con mayor riesgo de desarrollar recidivas tumorales por diseminación linfática o peritoneal y predecir la respuesta a diferentes tratamientos dirigidos. El objetivo de este trabajo es avanzar en el desarrollo de la medicina personalizada hacia un tratamiento más preciso del cáncer gástrico de tipo difuso.

Este proyecto describe las características clínico-patológicas del carcinoma gástrico difuso así como el tratamiento recibido y su relación con el pronóstico. Por otro lado se presenta un estudio piloto de la proteogenómica en estos tumores.

## **A. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS DEL CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO Y SU IMPLICACIÓN PRONÓSTICA.**

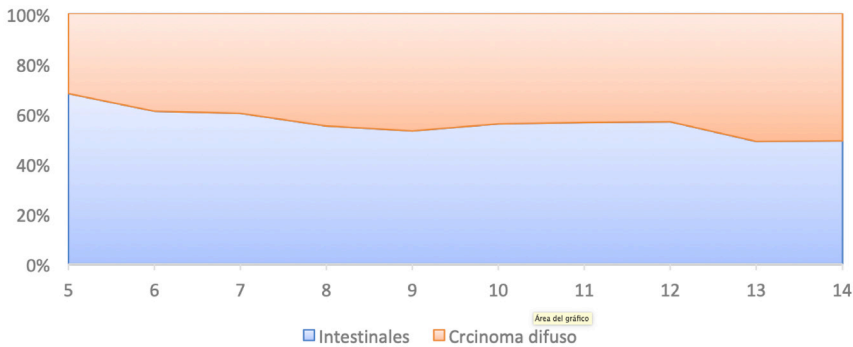
### **5.1 EPIDEMIOLOGÍA Y DEMOGRAFÍA**

#### **Incidencia del cáncer gástrico difuso:**

Se analizan 1052 casos de cáncer gástrico diagnosticados en el Hospital Universitario Cruces (OSI EE Cruces) en 10 años, alrededor de 100 casos de media al año, centro de referencia de un área sanitaria de 300000 personas. Esto supone más de un tercio de todos los casos diagnosticados en Bizkaia y una incidencia estimada de 33 casos/100000 habitantes, el doble de la incidencia estandarizada de Bizkaia publicada en 2008 (15,10 casos/100.000 habitantes)<sup>38</sup>.

Es conocido que la incidencia de cáncer gástrico está disminuyendo, habiendo pasado en las últimas décadas de ser el 3er cáncer más frecuente a nivel mundial al 6º en la actualidad<sup>39</sup>. A pesar del significativo descenso de los casos de cáncer gástrico de tipo intestinal, el carcinoma difuso se mantiene, por lo que se incrementa su proporción y relevancia. Es difícil estimar el porcentaje de CGD dentro de esta muestra, ya que hasta en un tercio de los casos diagnosticados no fue reseado, por lo que no existe pieza quirúrgica. La anatomía patológica por biopsia endoscópica diagnostica el cáncer gástrico, pero no precisa el subtipo histológico en hasta un tercio de los pacientes (28,7%-47,5%). No obstante, en la serie la proporción de CGD aumenta significativamente, situándose en la actualidad cerca del 50% de los casos totales (**Figura 5.1**).

**Figura 5.1. Porcentaje de casos de CGI y CGD durante los años de estudio.**



### Edad y sexo de los pacientes con CGD

A pesar de que el CG sigue siendo un tumor más prevalente en hombres, la incidencia en mujeres aumenta, en gran medida por el aumento del CGD40. Si se tiene en cuenta la muestra total, predominan los hombres (65%) respecto a las mujeres (35%) con una mediana de edad de 71 años (rango 21-95) . En CGD la proporción de **mujeres** es significativamente mayor (40,3%-42,2%) respecto al total de los casos diagnosticados y sobre todo respecto a los casos con CGI (31,7%). Cuando se analizan los casos operados con intención curativa, la edad mediana baja a 68,2 (12) y los casos de CGD son significativamente más jóvenes que los casos de CGI, con una edad casi 10 años menor. En este contexto, aunque en el análisis multivariante de supervivencia global no se ha encontrado relación entre edad y pronóstico de la enfermedad, el sexo masculino parece presentar un pronóstico desfavorable en cáncer gástrico.

## 5.2 DIFICULTADES DIAGNÓSTICAS.

El gold standard en el diagnóstico del CG sigue siendo la **anatomía patológica** a partir de la biopsia obtenida habitualmente por endoscopia, que es analizada por el patólogo con el fin de identificar el tipo y el subtipo tumoral y poder así dirigir el tratamiento de cada caso<sup>41</sup>. La clasificación de Lauren divide la enfermedad entre cáncer gástrico de tipo intestinal (IGC), cáncer gástrico difuso (DGC) y el tipo indeterminado o mixto<sup>17</sup>.

Uno de los principales problemas diagnósticos del CG surge cuando al tratarse de una enfermedad grave en la que la mayoría de los casos se diagnostican como enfermedad

diseminada (52%). El diagnóstico se realiza a partir de la muestra tisular obtenida por biopsia, tejido que resulta insuficiente en ocasiones para poder determinar el subtipo anatómico-patológico (53,4%). El problema se agrava cuando en el 30% de los casos con pieza de resección quirúrgica, el tumor tampoco es clasificado según ninguna de las clasificaciones histopatológicas, que tratándose de una serie retrospectiva se limitaba a la clasificación de Lauren. Indudablemente esta situación resultó insuficiente de cara a plantear un tratamiento dirigido en el contexto de la medicina personalizada.

El problema diagnóstico de la **endoscopia** se ve agravado en el caso de los tumores que Lauren denominó como Difusos (CGD) y actualmente la OMS llama carcinomas pobremente cohesivos (PC). Las células de este tipo de tumores, pierden la capacidad de adhesión celular, creando una arquitectura tisular menos organizada, más anárquica. Estas pueden difundir por la submucosa hasta convertirse con rapidez en un tumor transmural (72,6% de los DGC en nuestra serie), pero respetando en hasta el 30% de los casos la mucosa intacta<sup>42</sup>. En las ocasiones en las que no se aprecia ulceración mucosa, ésta puede mostrarse como una superficie plana de aspecto atrófico o como pliegues engrosados causados por la contracción submucosa<sup>43</sup>.

Tal como se describe en los casos clínicos 1 y 2, la escasa celularidad comparada con el abundante estroma de estos tumores en algunos estadios, puede presentar un importante número de biopsias negativas o indeterminadas (30-36%), por lo que es preciso un alto nivel de sospecha clínica para realizar biopsias aleatorias o guiadas por ecoendoscopia que conduzcan al diagnóstico<sup>44</sup>. A pesar de que la introducción de la ecoendoscopia como rutina en los procesos de estadiaje del cáncer gástrico, especialmente en CGD, permite una mejor valoración de las capas del estómago e incluso puede guiar la biopsia hacia zonas con mayor engrosamiento, su uso intraoperatorio es comprometido y se han descrito falsos negativos, por lo que otros autores incluso proponen la mucosectomía extendida a la capa submucosa como técnica diagnóstica en casos seleccionados de CGD<sup>45</sup>. La biopsia óptica in vivo mediante **microscopía Confocal** por endoscopia se encuentra en desarrollo y podría ser de utilidad para el diagnóstico temprano de estos tumores<sup>46</sup>.

En cuanto a las pruebas de imagen, el **TAC** es la prueba más realizada para valorar la progresión local y a distancia de la enfermedad neoplásica. No obstante, en algunos casos de CGD presenta limitaciones para valorar la infiltración tumoral de la pared gástrica, por lo que se ha propuesto que de la misma manera que lo hace en el estadiaje del cáncer recto, la **RMN** puede ser de ayuda en el futuro<sup>47-48</sup>. Por otro lado, los tumores mucinosos y de anillo de sello (OMS) no presentan en muchos casos incremento de la captación de 18FDG, por lo que el **PET** pierde sensibilidad en el diagnóstico<sup>49</sup>.

Además, en caso de sospecha de CGD preoperatoriamente, se debe plantear la realización de una **laparoscopia exploradora** con lavado intraoperatorio y toma de macrobiopsias, pues varias series han mostrado carcinomatosis peritoneal hasta en

el 10% de los casos operados con intención curativa<sup>50</sup>. La ausencia de una sospecha preoperatoria de estos escenarios dificulta la toma de decisiones en lo que al tratamiento respecta como se describe en el caso clínico 2.

### 5.3 LIMITACIONES DE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA EN CGD.

#### 5.3.1 CLASIFICACIONES HISTOLÓGICAS

Desde que Lauren publicara su clasificación en 1965, han sido descritas diferentes clasificaciones histopatológicas con el fin de esclarecer las características diferenciales entre los tipos de cáncer gástrico. Posteriormente la OMS subdividió esta clasificación en función de la morfología celular y la arquitectura histológica, integrados dentro de los IGC los tipos tubular, papilar y mucinoso; y dentro de los DGC los subtipos pobremente cohesivo y de células en anillo de sello<sup>20</sup>.

Múltiples estudios diferencian las características clínicas y el pronóstico de los carcinomas de células en anillo de sello (SRCC) y los carcinomas mucinosos (CM) dentro de los tumores gástricos indiferenciados, pero hasta el momento no se han realizado estudios comparando todos los subtipos de la nueva y más aceptada clasificación de la OMS, por lo que no existe por el momento un claro consenso respecto a las características clinicopatológicas y pronósticas de los mismos<sup>51</sup>.

#### **Carcinoma pobremente cohesivo (PC)**

Los resultados de las características analizadas en nuestro estudio sobre el subtipo **pobremente cohesivo (PC)** de la OMS son prácticamente superponibles al subgrupo difuso de la clasificación de Lauren. Su localización a lo largo del estómago es más aleatoria, presenta gran carga tumoral adenopática, aunque menor que el SRCC, y se diagnostican en su mayoría en estadios II-III A (68,2%).

#### **Células en anillo de sello (SRCC)**

El subtipo de **células en anillo de sello (SRCC)** de la OMS supone en nuestra serie el 10% de los casos y se ha presentado como un tumor indiferenciado de cuerpo gástrico, localmente avanzado de (65,3% estadio III) y con importante carga ganglionar (79,3% N 2-3). Presenta una peor supervivencia en el análisis univariante. Sin embargo, no se confirma como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariante, ya que se encuentra en estrecha relación con el estadio avanzado en el momento del diagnóstico.

Presentando mejor pronóstico cuando son tumores en estadio precoz (EGC) y peor en tumores avanzados (AGC)<sup>52</sup>.

### **Carcinoma mucinoso (CM)**

El subtipo **mucinoso (CM)** ha sido clasificado hasta ahora como un subtipo de cáncer gástrico intestinal de la clasificación de Lauren, aunque según el nuevo consenso de la definición de carcinoma pobremente cohesivo, dependiendo de su morfología puede ser también clasificado como cáncer gástrico difuso de la clasificación de Lauren<sup>20</sup>. Se trata de un tumor infrecuente, que en nuestra serie representa el 6,5% de los pacientes. Existen grandes discrepancias respecto a las características clínicas y pronósticas de este tumor<sup>53</sup>. Algunos autores relacionan este tumor con estadios más avanzados de la enfermedad. Por el contrario, del mismo modo que en otros reportes, en nuestro caso el subtipo mucinoso se presentó en estadios intermedios (II: 68,4%). Aunque tres cuartas partes de los casos presentaron enfermedad ganglionar, el 64% de estos fue N1. Se trata de el subgrupo histológico con mejor pronóstico en el análisis univariante de nuestro estudio (HR:0.378 (0.164-0.868)), aunque no se ha podido probar como un factor pronóstico independiente, probablemente al estar en relación con la baja carga ganglionar que presentaban los casos.

A pesar de que los subtipos de las clasificaciones histológicas actuales presentaron diferencias en cuanto al pronóstico en el análisis univariante, no pudieron considerarse factores pronósticos independientes en el análisis multivariante de supervivencia global cuando se ajustan por estadio T, N y tratamiento adyuvante recibido. Un reciente metanálisis trata este tema y es el primero que concluye que se puede definir al CGD como factor independiente de mal pronóstico<sup>54</sup>. No obstante, a diferencia de nuestra serie, presenta un importante número de artículos con casos en su mayoría en estadios II, lo que sostiene la teoría de que el CGD presenta un peor pronóstico en comparación con el CGI cuando se diagnostica en estadios más precoces, pero que se iguala a medida que se disemina la enfermedad.

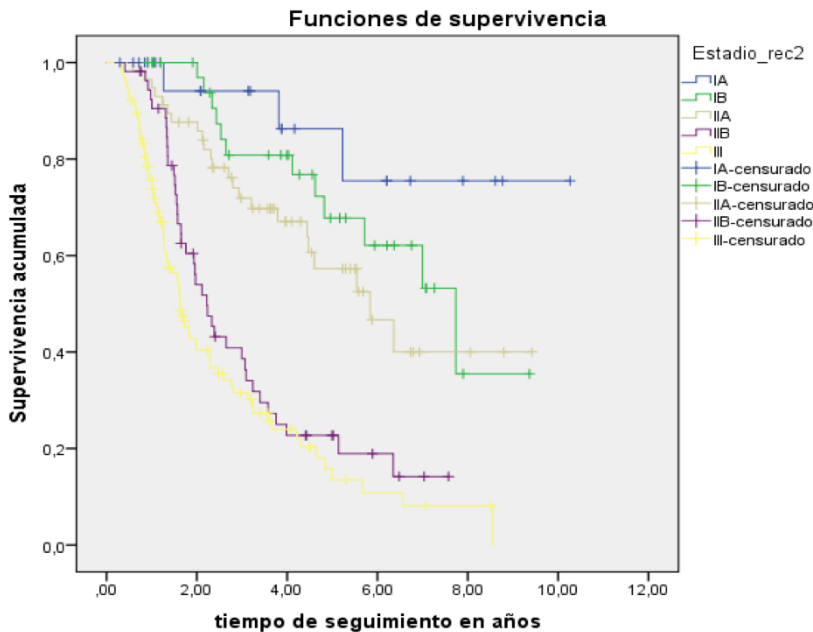
### **5.3.2 LINITIS PLÁSTICA**

Dentro del CGD cabe destacar el proceso conocido como Linitis Plástica (LP). Hace referencia al aspecto macroscópico de un carcinoma con infiltración difusa. En la clasificación de Lauren el carcinoma de tipo difuso es el que en más ocasiones presenta morfología de LP y dentro de la clasificación de la WHO suele clasificarse dentro de los tumores poco cohesivos, incluyendo los tumores con células en anillo de sello y en raras ocasiones los carcinomas mucinosos. En la literatura existen escasas series y con pocos casos que definan y analicen por separado los pacientes con LP dentro de los pacientes con cáncer gástrico tratados con intención curativa<sup>55</sup>. Del mismo modo que reflejan otros autores, el hallazgo intraoperatorio macroscópico de LP es un factor independiente de mal pronóstico en cuanto a la SG en nuestra serie.

## 5.4 LIMITACIONES DE LOS SISTEMAS DE ESTADIFICACIÓN EN CGD

El presente estudio confirma que la significativamente mayor carga tumoral ganglionar del CGD (61,7% N2-3) conlleva que el diagnóstico se presente en estadios más avanzados que el CGI (72,2%>IIB). Cuando se aprecian las curvas de supervivencia por estadios, llama la atención la importante ventana entre los estadios (IIA (3.207 (0.961-10.707)) y (IIB 8.768 (2.695-28.523)) de la 7ª edición del TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) Fig 5.2. Como otros autores han descrito previamente, esto puede ser probablemente explicado debido a la migración de estadiaje que tumores de este tipo presentan cuando se miden con el sistema clásico de medición de la infiltración ganglionar N<sup>56</sup>. Para evitar este proceso, desde 2017 está vigente la 8ª edición del TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC), donde los casos con muy alta carga tumoral adenopática pasan a ser de un estadio mayor (N3b). En nuestro estudio, cuando clasificamos los tumores según el nuevo sistema respecto a la 7ª edición, se puede ver una importante migración de casos hacia estadios mayores como también describen otros autores<sup>57</sup>.

Figura 5.2: Supervivencia global por estadios de la población del estudio 1.





En este sentido se ha propuesto que la aplicación de nuevos sistemas de medición de la afectación ganglionar podría disminuir el efecto de migración de estadiaje que se presenta en el CGD<sup>58</sup>. Con fin de mejorar la estadificación del CGD, se ha evaluado la medición del **ratio nodal** (RN) como alternativa de medición de la infiltración ganglionar. En nuestro estudio la relación RN fue un factor pronóstico independiente para la estimación de la supervivencia global en el cáncer gástrico y más concretamente en CGD.

## 5.5 PARTICULARIDADES DEL TRATAMIENTO DEL CGD

### 5.5.1 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DEL CGD

#### **Resección gástrica y márgenes quirúrgicos.**

La principal premisa de la cirugía oncológica es la consecución de una resección tumoral R0. Bajo dicho objetivo, existe controversia respecto a la magnitud de la resección gástrica que se debe realizar según la localización del tumor. Algunos autores proponen la gastrectomía total para todos los casos de CGD o PC. Las guías clínicas recomiendan la gastrectomía total exclusivamente para los casos en los que el tumor se presenta en localización proximal y para aquellos con infiltración difusa con el objetivo de conseguir un margen proximal de seguridad amplio. En concreto, la guía de la asociación Japonesa propone un margen de 5 cm, mientras que la guía ESMO propone hasta 8 cm para estos tumores<sup>59-60</sup>. No obstante, no existe bibliografía randomizada que justifique tales márgenes de resección. Por lo tanto son tres las incógnitas sin contestar a este respecto: [1] cuál debe considerarse el margen microscópico necesario en milímetros para ser considerada una resección R0, [2] cuál es el margen necesario que produzca un impacto en la supervivencia global o en la recidiva tumoral y [3] el impacto de la gastrectomía extendida en las complicaciones y la calidad de vida de los pacientes gastrectomizados.

En nuestra serie, el CGD ha precisado mayor tasa de gastrectomía total (34,7%) frente al 29,7% de los intestinales, a pesar de que la localización de estos no es más proximal. Es diferente el escenario de los tumores que adquieren morfología LP, que se localizaron en el 1/3 superior del estómago en un 46.2%, donde la gastrectomía total fue la técnica más utilizada (76,9%), al igual que se muestra en la literatura<sup>55</sup>. Cabe destacar por otro lado que en este trabajo no han sido considerados los tumores de la unión esófago gástrica (UEG) o tumores de cardias, clasificados mediante la clasificación modificada de Sievert, ya que además de haber sido clasificados en la 7ª edición de la TNM como tumores de esófago, todos ellos requieren algún grado de esofagectomía.

El margen de resección es valorado por el patólogo sobre una muestra bien congelada o por fijación de la sección del margen de la pieza quirúrgica y considerado positivo cuando existen nidos tumorales en dicho segmento. Ante la ausencia de datos sobre la longitud óptima de este segmento en la literatura, en nuestro estudio se ha considerado un margen quirúrgico de 3–5mm como necesario para conseguir un margen negativo y por consiguiente una cirugía R0.

Algunos estudios han intentado valorar el impacto del margen de resección en la SG y la recidiva local, concluyendo que la longitud del margen quirúrgico de resección no influye en la recidiva local ni la supervivencia global una vez conseguido un margen de resección microscópico negativo<sup>61</sup>. En nuestro estudio, un margen quirúrgico mayor de 1cm se muestra significativamente protector para la recidiva tumoral respecto al margen afecto, con HR de 0,59 en los que presentaron márgenes de 1 a 3cm y HR de 0,71 mayor de 3cm, sin que existan diferencias en el impacto cuanto mayor es el mismo.

La gastrectomía total presenta una morbimortalidad elevada, claramente mayor que la gastrectomía subtotal. La complicación más grave es la dehiscencia de sutura de la anastomosis esófago-yeyunal (EJA), entre 5-15%<sup>62-63</sup>. Sin embargo, en la gastrectomía subtotal la dehiscencia de sutura gastro-yeyunal es de entre 0,5 y 3% de los casos<sup>64</sup>. Además, la mortalidad asociada a la fuga anastomótica es elevada, pudiendo causar la muerte de 1 de cada tres pacientes<sup>65</sup>.

Diferentes estudios han relacionado las complicaciones posquirúrgicas con la recidiva local y la SG, por lo que existe suficiente evidencia para apoyar la relación entre las complicaciones postoperatorias y el peor pronóstico después de la gastrectomía radical sobre todo en pacientes en estadios II y III<sup>66</sup>. Del mismo modo, en nuestro estudio se demuestra que las complicaciones que precisan tratamiento (Clavien Dindo (CD)>2) influyen significativamente en la SG y en la supervivencia libre de enfermedad, sobre todo aquellas como consecuencia de complicaciones graves que requieren reintervención como la dehiscencia anastomótica.

Por otro lado, la gastrectomía total por sistema no garantiza la extirpación R0 del tumor en la pieza quirúrgica, ya que los límites de infiltración son muchas veces macroscópicamente imprecisos y puede sobrepasar microscópicamente la unión esófago gástrica hacia el esófago. En nuestro caso, el 10% de las gastrectomías totales presentó márgenes positivos (R1), acorde con la literatura, donde se reportan elevadas tasas de resecciones insuficientes (R1/R2)<sup>67</sup>.

El problema surge cuando el margen proximal en la gastrectomía total se encuentra afecto y la extensión de la resección hacia el esófago obliga a una anastomosis insegura, muchas veces mediastínica. Pocos estudios ayudan a tomar una decisión sobre este problema durante la gastrectomía. Debe tenerse en cuenta que el margen microscópico positivo representa habitualmente una enfermedad avanzada, en la que el pronóstico no

solo lo marcará la resección R0, sino la diseminación linfática y la respuesta al tratamiento oncológico<sup>68</sup> preoperatorio y posoperatorio.

No obstante, debemos ser rigurosos con las resecciones limitadas, ya que son elevados los falsos negativos de los márgenes de resección causados por la baja celularidad de los CPC y la infiltración submucosa que en ocasiones puede respetar la mucosa. En este sentido, consideramos que resecciones casi totales o ampliadas del estómago, como la gastrectomía 95%, asociadas a biopsia intraoperatoria de los márgenes quirúrgicos, pueden ser una alternativa para conseguir una resección R0 de tumores distales, incluso de cuerpo gástrico sin necesidad de realizar sistemáticamente gastrectomías totales, disminuyendo así la morbimortalidad de manera significativa.

Durante la estancia formativa de 3 meses realizada en el Centre Hospitalier Luxembourg se ha llevado a cabo un estudio sobre una cohorte prospectiva observacional en 67 pacientes con gastrectomía 95% laparoscópica realizadas entre 2014 y 2017 y que ha sido publicado en la revista Cirugía española. El objetivo principal ha sido valorar la seguridad y calidad de la cirugía oncológica. No existió ningún caso de fuga anastomótica, y se realizó resección radical R0 en todos los pacientes. Se concluye que la gastrectomía 95% permite en pacientes seleccionados cumplir los estándares oncológicos de resección en el cáncer gástrico de manera reproducible y segura, disminuyendo los riesgos perioperatorios como la fuga anastomótica.

En este punto cabe destacar la aportación de la laparoscopia en este tipo de gastrectomía. A pesar de que la vía quirúrgica abierta sigue siendo la preferida para la gastrectomía por cáncer a nivel mundial, el desarrollo técnico de la laparoscopia y la experiencia acumulada a lo largo de los años mediante la cirugía bariátrica ha ayudado a que cada vez más centros realicen gastrectomías oncológicas laparoscópicas. Diferentes series actuales demuestran que una vez superada la curva de aprendizaje, no solo la seguridad y reproductibilidad de las técnicas miniinvasivas están garantizadas, sino que además presentan una menor tasa de complicaciones y estancia hospitalaria sin comprometer de manera alguna el pronóstico oncológico<sup>69</sup>. En la actualidad, el desarrollo de la cirugía robótica magnifica las ventajas de la cirugía laparoscópica con una curva de aprendizaje mas accesible<sup>70</sup>. Aunque todavía parece lejana su generalización, las ventajas respecto a la navegación quirúrgica y la realidad biológica aumentada pueden ayudar en la expansión de esta herramienta quirúrgica.

### **Linfadenectomía**

Otro de los puntos clásicos de discusión que ha suscitado interés en los últimos años ha sido la extensión de la linfadenectomía. Existe evidencia suficiente a favor de que la linfadenectomía D2 disminuye la tasa de recurrencia y aumenta la supervivencia respecto a la D1 y así la recomiendan las guías clínicas<sup>71</sup>. Aunque se hace distinción respecto a

los cánceres precoces EGC en los que pudiera estar relacionada una linfadenectomía limitada D1, no se hace distinción respecto al subtipo histológico.

Nuestro estudio muestra que la afectación ganglionar es significativamente mayor en CGD y tanto el grado de la infiltración ganglionar tumoral (N) como el tipo de linfadenectomía realizada se han relacionado independientemente con la SG. En consecuencia, atendiendo al grado de linfotropismo del CGD, no parece adecuado proponer el mismo nivel de linfadenectomía en todos los casos. De este modo, se han descrito tasas de recurrencia más bajas para linfadenectomías D3 que para disecciones D2 en pacientes con adenocarcinoma de histología difusa (48,3 frente a 61,5%)<sup>72</sup>. Por lo tanto, aunque actualmente la recomendación para todos los subtipos de cáncer gástrico con intención curativa es la resección linfática tipo D2, es probable que sea el CGD el que más se beneficie de una resección linfática ampliada a los grupos retroduodenales y pancreáticos (D2+) o linfadenectomías D3.

### **Prevención y tratamiento de la enfermedad peritoneal.**

La presencia de implantes peritoneales es más frecuente en el CGD<sup>73</sup>. En nuestra serie el 72% de los casos con hallazgo intraoperatorio de enfermedad diseminada eran CGD con carcinomatosis peritoneal. Por lo tanto, técnicas como la epiplonectomía completa y la bursectomía toman mayor importancia en el caso de estos tumores, pudiendo estar recomendadas en tumores T3/T459. Diversos autores han informado del beneficio sobre la supervivencia del lavado peritoneal intraoperatorio extenso en pacientes con cáncer gástrico con citología peritoneal positiva. No obstante, un reciente ensayo clínico randomizado demuestra que la citología del lavado peritoneal no mejora la supervivencia o la recurrencia peritoneal en pacientes que se someten a una gastrectomía por cáncer gástrico avanzado<sup>74</sup>. Por otro lado, los últimos años ha comenzado a desarrollarse la quimioterapia intraoperatoria (HIPEC) en cáncer gástrico. Aunque ningún estudio describe por el momento específicamente su utilidad en la CGD, esta técnica resulta esperanzadora debido a la importancia de la diseminación peritoneal en estos tumores, por lo que nuevos estudios se están llevando a cabo con tal fin<sup>75</sup>.

### **5.5.2 TRATAMIENTO ADYUVANTE**

El tratamiento **neoadyuvante** del cáncer gástrico presenta varias teóricas ventajas, como el mejor control local y menor tasa de resecciones R1. Tal y como se ha descrito, los CGD se presentan habitualmente como tumores localmente avanzados al diagnóstico y presentan mayor riesgo de resecciones R1, por lo que podrían ser considerados en muchos casos como candidatos idóneos a recibir un tratamiento quimioterápico preoperatorio. No obstante, los resultados de diferentes esquemas quimioterápicos neoadyuvantes muestran resultados desalentadores para los tumores de tipo infiltrante difuso. El MAGIC en 2006 fue el primer estudio que mostró superioridad en la supervivencia global y en el periodo libre de enfermedad del tratamiento perioperatorio (HR:0,75

(0,60-0,93) y HR0,66 (0,53-0,81)), por lo que se convirtió en el esquema de tratamiento gold estándar durante 10 años, pero no hace distinción en cuanto a CGD o CGI en sus resultados<sup>76</sup>. Posteriormente el FLOT ha sustituido al protocolo MAGIC los últimos años, por mostrar mejores resultados frente a este mismo con una SG de 50 meses frente a 35 (HR: 0,77 (0,63-0,94)). No obstante, su fase II refleja una peor tasa de respuesta completa patológica al tratamiento neoadyuvante, reflejada como TRG1a, para los CGD respecto a los intestinales (23% en FLOT y 10% ECF/ECX PARA CGI vs 3% para para los CGD)<sup>77</sup>. En su fase III el estudio FLOT muestra resultados algo mejores respecto al MAGIC para el tratamiento del CGD (HR: 0,852) y en concreto para los CCAS (HR:0,74) pero sin diferencias estadísticamente significativas. No obstante, no existen estudios que comparen el tratamiento neoadyuvante frente a la Cirugía sola o con adyuvancia mediante quimio o quimiorradioterapia postoperatoria en pacientes con CGD. El PRODIGE 19 de fase II se diseñó con este fin y aunque los resultados definitivos están pendientes, parece ser favorable a una quimioterapia neoadyuvante en el CCAS<sup>78</sup>.

Aunque basándose en la literatura la aplicación de la neoadyuvancia no puede ser descartada en casos de CGD, algunos autores proponen la cirugía radical de entrada basándose en la posible futilidad de estos tratamientos y la progresión de la enfermedad durante su aplicación. Probablemente presenten un perfil de quimiosensibilidad distinto, por lo que nuevos estudios se están llevando a cabo para determinar la utilidad de los tratamientos adyuvantes en este tipo de tumores<sup>79</sup>.

Durante el periodo de estudio en nuestro hospital se iniciaba la aplicación del tratamiento neoadyuvante según esquema MAGIC en cáncer gástrico, que recibieron 14 pacientes que han sido excluidos del análisis de supervivencia. A pesar de tratarse de una baja n, con un periodo de seguimiento de 46 meses la supervivencia global al 3er año se ha mostrado 12,5% mejor en el grupo de neoadyuvancia frente a la cirugía sola (56,5% vs 44%), resultados superponibles al estudio MAGIC. Por otro lado se confirma la tendencia de una menor supervivencia global de los CGD tratados mediante este protocolo frente a los CGI (27 meses (IC95%: 23-63) vs 64 meses (IC 95%: 32-96).

En la serie el tratamiento estándar para los cánceres gástricos localmente avanzados fue mediante quimio-radioterapia postoperatoria según esquema INT0116 de Mc Donald<sup>80</sup> (46,2%). Atendiendo al estadio avanzado en el que se diagnostican los CGD, los pacientes han precisado tratamiento adyuvante en un porcentaje significativamente superior a los CGI (64,3% vs 42,7%). Aunque la literatura no aclara cual debe ser el tratamiento adyuvante en el caso del CGD, existen ciertos indicios de que puede no presentar beneficios. El INT0116 no hace distinción entre CGD y CGI, pero en el estudio ARTIST, trabajo que confirmó los hallazgos de este último, la mayoría de casos (57%) son CGD y sugiere una menor sensibilidad a la QRT del CGD<sup>81</sup>. Un estudio reciente sobre la reevaluación de los resultados del esquema INTO116 muestra resultados similares, con menor sensibilidad a la QRT sobre todo en mujeres con CGD<sup>82</sup>. No obstante, en nuestra serie, la RQT se ha mostrado como el único factor independiente de buen pronóstico de

supervivencia global en el CGD con un HR de 0,25 (IC 95%: 0,12-0,49) vs QT adyuvante 0,47 (IC 95%: 0,2-1,1).

### **Terapia personalizada.**

Por otro lado, a partir del histórico ensayo ToGA se ha estudiado la aplicación del Trastuzumab a los esquemas de MGIC y FLOT con resultados prometedores<sup>83-84</sup>. No obstante, del mismo modo que en nuestro estudio, donde menos del 5% de los casos de CGD son Her-2+, todas las series muestran que menos del 10% lo son, por lo que la terapia dirigida mediante Trastuzumab no puede ser utilizada frente al cerca de 25% de los CGI en los que es posible su utilización.

Con respecto a los agentes biológicos antiangiogénicos, la adición de Bevacizumab al tratamiento perioperatorio no ha mostrado beneficio en la SG además de asociarse con una cicatrización deficiente de la herida y una fuga de la anastomosis<sup>85</sup>. No obstante, el Ramucirumab está siendo investigando actualmente sobre FLOT para adenocarcinomas gástricos negativos para Her-2<sup>86</sup>.

Finalmente, la investigación más actual se centra en el papel de la inmunoterapia en CG y su posible utilidad en el CGD. En este sentido los estudios en curso buscan evaluar la eficacia y seguridad de Pembrolizumab y Avelumab sobre FLOT como tratamiento perioperatorio para el adenocarcinoma gástrico<sup>87</sup>.

En conclusión, a pesar de que existen diferentes agentes biológicos que están siendo investigados en los ensayos internacionales actuales, estos no han logrado mejorar los resultados lo suficiente como para ser considerados dentro del tratamiento estándar. No obstante, siguen en curso diferentes ensayos que evalúan el papel de los agentes biológicos e inmunológicos en este campo. Por estas razones, futuros ensayos sobre proteómica deben dirigirse a detectar posibles dianas terapéuticas de modo que puedan aplicarse terapias cada vez mas personalizadas.

## **B. PERFIL PROTEÓMICO DEL CGD Y APLICABILIDAD CLÍNICA.**

### **5.6 CARACTERIZACIÓN MULTIÓMICA DEL CÁNCER GÁSTRICO DE TIPO DIFUSO.**

La medicina y cirugía de precisión, basada en la caracterización molecular del cáncer gástrico difuso, es una estrategia terapéutica diseñada específicamente para cada paciente. Estas deberían sustituir al tratamiento basado en la localización anatómica del tumor o del estadio tumoral (TNM) avanzado. Para ello, es preciso que la información molecular esté disponible.

#### **5.6.1 ESTABILIDAD GENÓMICA EN EL CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO**

Los estudios genómicos han demostrado que en el CG el nivel de pérdida de heterocigosidad (PH) se asocia con el tipo histológico<sup>88-89</sup>. Un alto nivel de PH se correlaciona con (ACG) de tipo intestinal o mixto, mientras que, una PH basal la tiene el CGD, lo que sugiere un menor grado de inestabilidad genómica<sup>88-89</sup>. El CGD se caracteriza por una clonalidad significativamente menor y un número menor de variantes somáticas en comparación con el (ACG), lo que también sugiere la estabilidad del genoma del CGD20. En particular, se han informado ganancias en el número de copias en el brazo largo del cromosoma 13<sup>90</sup>.

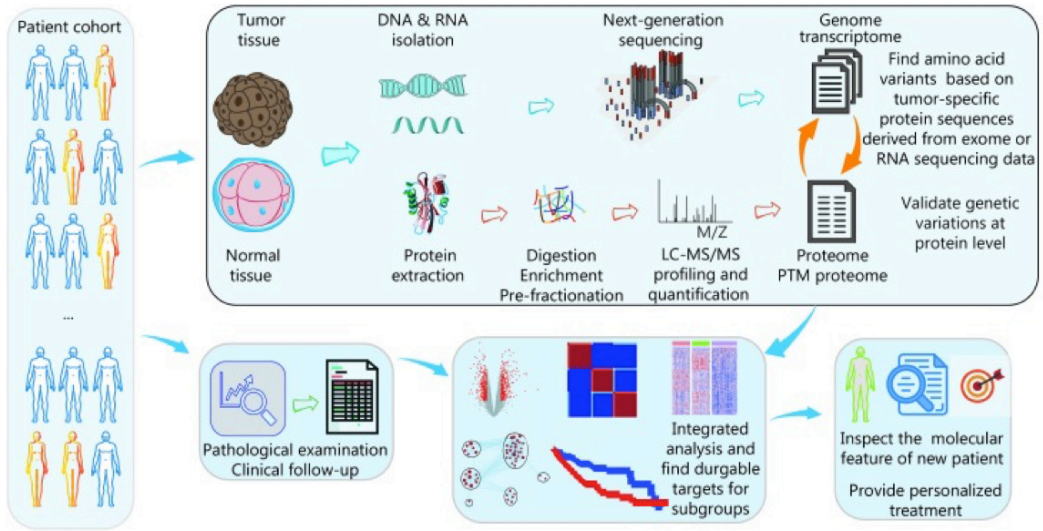
Sin embargo, la progresión de la enfermedad especialmente durante el tratamiento, suele ir acompañada de evolución genómica y progresión de subpoblaciones de cáncer clonal. La predicción de la respuesta a los medicamentos es independiente del estadio tumoral y apunta más a la base genética subyacente y al empuje realizado por las mutaciones impulsoras de la enfermedad. De esta forma, a medida que los pacientes muestran progresión, el tejido tumoral en progresión y la medicación utilizada requieren una reevaluación.

El ensayo WINTHER establece que los perfiles genómicos y transcriptómicos son útiles para mejorar las recomendaciones terapéuticas y el resultado del paciente, lo que amplía el tratamiento personalizado del cáncer. Menos terapias previas, mejor estado funcional y mayor puntuación de emparejamiento se correlacionan con una supervivencia libre de progresión más prolongada<sup>91</sup>.

#### **5.6.2 ANÁLISIS PROTEO-GENÓMICO EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE PRECISIÓN**

La estrategia general para el análisis proteogenómico y su posible aplicación a la medicina y cirugía de precisión es mostrada en la Fig.5.2 tomada de Wang<sup>92</sup>.

**Figura 5.3 Estrategia del análisis proteo-genómico para la medicina y cirugía de precisión**



El DNA y RNA es extraído y aislado de las muestras tisulares tumorales de cada paciente con carcinoma gástrico difuso y del tejido sano peritumoral (normal) del mismo paciente. El análisis se realiza por secuenciación completa de siguiente generación.

Para el análisis proteómico se extraen las proteínas tisulares de las muestras, se digieren en péptidos y se fraccionan con cromatografía líquida. A continuación, los péptido pre-fraccionados se analizan por proteómica del descubrimiento con espectrometría de masas en tándem con comatografía líquida. Con ello, la proteína es identificada y cuantificada. Las proteínas identificadas se utilizan para construir una base de datos personalizada.

Variaciones genómicas específicas del tumor, como mutaciones somáticas o mutaciones en línea germinal también son identificadas, conociendo el porcentaje de las mismas para cada paciente.

La presencia de mutaciones del CDH1 en la línea germinal o somática se consideran el punto clave en el desarrollo del CGD. La inactivación de CDH1 conduce a CG difuso hereditario y modula la señalización de la E-cadherina, que a su vez actúa sobre las vías de señalización mediadas, entre otras, por RHOA y WNT, que regulan la invasión y migración celular<sup>93-94</sup>.



### 5.6.3 SECUENCIACIÓN COMPLETA DEL GENOMA

Los estudios de secuenciación del genoma completo han revelado mutaciones somáticas recurrentes en CDH1 y RHOA en el CGD. En concreto se ha visto que las mutaciones CDH1 y RHOA son más frecuentes en el CGD que en el CGI, (33% vs 2% y 25% vs 0%)<sup>95-96</sup>. La mutación somática de CDH1 se ha asociado con una reducción de la supervivencia de los pacientes con CGD. No obstante, no hay evidencia que sugiera que la mutación RHOA afecte la supervivencia<sup>97</sup>.

*CDH1* y *RHOA* muestran alta frecuencia de mutaciones (10-46%) en los pacientes analizados por Ge<sup>32</sup>. En los resultados los casos 1,2 y 3 se observa que el valor de cuantificación de la proteína CDH1 está regulada al alza en el tejido sano. Se ha descrito que las proteínas no detectadas probablemente se encuentren entre las proteínas que están por debajo del límite de detección del método actual. Las proteínas derivadas de un amplio número de genes mutados, incluido el CDH1, se detectan solo en tejidos cercanos pero no en el propio tumor. Ello ha generado controversia sobre si las proteínas mutantes no se podrían detectar a través del análisis proteómico. En nuestro caso, CDH1 si ha sido cuantificada en el tejido tumoral. Es por ello por lo que hemos podido utilizar en el análisis proteómico el cociente de cuantificación proteica de la relación tejido tumoral /sano como valor de cuantificación proteica. Ahora bien, esto no excluye ni confirma que CDH1 pueda estar o no mutado. Si bien es esperable la pérdida de proteínas supresoras en el tumor, el fallo en la detección de oncoproteínas en los tumores genera una desconfianza sobre el uso exclusivo de la genómica para "predecir" la expresión de proteínas y enfatiza en la necesidad de medir proteínas directamente en los tejidos.

### 5.6.4 ANÁLISIS PROTEÓMICO

Al mismo tiempo, se han desarrollado estudios basados en análisis proteómica de 84 pacientes que muestran el paisaje del proteoma del CGD alterado<sup>32</sup>. Los resultados de dicho estudio nos han permitido realizar un análisis más global y explorar las vías de señalización alteradas. De los 39 genes que son frecuentemente mutados solo 9 de ellos mostraron expresiones proteicas significativamente alteradas.

En un estudio posterior del mismo grupo realizan un mapa fosfoproteómico de 83 casos de CGD, lo que puede ayudar a esclarecer la función de cada proteína dependiendo de la activación o inactivación de dichas proteínas mediante el grado de fosforilación de las mismas.

A través de los perfiles de transcripción basados en la expresión relacionada con la transición epitelio mesénquima (TEM) es posible clasificar dos subtipos de CGD: el puro difuso, con una peor supervivencia y una mejor respuesta a la quimioterapia adyuvante; y el intestinal-like, que se asoció con una mayor carga de mutaciones tumorales y podría responder mejor a los inhibidores de puntos de control inmunitarios<sup>98</sup>.

### 5.6.5 MUTACIONES SOMÁTICAS QUE PERTURBAN LAS REDES DE INTERACCIÓN PROTEÍNA-PROTEÍNA

Además de analizar el enriquecimiento funcional de los genes e identificar y cuantificar las proteínas correspondientes en los casos del Hospital Cruces, hemos realizado un análisis del interactoma buscando redes de interacción proteína-proteína.

Los avances tecnológicos y computacionales en genómica, proteómica e interactómica han hecho posible identificar mutaciones de enfermedades que perturban las redes de interacción proteína – proteína humana. Éstas son alteradas por mutaciones codificantes somáticas que alteran la afinidad de unión física entre proteína - proteína. Así, se ha observado que en el sistema Rhoa –ARHGDI la sustitución p.Pro75Ser provoca un cambio en la estructura secundaria de la región. Estas perturbaciones se asocian significativamente con la tasa de supervivencia y pronóstico deficiente, así como con la sensibilidad o resistencia al fármaco<sup>99</sup>.

En los casos analizados del Hospital Cruces con desregulación de la vía de señalización WNT en el cáncer gástrico difuso hemos observado en la relación tejido tumoral /sano una regulación al alza en el tejido tumoral de las proteínas que participan en el proceso de fosforilación, PTPN1 (Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 1) y PPP2CA (Protein Phosphatase 2 Catalytic Subunit Alpha).

Se sabe que las PTP son moléculas de señalización, que regulan una variedad de procesos celulares que incluyen el crecimiento celular, la diferenciación, el ciclo mitótico y la transformación oncogénica. Por otro lado, PPP2CA es un gen que codifica la subunidad catalítica de la fosfatasa 2A. La proteína fosfatasa 2A es una de las cuatro principales fosfatasas Ser / Thr que están implicadas en el control negativo del crecimiento y división celular.

Por otro lado, también en los casos\_Cruces<sup>1,2,3</sup> hemos identificado las proteínas ARHGEF16 y RHOA. Al comparar los valores de cuantificación de la relación tejido tumoral y sano hemos observado como PPP2CA y ARHGEF16 tienen un cociente de cuantificación > de 1. Sin embargo, PTPN1 su relación entre el tejido tumoral y sano es próxima a 0, mientras que el valor de cuantificación de RHOA está regulada al alza en el tejido sano. El gen ARHGEF16, se denomina Factor 16 de intercambio de nucleótidos de guanina en la familia Rho. Los dominios RhoGEF, presentes en este gen, describe dos dominios estructurales distintos con actividad de factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) para regular pequeñas GTPasas en la familia Rho. Estos dominios en las proteínas son capaces de promover la liberación de GDP y la unión de GTP, para activar miembros específicos de la familia Rho, incluidos RhoA. El gen ARHGEF16 muestra mutaciones recurrentes sin sentido potencialmente oncogénicas. Un 2,5% de los cánceres gástricos tienen algún tipo de mutación que altera esta relación proteína-proteína.

Una proteína reguladora de este gen aguas arriba es TBK1 S107p, que puede ser inhibida por un fármaco que interrumpe el ensamblaje de los microtúbulos. Esto previene la mitosis e induce la apoptosis en las células tumorales. El gen PPP2CA cataliza las desfosforilaciones de fosfo-Ser / Thr y también puede sufrir mutaciones en las redes proteína-proteína. El fármaco antitumoral LB-100 es un inhibidor catalítico de la proteína fosfatasa 2A (PPP2CA), que tiene actividad antitumoral y que también podría ser utilizado para bloquear el proceso de fosforilación<sup>100</sup>.

### **5.6.6 SUBTIPOS MOLECULARES DE CÁNCER GÁSTRICO DIFUSO**

Mapear el panorama proteo-genómico del cáncer y tipificarlo a nivel molecular tiene como objetivo estratificar a los pacientes en subtipos y asociarlos con los resultados clínicos, las respuestas a la terapia y las características biológicas.

El CGD ha sido subclasificado en tres subtipos (PX1-3). En los casos 1, 2, 3 del Hospital de Cruces esta subclasificación ha permitido analizar el subtipo enriquecido del ciclo celular (PX1), de la transición epitelio-mesénquima TEM (PX2) y el de los procesos inmunológicos (PX3).

Los pacientes con PX3 tienen una supervivencia global más corta, junto con una mala respuesta a la quimioterapia. El subtipo PX1 tiene la mejor SG, mientras que PX3 tiene la peor. El análisis de supervivencia de los pacientes muestra una tendencia similar independientemente del estadiaje TNM. La subtipificación se asocia con un resultado basado únicamente en el proteoma. El subtipo proteómico también se muestra como un factor predictivo independiente en el análisis multivariante (HR = 2,757; p= 0,006).

## **5.7 APLICABILIDAD CLÍNICA:**

Como puede verse, cada vez son más los estudios que intentan aclarar los mecanismos biológicos del cáncer gástrico en general y del cáncer gástrico difuso en particular. No obstante, en el contexto de una medicina personalizada, consideramos crucial la extrapolación de los resultados hacia una aplicabilidad clínica que permita la toma de decisiones enfocadas al diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

A continuación se detallan los aspectos críticos en el diagnóstico y tratamiento del CGD detectados en la parte clínica de este trabajo para los que la aplicabilidad de la proteo-genómica pudiera resultar de ayuda en un futuro.

### 5.7.1 DEFINICIÓN DEL SUBTIPO TUMORAL

Como se ha descrito previamente, por un lado, la clasificación histológica de Lauren resulta en ocasiones ambigua, ya que presenta muchos casos indeterminados y mixtos; y por otro, las definiciones dentro de los tumores pobremente cohesivos de la OMS han variado durante los años en función del porcentaje de determinadas células por campo que se aprecian en la anatomía patológica. Esto hace que en muchas ocasiones no sea posible tomar decisiones con enfoque terapéutico personalizado basándose exclusivamente en la histología clásica.

Estudios recientes han definido las características moleculares del CCAS, informando una alta frecuencia de CLDN18-ARHGAP26 / 6 fusión que se asoció con resultados de peor pronóstico y resistencia a la quimioterapia. Por otro lado, existe mayor prevalencia de mutaciones somáticas CDH1 (42,2% frente a 17,4%) y poca frecuencia de mutaciones de RHOA (9,2% frente a 19,1%) en el CCAS en comparación con otros tipos de carcinomas poco cohesivos<sup>101</sup>. Las alteraciones de CDH1, a diferencia de las mutaciones de RHOA, se asociaron con tiempos de supervivencia más cortos de los pacientes, lo que podría explicar el curso clínico agresivo de este tipo de CGD.

Por lo tanto, como ya se hace en otros tumores como los de mama y colon, un análisis genómico y proteómico de las piezas quirúrgicas podría ayudar a la histología a definir más concretamente los tumores. Por ello, en el presente trabajo se propone que la nueva clasificación molecular de Ge et al puede ayudar a definir el subtipo tumoral y poder así tomar decisiones terapéuticas personalizadas orientadas a un subtipo concreto de tumor. No obstante, son precisos más trabajos que acerquen los resultados de estudios de proteómica a la clínica con el objetivo de permitir un diagnóstico más certero que guíe un tratamiento personalizado.

### 5.7.2 DIANAS TERAPÉUTICAS

En este sentido, no debemos olvidar que uno de los objetivos fundamentales del estudio de la proteogenómica de los tumores es el descubrimiento de moléculas que sirvan como dianas terapéuticas específicas contra cada tipo de cáncer. Todo estudio proteómico finaliza nominando proteínas candidatas a ser neutralizadas con terapia que mejore el pronóstico de los pacientes. Trabajos previos han descrito diferentes proteínas diana que puedan ser objetivo de medicamentos específicos para cada subtipos de CGD.

#### **Posible dianas terapéuticas del subgrupo PX1.**

La PCNA es un antígeno nuclear de proliferación celular, que coordina una amplia gama de procesos involucrados en la regulación del ciclo celular. La sobreexpresión de PCNA se asocia con cáncer gástrico de supervivencia escasa y características clínico patológicas de cáncer gástrico avanzado. Hay dos tipos de inhibidores dirigidos a la

PCNA. Una de las modificaciones post-traduccionales de PCNA para la inhibición de la proliferación celular es la fosforilación de residuos de tirosina 211 (pY2119) de PCNA que puede ser inhibida directamente por el péptido Y211F. El péptido puede inhibir la síntesis de DNA, lo que se demuestra con la detención del ciclo celular en fase S y la apoptosis *in vitro*. El tratamiento con PCNA -I ha dado como resultado la regulación a la baja de la PCNA asociada a la cromatina, la inhibición de la replicación del DNA y la supresión de la proliferación de varias líneas celulares tumorales<sup>102</sup>.

Por otro lado, los niveles de expresión de ARNm de RPA1, 2 y 3 son significativamente más altos en GC que en tejidos normales. Además, los niveles elevados de expresión de ARNm de RPA3 y 4 se asocian con un mal pronóstico en pacientes con CG. Por lo tanto, se debe considerar el uso de RPA como posibles biomarcador de pronóstico de la progresión del GC<sup>103</sup>. En los casos 1, 2 y 3, los valores de cuantificación de RPA2 están regulados al alza en el tejido tumoral. La proteína de replicación del DNA y sus subtipos son esenciales en las principales vías metabólicas del DNA. La expresión elevada de RPA2 se ha observado en carcinomas gástricos de bajo grado con ganglios linfáticos negativos y en etapas más precoces de desarrollo tumoral. En pacientes con ganglios linfáticos positivos y estadio tumoral avanzado la expresión de RPA predice una mejor supervivencia global. La cuantificación elevada de esta proteína se corresponde a los casos PX1 relacionados con el ciclo celular y se corresponde dentro del CGD con el subtipo con mejor pronóstico. S0148 HAMNO es un inhibidor de la proteína de replicación A con actividad antitumoral. Inhibe tanto la autofosforilación de ATR como la fosforilación de RPA32 SER 33 por ATR<sup>104</sup>.

### **Posible dianas terapéuticas del subgrupo PX2.**

COL4A1 es un biomarcador de pronóstico característico e independiente en pacientes con GC. La alta expresión de COL4A1 se correlaciona con un peor pronóstico de los pacientes con GC tratados solo con cirugía, mientras que una mayor expresión de COL4A1 se correlaciona con una menor supervivencia de los pacientes tratados con terapia adyuvante basada en 5-fluorouracilo<sup>105</sup>. También se ha identificado COL4A1 como un gen potencial que puede conferir resistencia a Trastuzumab en cáncer gástrico basado en análisis bioinformático<sup>106</sup>.

Varios inhibidores de MMP se encuentran en ensayos clínicos, dirigidos a una variedad de enfermedades que incluyen cáncer gástrico<sup>107</sup>. Se ha propuesto que la función principal de las MMP es la modulación de los procesos inflamatorios e inmunitarios. El procesamiento de MMP puede activar o inhibir una variedad de quimiocinas y citocinas. Los neutrófilos liberan una forma de MMP-9 sin TIMP que promueve la angiogénesis. En general, las MMP pueden escindir prácticamente todas las quimiocinas humanas. Se ha utilizado GS5745 / andecaliximab en combinación con mFOLFOX6 (oxaliplatino, leucovorina y 5-fluorouracilo) en un ensayo clínico de fase I de 40 pacientes con adenocarcinoma gástrico y de la unión gastroesofágica negativa para HER2<sup>108</sup>.

La vía RhoA mantiene los fenotipos difusos de las células madre del cáncer gástrico, como la formación de esferoides, y promueve la transición epitelial a mesenquimal. La inhibición de la vía RhoA puede revertir la resistencia a la quimioterapia en modelos de xenoinjerto. En 136 pacientes con cáncer gástrico difuso, una alta actividad de RhoA se correlaciona con una supervivencia general significativamente peor. Por tanto, la combinación de inhibición de RhoA y quimioterapia puede ser una estrategia terapéutica eficaz en pacientes con cáncer gástrico difuso. CHEBI: 138380 es un inhibidor que interfiere con la acción de la proteína RhoA<sup>109</sup>.

### **Posible dianas terapéuticas del subgrupo PX3.**

El inhibidor del proteasoma Bortezomib es un nuevo fármaco contra el cáncer. Su eficacia clínica se ha visto obstaculizada por la aparición de fenómenos de resistencia a los fármacos. Un mecanismo de resistencia a Bortezomib está asociado con la sobreexpresión selectiva de una proteína PSMB5 mutante. El mecanismo molecular de la resistencia a Bortezomib una mutación Ala49Thr que reside en un bolsillo de unión a Bortezomib altamente conservado en la proteína de la subunidad beta 5 del proteasoma (PSMB5). La restauración de la sensibilidad a Bortezomib en células resistentes a Bortezomib se realiza mediante silenciamiento de la expresión del gen PSMB5 mediado por ARNip<sup>110</sup>.

La quinasa 1 de unión a TANK, TBK1 regula la inflamación, el ciclo celular, la autofagia, la homeostasis energética y la muerte celular. Modelos de cáncer preclínicos sugieren que dirigirse a TBK1 con el inhibidor GSK8612, puede ser una estrategia eficaz para la terapia contra el cáncer en entornos específicos<sup>111</sup>.

### **5.7.3 CIRUGÍA PERSONALIZADA Y DE PRECISIÓN**

#### **Exactitud de los márgenes quirúrgicos para personalizar la resección gástrica.**

Como previamente se ha descrito, para conseguir una resección R0 clásicamente las guías han exigido márgenes de resección amplios, lo que en muchas ocasiones conlleva la necesidad de realizar una gastrectomía total con mayor morbilidad. Sin embargo, recientemente numerosos estudios han reflejado la ausencia de relación entre el margen de resección y la supervivencia libre de enfermedad y global. Con el objetivo de poder realizar resecciones quirúrgicas más precisas, con sección de la pieza quirúrgica en el lugar exacto donde comienza el tumor sin riesgo de que ello implique un mayor riesgo de recidiva, se han propuesto diferentes métodos de detección como la EUS o la biopsia rápida por congelación. No obstante, estos métodos además de no resultar prácticos intraoperatoriamente, no acaban de alcanzar la especificidad y sensibilidad necesarias para guiar la cirugía.

Estudios sobre perfiles proteómicos de márgenes de resección de cáncer gástrico han planteado la utilidad de la cuantificación proteica en este campo. El margen de resección presenta varias proteínas correlacionadas con el cáncer, pero también otras proteínas sobreexpresadas que pueden estar relacionadas con la nutrición tumoral y la metástasis, como el colágeno alfa-1, ceruloplasmina, calpastatina y E-cadherina. Se cree que el margen de resección juega un papel clave en la progresión local del tumor y en concreto, que las células cancerosas requieren un microambiente especial para nutrirse<sup>112</sup>.

Por lo tanto, consideramos que comprender la expresión proteica del margen de resección podría guiarnos mejor que las herramientas actuales hacia tratamientos quirúrgicos más exactos, mediante cirugías más concretas que reduzcan la morbimortalidad de las grandes resecciones. Por un lado, la detección de marcadores proteicos en biopsias intra-operatorias podría aumentar la especificidad de estas pruebas. Pero, en un futuro, técnicas de realidad biológica aumentada aportadas por la robótica deben ayudar a mejorar la cirugía guiada por imagen, para intra-operatoriamente poder detectar con exactitud el margen de resección que realmente influya en la supervivencia. Comienzan a realizarse en esta línea trabajos mediante anticuerpos marcados con fluorescencia dirigida a antígenos proteicos específicos del tumor que ayudan a guiar la cirugía<sup>113</sup>.

### **Predicción de la diseminación linfática y planificación de la linfadenectomía.**

Actualmente las diferentes guías clínicas recomiendan linfadenectomía D2 sin hacer distinción respecto al subtipo histológico. No obstante, como ya se ha descrito, el diferente linfotropismo de cada tipo de tumor hace que esto pueda ser insuficiente o incluso excesivo.

Diferentes estudios han mostrado un perfil proteico particular de los tumores gástricos que presentan diseminación linfática respecto a los que no la muestran. Por ejemplo, se ha descrito el aumento de la expresión de HSP60 y HSP90 en células tumorales de ganglios linfáticos<sup>114</sup>. Además, los estudios proteómicos han revelado que la expresión de ANXA2 aumenta en tumores con metástasis en los ganglios linfáticos en comparación con las células de cáncer gástrico N negativo<sup>115</sup>. La sobreexpresión de otras proteínas como las glaucocalyxin A (GLA) de GLA1 y GLA2 se ha asociado también con estadios avanzados de CG y metástasis en los ganglios linfáticos<sup>116</sup>.

Todos estos nuevos conocimientos, podría guiar la extensión de la linfadenectomía en pacientes con cáncer gástrico. Atendiendo al grado de linfotropismo previamente descrito en los diferentes tipos de tumores gástricos, en el contexto de la medicina personalizada no parece prudente proponer el mismo nivel de linfadenectomía en todos los casos y existen propuestas de extender la linfadenectomía a D2+ y D3 en tumores avanzados de histología difusa<sup>72</sup>. Como ya se ha mencionado, el subtipo PX2 de CGD presenta mayor N con importante carga ganglionar linfática, por lo que probablemente este sea el subtipo que más se beneficie de este tipo de linfadenectomía ampliada.

No obstante, la linfadenectomía como actualmente esta concebida, incluyendo la utilización del ganglio centinela y el ICG, se basa en la resección de los ganglios de drenaje linfático del tumor estén o no infiltrados. La integración de los avances moleculares y tecnológicos, mediante la realidad biológica aumentada y la cirugía guiada por imagen, pueden ayudar a la detección de los ganglios realmente afectados por el tumor, marcándolos con diferentes fluoróforos dirigidos a proteínas específicas del tumor y sus ganglios linfáticos, permitiendo intraoperatoriamente detectar con exactitud los ganglios afectados para así reseccarlos<sup>117</sup>.

### **Predicción de la diseminación peritoneal y tratamiento personalizado.**

La carcinomatosis peritoneal (CP) es la forma de presentación clínica más frecuente del CGD y está bien establecido que se asocia con un mayor riesgo en comparación con el tipo intestinal<sup>118-119</sup>. La CP sincrónica puede diagnosticarse preoperatoriamente o en demasiadas ocasiones durante la propia cirugía, mientras que la CP metacrónica ocurre como una recurrencia peritoneal después de la cirugía radical, lo que representa hasta el 40% de todas las recurrencias en nuestra serie.

Por un lado, la precisión de la citología del lavado peritoneal para detectar carcinomatosis peritoneal oculta es limitada y en demasiadas ocasiones resulta negativa. A lo largo de la última década, diferentes estudios han propuesto nuevos biomarcadores para detectar la EP sincrónica y predecir la EP metacrónica<sup>120</sup>. No obstante, gran proporción de pacientes con cáncer gástrico difuso se presenta con carcinomatosis peritoneal macroscópica en el momento del diagnóstico y no tiene tratamiento efectivo para aumentar la supervivencia. Según nuestra hipótesis, un mayor conocimiento mediante proteogenómica de los patrones clínicos de diseminación puede ayudar a estratificar el riesgo, predecir la supervivencia y determinar una elección más precisa de tratamiento quirúrgico. Actualmente, la quimioterapia hipertérmica intraperitoneal (HIPEC) pre o postoperatoria puede representar una estrategia adecuada, dadas las altas tasas de diseminación peritoneal en algunos subtipos de CGD<sup>121</sup>. Además, nuevas dianas terapéuticas han sido identificadas con este propósito y se han nominado proteínas control inmunitario<sup>122</sup>.

Por otro lado, con el fin de poder predecir la recidiva como enfermedad metacrónica, se conoce que desde una perspectiva de biología molecular, el proceso de la EP se asocia con la transición epitelio-mesenquima (TEM) y la ganancia de propiedades invasivas y angiogénicas de las células cancerosas. La elaboración de subclasificaciones de CGD mediante perfiles multiómicos revela que el subgrupo PX2 de Ge et al. conlleva un mayor riesgo de EP y el subconjunto PX1 que presenta características similares a las de CG de tipo intestinal, es probable que tengan un riesgo relativamente menor de EP<sup>32</sup>.

Por lo tanto, en la era de la medicina de precisión parece necesario clasificar en subtipos moleculares el CG según el riesgo de EP de cada pacientes antes de la resección,



con el objetivo de guiar la el tratamiento de la enfermedad peritoneal. De este modo, se podría por un lado predecir la probabilidad de diseminación peritoneal metacrónica y tratarla previamente, o conocer de antemano la posibilidad de respuesta al HIPEC con diferentes quimioterápicos de un paciente con enfermedad sincrónica.



# 6.

## Ondorioak Conclusiones *Conclusions*

<b>6. ONDORIOAK, EKARPENAK ETA MUGAK</b>	<b>181</b>
<b>6. CONCLUSIONES, APORTES Y LIMITACIONES</b>	<b>184</b>
<b>6. CONCLUSIONS, CONTRIBUTIONS AND LIMITATIONS</b>	<b>187</b>

## 6. ONDORIOAK / CONCLUSIONES / CONCLUSIONS

## 6. ONDORIOAK, EKARPENAK ETA MUGAK

Lan honen helburua urdaileko minbizi difusoak (UMD) gaur egun duen garrantzia eta prozesu diagnostiko-terapeutikoan agertzen dituen zailtasunak agerian uztea izan da. Proteomika bezalako teknika berriak erabiltzeak izan ditzakeen abantailak ikusarazi nahi izan dira eta horrek minbizi gastrikoa duten pertsonen tratamendu indibidualizatuari dakartzkion aukerak.

### 6.1 ONDORIOAK

#### **Minbizi gastriko difusoaren berezitasun kliniko-patologiko eta terapeutikoak.**

Ikertutako gure biztanlerian, minbizi gastrikoaren azpimota difusoa maizago agertu da gazteagoetan eta emakumeetan. Urdaileko minbiziaren guztizko kopurua murrizten ari dela dirudien arren, UMDaren proportzioak pixkanaka gora egin du azken urteetan eta aztertutako kasu guztien % 50 inguru dira gaur egun.

Egiaztatu da biopsia-materialaren anatomia patologikoa ez dela nahikoa UMD sailkatzeko. Aztertutako laginean, negatibo faltsu asko daude eta ondorioz gaixotasunaren diagnostiko berantiarra UMIarekin alderatuta.

Tumore hauen karga linfatiko (N) handiagoa nabarmentzen da nagusiki. Erasan linfatikoa neurtzeko sistema berrienak, N ratioa kasu, tumore hauen estadiaje hobeari lagun diezaioke. D2 linfadenektomia da UMDaren tratamenduan gehien erabiltzen dena, baina, UMDaren linfotropismo garrantzitsuari erreparatuta, linfadenektomia zabalduak tumore mota horietan lekua izan dezakete.

Bestalde, R0 erresekzioa errezidiba-tasa txikiagoarekin eta biziraupen hobearrekin lotzen da; beraz, gaixotasunik gabeko marjinak lortzeak minbiziagatiko erresekzio gastrikoaren helburua izaten jarraitu behar du. Hala ere, gastrektomia, batez ere gastrektomia osoak, ebakuntza osteko morbidimortalitate garrantzitsua du, eta,aldi berean, konplikazioak pronostiko okerrago batekin lotu dira. UMDrako gastrektomia oso sistematikoaren ordezkotako aukerak daude.

Nahiz eta biziraupen globalaren aldagai bakarreko analisisian UMDak pronostiko okerragoa erakusten duen, aldagai anitzeko analisisian beste faktore batzuk dira pronostiko txarrarekin lotzen diren faktoreak: barreiadura lokal eta ganglionarra, linitis plastikoa edo jasotako tratamendua.

Erabilitako tratamendu adyuvantea biziraupen globalarekiko faktore independente gisa erakutsi da. Ebakuntza osteko kimio-erradioterapia tratamendu mota erabiliena izan da UMDan eta urdaileko minbizi intestinalak (UMI) baino emaitza txarragoak izan ditu.

### **UMDaren profil proteomikoa eta aplikagarritasun klinikoa.**

Gaur egun, posible da tumore-laginetan kromatografia likidoa eta masa-espektrometria bidezko metodología proteomikoa aplikatzea, UMDen kirurgia pertsonalizatua gidatzen laguntzeko lagungarri izan daitekeen informazio zehatza lortzeko.

UMD 3 kasuren tumoreak aztertu dira eta aurkitu diren 12551 produktu genikoetatik 2197 proteina kuantifikatu. Horietatik 75 konfiantza handikoak izan ziren, 45 tumoreetan gorantz erregulatu ziren eta 30 ehun osasuntsuan. Detektatutako proteinen ehuneko handi bat zelulaz kanpoko matrizeari dagokio eta analisi funtzionalean epitelio mesenquima trantsizioan, ziklo zelularrean eta DNAREN erreplikazioan parte hartzen zuten.

Aztertutako kasu bakoitzaren profil proteomikoak UMDaren sailkapen molekular proteomikoarekin alderatu dira eta horietako bakoitzaren azpimota molekularra kalkulatu da; ondoren, datu klinikoekin bat datozela egiaztatu da.

Proteomikaren aurkikuntzak baliagarriak izan daitezke UMD duten pazienteen tratamendua bideratzeko kirurgia pertsonalizatuaren barruan. Posible da erresekzio lokala gidatzea, margen kirurgikoak hobeto definituz; linfadenektomia egokiena orientatzea; peritoneo-barreiatzea aurreikustea eta tratamendurik onena aukeratzea; eta berariazko diana terapeutikorik onenak baloratzea.

Informazio klinikoa eta proteogenomikoa duten datu-base irisgarriak, ikuskatuak eta integralak sortzea sustatu behar da, tratamendu kirurgikoaren erantzunaren iragarpen-azterketak egin daitezen sustatzeko.

## **6.2 EKARPENAK**

- UMDaren egungo egoeraren azterketa.
- UM 1052 kasuri buruzko atzera begirako zentro bakarreko azterlana.
  - Aldagai kliniko-patologiko pronostikoen aldagai anitzeko azterketa.

- UMDaren tratamendu kirurgikoaren aldagai pronostikoen aldagai anitzeko azterketa.
- Teknika kirurgiko berritzaile baten segurtasunaren analisia (% 95 gastrektomia laparoskopikoa), UMDari aplikatuta. (Ikerketa egonaldia CHLn. Luxenburgo).
- Kuantifikazio proteikoaren azterketa UMDen pieza kirurgikoetan eta osasuntsuetan. Aurkikuntzen analisi funtzional eta proteomikoa, emaitzen deskribapen sistematizatuarekin.
- Proteogenomikaren aplikagarritasuna minbizi gastrikoaren doitasunezko kirurgian.

## 6.3 MUGAK

Gurutzetako Unibertsitate Ospitalean azken 10 urteetan tratatutako pazienteen datu kliniko patologikoen berrikuspen zabala egin bada ere, analisi proteomikoa mugatua izan da kasuen kopuruari dagokionez, azterketan zorrotza izan arren. Azterketa prospektibo baten testuinguruan egindako kohorte zabalagoa behar dela, gogoan dugu, eta, asmo honekin, lagin kirurgikoak uzten jarraitu dugu tumoreen Biobankuan.

## 6.4 ETORKIZUNEN IKERKETARAKO BIDEAK

UMDaren tratamendu pertsonalizatuko estrategia espezifikoaren kontestuan, aztertutako aldaketa kliniko-patologikoak eta molekularrak oinarritzat hartuta, tumoreen analisi mutazionala eta proteomikoa ezartzeko bidean aurrera egiteko beharra nabarmendu da. Horrela, aldaketa molekular horiek kontuan hartuta, tratamendu kirurgiko pertsonalizatuko estrategia eta farmako gidatuen bidezko saiakuntza klinikoak garatzen dituzten azterketa kontrolatuak gara litezke, gaur egun dauden terapia biologikoen aukerak handitzeko.

## 6. CONCLUSIONES, APORTES Y LIMITACIONES

Este trabajo pretende poner de manifiesto la importancia actual del cáncer gástrico difuso y las dificultades que muestra en el proceso diagnóstico-terapéutico. Se ha pretendido visibilizar las posibles ventajas de la incorporación de nuevas técnicas diagnósticas como la proteómica y las herramientas que ello aporta al tratamiento individualizado de las personas con cáncer gástrico.

### 6.1 CONCLUSIONES

Particularidades clínico-patológicas y terapéuticas del cáncer gástrico difuso:

En nuestra población de estudio el cáncer gástrico difuso es un subtipo histológico de cáncer gástrico que se presenta con mayor frecuencia en personas más jóvenes y mujeres. A pesar de que el número total de cáncer gástrico parece estar disminuyendo, la proporción de CGD ha presentado un progresivo aumento los últimos años, situándose en la actualidad cerca del 50% de los casos totales analizados.

Se ha constatado que la anatomía patológica sobre material de biopsia es insuficiente para clasificar el CGD. En la muestra analizada hay un gran número de falsos negativos y un diagnóstico tardío de la enfermedad en comparación con el CGI.

Principalmente destaca la mayor carga tumoral linfática (N) de estos tumores. Sistemas más actuales de medición de la infiltración ganglionar como el N Ratio pueden ayudar al mejor estadiaje de estos tumores. La linfadenectomía D2 es la más utilizada en el tratamiento del CGD, no obstante, atendiendo al importante linfotropismo del CGD, linfadenectomías ampliadas podrían tener cabida en este tipo de tumores.

Por otro lado, la resección R0 se relaciona con una menor tasa de recidiva y mejor supervivencia, por lo que la consecución de márgenes libres de enfermedad debe seguir siendo el objetivo de la resección gástrica por cáncer. Sin embargo, la gastrectomía, sobre todo la gastrectomía total, está grabada de importante morbimortalidad postoperatoria que a su vez se relaciona con un peor pronóstico. Existen alternativas a la gastrectomía total sistemática para CGD.

Aunque en el análisis univariante de supervivencia global el CGD muestra un peor pronóstico, en el análisis multivariante son otros los factores como la diseminación local



y ganglionar, linitis plástica o el tratamiento recibido, los factores que se relacionan con el pronóstico desfavorable.

El tratamiento adyuvante utilizado se ha mostrado como un factor independiente de SG. La quimio-radioterapia postoperatoria ha sido el tipo de tratamiento más utilizado en el CGD, con peores resultados que el CGI.

Perfil proteómico del CGD y aplicabilidad clínica.

Actualmente es factible la aplicación de metodología proteómica (cromatografía líquida y espectrometría de masas) de muestras tumorales y sanas, con el objetivo de obtener información precisa de CGD que ayude a guiar una cirugía personalizada.

Se han analizado los tumores de tres casos de CGD en los se han cuantificado 2197 proteínas, de los 12551 productos génicos encontrados. 75 de ellas resultaron de alta confianza, en los tumores 45 se regularon al alza y 30 lo hicieron en tejido sano. Un porcentaje amplio de proteínas detectadas pertenecen a la matriz extracelular y en el análisis funcional participaban a la transición epitelio mesénquima (TEM), el ciclo celular y en la replicación del ADN.

Los perfiles proteómicos de cada caso analizado se han comparado con la clasificación molecular proteómica de CGD y se ha estimado el subtipo molecular de cada uno de ellos, constatando posteriormente su coincidencia con los datos clínicos.

Los hallazgos de proteómica pueden servir para guiar el tratamiento de los pacientes con CGD dentro de la cirugía personalizada. Es posible guiar la resección local mediante una mejor definición de los márgenes quirúrgicos; orientar la linfadenectomía más adecuada, predecir y elegir el mejor tratamiento de la diseminación peritoneal y valorar las mejores dianas terapéuticas específicas.

Debe fomentarse la disponibilidad de bases de datos accesibles, auditadas e integrales con información clínica y genómico-proteómica, con el fin de poder promover la realización de estudios de predicción de respuesta al tratamiento quirúrgico.

## 6.2 APORTACIONES

- Estado actual del arte en CGD.
- Estudio retrospectivo unicéntrico sobre 1052 casos de CG.

- Estudio multivariante de factores pronósticos clínico-patológicos.
- Estudio multivariante de factores pronósticos del tratamiento quirúrgico del CGD.
- Innovación y análisis de la seguridad de una técnica quirúrgica (gastrectomía 95% laparoscópica), aplicada al CG. (Estancia de investigación en el CHL. Luxemburgo).
- Estudio de cuantificación proteica en piezas quirúrgicas de CGD y sano, con análisis funcional y de proteómica del descubrimiento, con descripción sistematizada de los resultados.
- Aplicabilidad de la proteogenómica en la cirugía de precisión del cáncer gástrico.

### 6.3 LIMITACIONES

A pesar de la extensa revisión de los datos clínico patológicos de los pacientes tratados en los últimos 10 años en el Hospital Universitario Cruces de las que se extraen diferentes conclusiones, el análisis proteómico, aunque riguroso en su análisis, ha sido limitado en cuanto al número de casos. Somos conscientes de la necesidad de una cohorte de pacientes más amplia en el contexto de un análisis prospectivo, por lo que se han seguido depositando muestras quirúrgicas en el banco de tumores.

### 6.4 LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

En consecuencia con la estrategia de tratamiento personalizado específico del CGD, tomando como base los cambios clínico-patológicos y moleculares analizados, es preciso avanzar hacia la implementación del análisis mutacional y proteómico de los diferentes tumores. De este modo podrían desarrollarse estudios controlados que, teniendo presente estas modificaciones moleculares, desarrollen estrategias de tratamiento quirúrgico personalizado y ensayos clínicos con fármacos dirigidos, con el fin de poder ser aprobados por las agencias de medicamentos y aumentar el arsenal de terapia biológica actualmente existente.

## **6. CONCLUSIONS, CONTRIBUTIONS AND LIMITATIONS**

This work aims to highlight the current importance of diffuse gastric cancer and the difficulties it shows in the diagnostic-therapeutic process. The aim has been to make visible possible advantages of the incorporation of new diagnostic techniques such as proteomics, and the tools that this offer to the individualized treatment of people with gastric cancer.

### **6.1 CONCLUSIONS**

Clinicopathological and therapeutic peculiarities of diffuse gastric cancer:

In our study population, diffuse gastric cancer is a histological subtype of gastric cancer that occurs more frequently in younger people and women. Despite the fact that the total number of gastric cancer seems to be decreasing, the proportion of DGC has shown a progressive increase in recent years, currently standing at about 50% of the total cases analyzed.

It has been found that the pathological anatomy on biopsy material is insufficient to classify DGC. In the analyzed sample there are a large number of false negatives and a late diagnosis of the disease compared to IGC.

Mainly, the higher lymphatic tumor load (N) of these tumors stands out. More current systems for measuring lymph node infiltration such as the N Ratio can help to stage better these tumors. D2 lymphadenectomy is the most used in the treatment of DGC, however, considering the significant lymphotropism of DGC, extended lymphadenectomies could have a place in this type of tumors.

On the other hand, R0 resection is associated with a lower recurrence rate and better survival, so achieving disease-free margins should continue to be the goal of gastric resection for cancer. However, gastrectomy, especially total gastrectomy, has significant postoperative morbidity and mortality, and this is also related to a worse prognosis. There are alternatives to systematic total gastrectomy for DGC.

Although in the univariate analysis of overall survival the DGC shows a worse prognosis, in the multivariate analysis other factors such as local and lymph node spread,

linitis plastica, or the received treatment are factors that are related to the unfavorable prognosis.

The adjuvant treatment used has been shown to be an independent factor for OS. Postoperative chemo-radiotherapy has been the most widely used type of treatment in DGC, with worse results than IGC.

### **DGC proteomic profile and clinical applicability.**

Currently, the application of proteomic methodology (liquid chromatography and mass spectrometry) in tumor and healthy samples is feasible, with the aim of obtaining precise information from DGC, which helps to guide a personalized surgery.

The tumors of three cases of CGD have been analyzed in which 2197 proteins have been quantified, of the 12551 gene products found. 75 of them were highly reliable, in tumors 45 were upregulated and 30 did so in healthy tissue. A large percentage of the proteins detected belong to the extracellular matrix and in the functional analysis they participated in the epithelial mesenchymal transition, the cell cycle and in DNA replication.

The proteomic profiles of each case analyzed have been compared with the proteomic molecular classification of DGC and the molecular subtype of each has been estimated, subsequently verifying its coincidence with the clinical data.

The proteomics findings can serve to guide the treatment of patients with DGC within personalized surgery. Local resection can be guided by better definition of the surgical margins; orient the most appropriate lymphadenectomy; predict and choose the best treatment for peritoneal spread; and assess the best specific therapeutic targets.

The availability of accessible, audited and comprehensive databases with clinical and genomic-proteomic information should be promoted, in order to promote the performance of prediction studies of response to surgical treatment.

## **6.2 CONTRIBUTIONS**

- Current state of the art in CGD.
- Retrospective single-center study on 1052 cases of GC:
  - Multivariate study of clinical-pathological prognostic factors.

- Multivariate study of prognostic factors for surgical treatment of CGD.
- Innovation and analysis of the safety of a surgical technique (95% laparoscopic gastrectomy), applied to GC. (Research stay at the CHL. Luxembourg).
- Study of protein quantification in surgical specimens of CGD and healthy, with functional and proteomic analysis of the discovery, with systematized description of the results.
- Applicability of proteogenomics in gastric cancer precision surgery.

## **6.3 LIMITATIONS**

Despite the extensive review of the clinical-pathological data of the patients treated in the last 10 years at the Cruces University Hospital from which different conclusions are drawn, the proteomic analysis, although rigorous in its analysis, has been limited in terms of the number of cases. We are aware of the need for a larger patient cohort in the context of a prospective analysis, which is why surgical samples have continued to be deposited in the tumor bank.

## **6.4 FUTURE RESEARCH LINES**

Consequently, with the specific personalized treatment strategy for CGD, based on the clinical-pathological and molecular changes analyzed, it is necessary to move towards the implementation of mutational and proteomic analysis of the different tumors. In this way, controlled studies could be carried out that, bearing in mind these molecular modifications, develop personalized surgical treatment strategies and clinical trials with targeted drugs, in order to be approved by drug agencies and increase the currently existing arsenal of biological therapy.



# 7.

## Bibliografia

## 7. BIBLIOGRAFIA



## 7. BIBLIOGRAFIA

1. On On Chan A, MD, Wong B, DSc, MD, PhD. Epidemiology of gastric cáncer. Up to date. 2018 Mar:1-9.
2. Euskadiko minbiziaren erregistroa-Registro de cancer de Euskadi. 2012ko ekaina. Bizkaiko zaintza epidemiologikoa. Eusko Jaurlaritza
3. Douglas Morgan, MD, MPH. Early gastric cáncer: Epidemiloy, clinical manifestations, diagnosis, and staging. Up to date. 2019 Feb:1-16.
4. Ortiz A, Martínez de Haro LF, Parrilla P. Guías clínicas de la asociación española de cirujanos. Cirugía esofagógica. 2ª edición. Madrid: Arán Ediciones;2017.
5. Clinical features, diagnosis, and staging of gastric cáncer. Up to date. 2018 Mar:3-33.
6. Correa P, MD. Pathology and molecular pathogenesis of gastric cáncer. Up to date. 2018 Mar:1-35.
7. On On Chan A, MD, Wong B, DSc, MD, PhD. Risk factors for gastric cáncer. Up to date. 2018 Mar:1-24.
8. Rodriguez JM, Sasako M, Osorio J. TNM 7ª. Edición 2009 (UICC/AJCC) y Clasificación Japonesa 2010 en Cáncer Gástrico. Hacia la simplicidad y estandarización en el manejo del cáncer gástrico. Cirugía española. 2011;89(5):275-281.
9. Mansfield PF, MD, FACS. Surgical management of invasive gastric cáncer. Up to date. 2018 Mar:1-33.
10. Cunningham D, M.D., William H. Allum, M.D., Sally P. Stenning et al. Perioperative Chemotherapy versus Surgery Alone for Resectable Gastroesophageal Cancer. The New England Journal of Medicine. 2006 Jul 6;355(1):11-20.
11. Al-Batran SE, Hofh einz RD, Pauligk C et al. Histopathological regression after neoadjuvant docetaxel, oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus epirubicin, cisplatin, and fluorouracil or capecitabine in patients with resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4-AIO): results from the phase 2 part of a multicentre, open-label, randomised phase 2/3 trial. Lancet Oncol 2016; 17: 1697–708.
12. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 64:31-49, 1965.
13. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol. 2006 Jan 21;12(3):354-62. doi: 10.3748/wjg.v12.i3.354. PMID: 16489633; PMCID: PMC4066052.
14. Mengardo V, Treppiedi E, Bencivenga M, Dal Cero M, Giacomuzzi S. Tailored treatment for signet ring cell gastric cancer. Updates Surg. 2018 Jun;70(2):167-171. doi: 10.1007/s13304-018-0550-4. Epub 2018 Jun 9. PMID: 29948660.
15. Cancer Genome Atlas Research Network Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. Nature. 2014; 513 :202–209. doi: 10.1038/nature13480. [ PMC free article ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

## 7. BIBLIOGRAFIA

16. Cristescu R., Lee J., Nebozhyn M., Kim KM, Ting JC, Wong SS, Liu J., Yue YG, Wang J., Yu K., et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat.Med.* 2015; 21 :449–456. doi: 10.1038/nm.3850. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
17. Liu X, Chu KM. E-cadherin and gastric cancer: cause, consequence, and applications. *Biomed Res Int.* 2014;2014:637308. doi: 10.1155/2014/637308. Epub 2014 Aug 12. PMID: 25184143; PMCID: PMC4145387.
18. U, B., El Hajj, N., Sittler, S., Lammert, N., Barnes, R., Meloni-Ehrig, A.. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *Journal of Gastrointestinal Oncology, North America*, 3, jul. 2012.
19. Lauwers GY, Carneiro F, Graham DY, Curado M-P, Franceschi S, Montgomery E, Tatematsu M, Hattori T: Gastric Carcinoma. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. *WHO classification of tumours of the digestive system*, 4th ed. IARC Press: Lyon; 2010, pp. 48–58
20. Mariette, C. Carneiro, F., Grabsch, H.I. et al. *Gastric Cancer* (2019) 22: 1. <https://doi.org/10.1007/s10120-018-0868-0>
21. Wiśniewski JR, Zougman A, Nagaraj N, Mann M. Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nat Methods.* 2009 May;6(5):359-62. doi: 10.1038/nmeth.1322. Epub 2009 Apr 19. PMID: 19377485.
22. Chen C, Hou J, Tanner JJ, Cheng J. Bioinformatics Methods for Mass Spectrometry-Based Proteomics Data Analysis. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 20;21(8):2873. doi: 10.3390/ijms21082873. PMID: 32326049; PMCID: PMC7216093.
23. Silva JC, Denny R, Dorschel CA, Gorenstein M, Kass IJ, Li GZ, McKenna T, Nold MJ, Richardson K, Young P, Geromanos S. Quantitative proteomic analysis by accurate mass retention time pairs. *Anal Chem.* 2005 Apr 1;77(7):2187-200. doi: 10.1021/ac048455k. PMID: 15801753.
24. Bhatia VN, Perlman DH, Costello CE, McComb ME. Software tool for researching annotations of proteins: open-source protein annotation software with data visualization. *Anal Chem.* 2009 Dec 1;81(23):9819-23. doi: 10.1021/ac901335x. PMID: 19839595; PMCID: PMC2787672.
25. MacLean B, Tomazela DM, Shulman N, Chambers M, Finney GL, Frewen B, Kern R, Tabb DL, Liebler DC, MacCoss MJ. Skyline: an open source document editor for creating and analyzing targeted proteomics experiments. *Bioinformatics.* 2010 Apr 1;26(7):966-8. doi: 10.1093/bioinformatics/btq054. Epub 2010 Feb 9. PMID: 20147306; PMCID: PMC2844992.
26. Ding, C. et al. A fast workflow for identification and quantification of proteomes. *Mol. Cell Proteom.* 12, 2370–2380 (2013).
27. UniProt: the universal protein knowledgebase. The UniProt Consortium. *Nucleic Acids Res.* 2018 Mar 16; 46(5): 2699. PMCID: PMC5210571
28. The Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D330–D338. doi: 10.1093/nar/gky1055. PMID: 30395331; PMCID: PMC6323945.
29. Jassal B, Matthews L, Viteri G, Gong C, Lorente P, Fabregat A, Sidiropoulos K, Cook J, Gillespie M, Haw R, Loney F, May B, Milacic M, Rothfels K, Sevilla C, Shamovsky V, Shorsler S, Varusai T, Weiser J, Wu G, Stein L, Hermjakob H, D'Eustachio P. The reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* 2020 Jan 8;48(D1):D498–D503. doi: 10.1093/nar/gkz1031. PMID: 31691815; PMCID: PMC7145712.
30. Pathan M, Keerthikumar S, Ang CS, Gangoda L, Quek CY, Williamson NA, Mouradov D, Sieber OM, Simpson RJ, Salim A, Bacic A, Hill AF, Stroud DA, Ryan MT, Agbinya JI, Mariadason JM, Burgess AW, Mathivanan S. FunRich: An open access standalone functional enrichment and interaction network analysis tool. *Proteomics.* 2015 Aug;15(15):2597-601. doi: 10.1002/pmic.201400515. Epub 2015 Jun 17. PMID: 25921073.

31. Nolte H, MacVicar TD, Tellkamp F, Krüger M. Instant Clue: A Software Suite for Interactive Data Visualization and Analysis. *Sci Rep.* 2018 Aug 23;8(1):12648. doi: 10.1038/s41598-018-31154-6. PMID: 30140043; PMCID: PMC6107636.
32. Ge S., Xia X., Ding C., Zhen B., Zhou Q., Feng J., Yuan J., Chen R., Li Y., Ge Z., et al. A proteomic landscape of diffuse-type gastric cancer. *Nat. Commun.* 2018; 9:e1012. doi: 10.1038/s41467-018-03121-2. [ PMC free article ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
33. Tong M, Yu C, Shi J, Huang W, Ge S, Liu M, Song L, Zhan D, Xia X, Liu W, Feng J, Shi W, Ji J, Gao J, Shi T, Zhu W, Ding C, Wang Y, He F, Shen L, Li T, Qin J. Phosphoproteomics Enables Molecular Subtyping and Nomination of Kinase Candidates for Individual Patients of Diffuse-Type Gastric Cancer. *iScience.* 2019 Dec 20; 22:44-57. doi: 10.1016/j.isci.2019.11.003. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31751824; PMCID: PMC6931223.
34. Li J, Ding Y, Li A. Identification of COL1A1 and COL1A2 as candidate prognostic factors in gastric cancer. *World J Surg Oncol.* 2016;14(1):297. Published 2016 Nov 29. doi:10.1186/s12957-016-1056-5
35. A. M. Moreira, J. Pereira, S. Melo et al., "The extracellular matrix: an accomplice in gastric cancer development and progression," *Cells*, vol. 9, no. 2, 2020.
36. He XX, Shi LL, Qiu MJ, Li QT, Wang MM, Xiong ZF, Yang SL. Molecularly targeted anti-cancer drugs inhibit the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by regulating the expression of MMP and TIMP gene families. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Oct 12;504(4):878-884. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.203. Epub 2018 Sep 12. PMID: 30219235.
37. Bass, A. J., Thorsson, V., Shmulevich, I., Reynolds, S. M., Miller, M., Bernard, B., Cancer Genome Atlas Research Network (2014). Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature*, 513(7517), 202-209. DOI: 10.1038/nature13480
38. Euskadiko minbiziaren erregistroa-Registro de cancer de Euskadi. 2012ko ekaina. Bizkaiko zaintza epidemioloikoa. Eusko Jaurlaritza
39. Etemadi, Arash et al. The global, regional, and national burden of stomach cancer in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2017. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, Volume 5, Issue 1, 42 - 54
40. 40. Rodriguez FJ, Lewis-Tuffin LJ, Anastasiadis PZ. E-cadherin's dark side: possible role in tumor progression. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Aug;1826(1):23-31. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.03.002. Epub 2012 Mar 13. PMID: 22440943; PMCID: PMC3362679.
41. E. C. Smyth, , M. Verheij, , W. Allum, , D. Cunningham, , A. Cervantes, , D. Arnold, ; Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up, *Annals of Oncology*, Volume 27, Issue suppl\_5, 1 September 2016, Pages v38–v49, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw350>
42. Nakazawa S, Kawaguchi S, Yoshino J, et al. Linitis plastica retrospective study for early detection. *Stomach Intest.* 1980;15:1145–1151
43. Endo K, Sakurai M, Kusumoto E, Uehara H, Yamaguchi S, Tsutsumi N, et al. Biological significance of localized Type IV scirrhus gastric cancer. *Oncol Lett.* 2012;3:94–9
44. Park MS, Ha HK, Choi BS, Kim KW, Myung SJ, Kim AY, et al. Scirrhus gastric carcinoma: endoscopy versus upper gastrointestinal radiography. *Radiology.* 2004;231:421–6.
45. Fonocho E, Aydin N, Reddy S, Misra S. Limitations in the use of 18F-FDG PET in the pre-operative staging of gastric cancer: A case series. *International Journal of Surgery Case Reports.* 2017;36:147-150. doi:10.1016/j.ijscr.2017.05.026.

## 7. BIBLIOGRAFIA

46. Goetz, M.; Watson, A.; Kiesslich, R. Confocal Laser Endomicroscopy in Gastrointestinal Diseases. *J. Biophotonics* 2011, 4, 498–508.
47. Burgain C, Germain A, Bastien C, Orry X, Chone L, Claudon M, et al. Computed tomography features of gastrointestinal linitis plastica: spectrum of findings in early and delayed phase imaging. *Abdom Radiol (NY)*. 2016; 41:1370–7.
48. Liu S, Guan W, Wang H, Pan L, Zhou Z, Yu H, et al. Apparent diffusion coefficient value of gastric cancer by diffusion-weighted imaging: correlations with the histological differentiation and Lauren classification. *Eur J Radiol*. 2014;83:2122–8.
49. Fonocho E, Aydin N, Reddy S, Misra S. Limitations in the use of 18F-FDG PET in the pre-operative staging of gastric cancer: A case series. *International Journal of Surgery Case Reports*. 2017;36:147-150. doi:10.1016/j.ijscr.2017.05.026.
50. Pasqual EM, Bertozzi S, Londero AP, et al. Microscopic peritoneal carcinomatosis in gastric cancer: Prevalence, prognosis and predictive factors. *Oncol Lett*. 2018;15(1):710-716. doi:10.3892/ol.2017.7442
51. Zu H, Wang H, Li C, Xue Y. Clinicopathologic characteristics and prognostic value of various histological types in advanced gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(9):5692–5700. Published 2014 Aug 15.
52. Bamboat ZM, Tang LH, Vinuela E, Kuk D, Gonen M, Shah MA, et al. Stage-stratified prognosis of signet ring cell histology in patients undergoing curative resection for gastric adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2014;21:1678–85.
53. Tang X, Zhang J, Che X, Lan Z, Chen Y, Wang C. The clinicopathological features and long-term survival outcomes of mucinous gastric carcinoma: a consecutive series of 244 cases from a single institute. *J Gastrointest Surg*. 2016; 20:693-699
54. Petrelli F, Berenato R, Turati L, Mennitto A, Steccanella F, Caporale M, Dallera P, de Braud F, Pezzica E, Di Bartolomeo M, Sgroi G, Mazzaferro V, Pietrantonio F, Barni S. Prognostic value of diffuse versus intestinal histotype in patients with gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Gastrointest Oncol* 2017;8(1):148-163. doi: 10.21037/jgo.2017.01.10
55. Agnes A, Estrella JS, Badgwell B. The significance of a nineteenth century definition in the era of genomics: linitis plastica. *World Journal of Surgical Oncology*. 2017;15:123. doi:10.1186/s12957-017-1187-3.
56. Marano L, D'Ignazio A, Cammillini F, et al. Comparison between 7th and 8th edition of AJCC TNM staging system for gastric cancer: old problems and new perspectives. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2019;4:22. Published 2019 Apr 3. doi:10.21037/tgh.2019.03.09
57. Peyroteo Mariana, Carvalho Martins Pedro, Canotilho Rita, Margarida Correia Ana, Baía Catarina, Sousa Alexandre, Brito Donzília, Videira José Flávio, Santos Lúcio Lara, de Sousa Abreu (2020) Impact of the 8th edition of the AJCC TNM classification on gastric cancer prognosis—study of a western cohort *ecancer* 14 1124
58. Jian-hui C., Shi-rong C., Hui W., Si-le C., Jian-bo X., Er-tao Z., et al. Prognostic value of three different lymph node staging systems in the survival of patients with gastric cancer following D2 lymphadenectomy. *Tumor Biol*. 2016; 37(8):11105-13. DOI: 10.1007/s13277-015-4191-7
59. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). *Gastric Cancer*. 2017;20:1–19. <http://dx.doi.org/10.1007/s10120-016-0622-4>.
60. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D, ESMO Guidelines Committee. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016;27 Suppl 5:v38–49. [http:// dx.doi.org/10.1093/annonc/mdw350](http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdw350).

61. Lee CM, Jee YS, Lee JH, Son SY, Ahn SH, Park DJ, Kim HH. Length of negative resection margin does not affect local recurrence and survival in the patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20(30): 10518-10524 Available from: URL: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v20/i30/10518.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v20.i30.10518>
62. Brenkman HJF, Gisbertz SS, Slaman AE, Goense L, Ruurda JP, van Berge Henegouwen MI, et al. Postoperative outcomes of minimally invasive gastrectomy versus open gastrectomy during the early introduction of minimally invasive gastrectomy in the Netherlands: A population-based cohort study. *Ann Surg*. 2017;266:831–8.
63. Inokuchi M, Otsuki S, Fujimori Y, Sato Y, Nakagawa M, Kojima K. Systematic review of anastomotic complications of esophagojejunostomy after laparoscopic total gastrectomy. *World J Gastroenterol*. 2015;21:9656–65.
64. Ji X, Yan Y, Bu ZD, Li ZY, Wu AW, Zong XL, et al. The optimal extent of gastrectomy for middle-third gastric cancer: Distal subtotal gastrectomy is superior to total gastrectomy in short-term effect without sacrificing long-term survival. *BMC Cancer*. 2017;17:345.
65. Carboni F, Valle M, Federici O, Levi Sandri GB, Camperchioli I, Lapenta R, et al. Esophagojejunal anastomosis leakage after total gastrectomy for esophagogastric junction adenocarcinoma: options of treatment. *J Gastrointest Oncol*. 2016;7:515–22. <http://dx.doi.org/10.21037/jgo.2016.06.02>.
66. Wang S, Xu L, Wang Q, Li J, Bai B, Li Z, Wu X, Yu P, Li X, Yin J. Postoperative complications and prognosis after radical gastrectomy for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *World J Surg Oncol*. 2019 Mar 18;17(1):52. doi: 10.1186/s12957-019-1593-9. PMID: 30885211; PMCID: PMC6423865.
67. Rüdiger Siewert J, Feith M, Werner M, Stein HJ. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: results of surgical therapy based on anatomical/topographic classification in 1,002 consecutive patients. *Ann Surg*. 2000 Sep;232(3):353–61. doi: 10.1097/00006658-200009000-00007. PMID: 10973385; PMCID: PMC1421149.
68. Venturelli Muñoz F. Margen positivo (R1) en la biopsia intraoperatoria durante una gastrectomía total por cáncer gástrico. *Rev. Cirugía*. 2020;72(3). Disponible en: doi:10.35687/s2452-45492020003425
69. Brenkman, Hylke J F, Suzanne S. Gisbertz, Annelijn E. Slaman, Lucas Goense, Jelle Piet-Hein Ruurda, Mark I van Berge Henegouwen and Richard van Hillegersberg. "Postoperative Outcomes of Minimally Invasive Gastrectomy Versus Open Gastrectomy During the Early Introduction of Minimally Invasive Gastrectomy in the Netherlands: A Population-based Cohort Study." *Annals of surgery* 266 5 (2017): 831-838.
70. Strong VE, Russo AE, Nakauchi M, Schattner M, Selby LV, Herrera G, Tang L, Gonen M. Robotic Gastrectomy for Gastric Adenocarcinoma in the USA: Insights and Oncologic Outcomes in 220 Patients. *Ann Surg Oncol*. 2021 Feb;28(2):742-750. doi: 10.1245/s10434-020-08834-7. Epub 2020 Jul 11. PMID: 32656721.
71. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M, van de Velde CJ. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomized nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:439–49.
72. de Manzoni G, Verlato G, Bencivenga M, Marrelli D, di Leo A, Giacomuzzi S, et al. Impact of super-extended lymphadenectomy on relapse in advanced gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* (2015) 41(4):534–40. doi: 10.1016/j.ejso.2015.01.023
73. Iyer P, Moslim M, Farma JM, Denlinger CS. Diffuse gastric cancer: histologic, molecular, and genetic basis of disease. *Transl Gastroenterol Hepatol* 2020;5:52.
74. Misawa K, Mochizuki Y, Sakai M, Teramoto H, Morimoto D, Nakayama H. Randomized clinical trial of extensive intraoperative peritoneal lavage versus standard treatment for resectable advanced gastric cancer (CCOG 1102 trial). *Br J Surg*. 2019 Nov; 106(12):1602-1610. doi: 10.1002/bjs.11303

## 7. BIBLIOGRAFIA

75. Badgwell, B., Blum, M., Das, P. et al. *Surg Endosc* (2018) 32: 512. <https://doi.org/10.1007/s00464-017-5668-9>
76. Smalley SR, Benedetti JK, Haller DG, et al. Updated analysis of SWOG-directed intergroup study 0116: a phase III trial of adjuvant radiochemotherapy versus observation after curative gastric cancer resection. *J Clin Oncol* 2012;30:2327-33.
77. Al-Batran SE, Hofheinz RD, Pauligk C, et al. Histopathological regression after neoadjuvant docetaxel, oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus epirubicin, cisplatin, and fluorouracil or capecitabine in patients with resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4-AIO): results from the phase 2 part of a multicentre, open-label, randomised phase 2/3 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:1697-708.
78. Eveno C, Adenis A, Bouche O, et al. Adjuvant chemotherapy versus perioperative chemotherapy (CTX) for resectable gastric signet ring cell (SRC) gastric cancer: A multicenter, randomized phase II study (PRODIGE 19). *J Clin Oncol* 2019;37:4019.
79. Piessen, G.; Messenger, M.; Le Malicot, K.; Robb, W.B.; Di Fiore, F.; Guilbert, M.; Moreau, M.; Christophe, V.; Adenis, A.; Mariette, C. Phase II/III multicentre randomised controlled trial evaluating a strategy of primary surgery and adjuvant chemotherapy versus peri-operative chemotherapy for resectable gastric signet ring cell adenocarcinomas-PRODIGE 19-FFCD1103-ADCI002. *BMC Cancer* 2013, 13, 281. [CrossRef] [PubMed]
80. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN, Haller DG, Ajani JA, Gunderson LL, Jessup JM, Martenson JA. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or Gastroesophageal junction. *N Engl J Med*. 2001;345:725-730. doi: 10.1056/NEJMoa010187.
81. Smalley SR, Benedetti JK, Haller DG, et al. Updated analysis of SWOG-directed intergroup study 0116: a phase III trial of adjuvant radiochemotherapy versus observation after curative gastric cancer resection. *J Clin Oncol* 2012;30:2327-33.
82. Park SH, Sohn TS, Lee J, et al. Phase III Trial to Compare Adjuvant Chemotherapy With Capecitabine and Cisplatin Versus Concurrent Chemoradiotherapy in Gastric Cancer: Final Report of the Adjuvant Chemoradiotherapy in Stomach Tumors Trial, Including Survival and Subset Analyses. *J Clin Oncol* 2015;33:3130-6.
83. Bang, Y.J.; Van Cutsem, E.; Feyereislova, A.; Chung, H.C.; Shen, L.; Sawaki, A.; Lordick, F.; Ohtsu, A.; Omuro, Y.; Satoh, T.; et al. ToGA Trial Investigators. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): A phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010, 376, 687-697.
84. Hofheinz, R.; Hegewisch-Becker, S.; Thuss-Patience, P.; Kunzmann, V.; Fuchs, M.; Ullrich Graeven, U.; Homann, N.; Heinemann, V.; Pohl, M.; Tannapfel, A.; et al. HER-FLOT: Trastuzumab in combination with FLOT as perioperative treatment for patients with HER2-positive locally advanced esophagogastric adenocarcinoma: A phase II trial of the AIO Gastric Cancer Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2014, 32, 4073.
85. Ohtsu, A.; Shah, M.A.; Van Cutsem, E.; Rha, S.Y.; Sawaki, A.; Park, S.R.; Lim, H.Y.; Yamada, Y.; Wu, J.; Langer, B.; et al. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: A randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J. Clin. Oncol.* 2011, 29, 3968-3976. [CrossRef]
86. Fuchs, C.S.; Tomasek, J.; Yong, C.J.; Dumitru, F.; Passalacqua, R.; Goswami, C.; Safran, H.; Dos Santos, L.V.; Aprile, G.; Ferry, D.R.; et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): An international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2014, 383, 31-39. [CrossRef]
87. Petrillo A, Pompella L, Tirino G, et al. Perioperative Treatment in Resectable Gastric Cancer: Current Perspectives and Future Directions. *Cancers (Basel)*. 2019;11(3):399. Published 2019 Mar 21. doi:10.3390/cancers11030399

88. Kim K.-M., Kwon M.-S., Hong S.-J., Min K.-O., Seo E.-J., Lee K.-Y., Choi S.-W., Rhyu M.-G. Genetic classification of intestinal-type and diffuse-type gastric cancers based on chromosomal loss and microsatellite instability. *Virchows Archiv.* 2003; 443 :491–500. doi: 10.1007/s00428-003-0840-0. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
89. Hong SJ, Jeon EJ, Oh JH, Seo EJ, Choi SW, Rhyu MG The gene-reduction effect of chromosomal losses detected in gastric cancers. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10 :e138. doi: 10.1186/1471-230X-10-138. [ PMC free article ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
90. Wu M.-S., Chang M.-C., Huang S.-P., Tseng C.-C., Sheu J.-C., Lin Y.-W., Shun C.-T., Lin M.-T., Lin J.-T. Correlation of histologic subtypes and replication error phenotype with comparative genomic hybridization in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2001; 30:80–86. doi: 10.1002/1098-2264(2000)9999:9999::AID-GCC1062.3.0.CO;2-R. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
91. Rodon J, Soria JC, Berger R, Miller WH, Rubin E, Kugel A, Tsimberidou A, Saintigny P, Ackerstein A, Braña I, Loriot Y, Afshar M, Miller V, Wunder F, Bresson C, Martini JF, Raynaud J, Mendelsohn J, Batist G, Onn A, Tabernero J, Schilsky RL, Lazar V, Lee JJ, Kurzrock R. Genomic and transcriptomic profiling expands precision cancer medicine: the WINTHER trial. *Nat Med.* 2019 May;25(5):751-758. doi: 10.1038/s41591-019-0424-4. Epub 2019 Apr 22. PMID: 31011205; PMCID: PMC6599610.
92. Wang H, Jiang N, Zhang Y, Chen R. Clinical proteomics: a driving force for cancer therapeutic target discovery and precision medicine. *Cancer Biol Med.* 2019 Nov;16(4):623–629. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0287. PMID: 31908883; PMCID: PMC6936235.
93. Hansford S., Kaurah P., Li-Chang H., Woo M., Senz J., Pinheiro H., Schrader KA, Schaeffer DF, Shumansky K., Zogopoulos G., et al. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 Mutations and Beyond. *JAMA Oncol.* 2015; 1 :23–32. doi: 10.1001/jamaoncol.2014.168. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
94. Barber M., Murrell A., Ito Y., Maia AT, Hyland S., Oliveira C., Save V., Carneiro F., Paterson AL, Grehan N., et al. Mechanisms and sequelae of E-cadherin silencing in hereditary diffuse gastric cancer. *J. Pathol.* 2008; 216 :295–306. doi: 10.1002/path.2426. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
95. Wang K., Yuen ST, Xu J., Lee SP, Yan HHN, Shi ST, Siu HC, Deng S., Chu KM, Law S., et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. *Nat. Genet.* 2014; 46 :573–582. doi: 10.1038/ng.2983. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
96. Kakiuchi M., Nishizawa T., Ueda H., Gotoh K., Tanaka A., Hayashi A., Yamamoto S., Tatsuno K., Katoh H., Watanabe Y., et al. Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma. *Nat. Genet.* 2014; 46 :583–587. doi: 10.1038/ng.2984. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
97. Li X., Wu WKK, Xing R., Wong SH, Liu Y., Fang X., Zhang Y., Wang M., Wang J., Li L., et al. Distinct Subtypes of Gastric Cancer Defined by Molecular Characterization Include Novel Mutational Signatures with Prognostic Capability. *Cancer Res.* 2016; 76 :1724–1732. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2443. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
98. Kim S.-K., Kim H.-J., Park J.-L., Heo H., Kim S.-Y., Lee S.-I., Song K.-S., Kim W.-H., Kim YS Identification of a molecular signature of prognostic subtypes in diffuse-type gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2019 doi: 10.1007/s10120-019-01029-4. [ PMC free article ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
99. Cheng F, Zhao J, Wang Y, Lu W, Liu Z, Zhou Y, Martin WR, Wang R, Huang J, Hao T, Yue H, Ma J, Hou Y, Castrillon JA, Fang J, Lathia JD, Keri RA, Lightstone FC, Antman EM, Rabadan R, Hill DE, Eng C, Vidal M, Loscalzo J. Comprehensive characterization of protein-protein interactions perturbed by disease mutations. *Nat Genet.* 2021 Feb 8. doi: 10.1038/s41588-020-00774-y. Epub ahead of print. PMID: 33558758.

## 7. BIBLIOGRAFIA

100. D'Arcy BM, Swingle MR, Papke CM, Abney KA, Bouska EIS, Prakash A, Honkanen RE. The Antitumor Drug LB-100 Is a Catalytic Inhibitor of Protein Phosphatase 2A (PPP2CA) and 5 (PPP5C) Coordinating with the Active-Site Catalytic Metals in PPP5C. *Mol Cancer Ther.* 2019 Mar;18(3):556-566. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1143. Epub 2019 Jan 24. PMID: 30679389; PMCID: PMC6397705.
101. Shu, Y.; Zhang, W.; Hou, Q.; Zhao, L.; Zhang, S.; Zhou, J.; Song, X.; Zhang, Y.; Jiang, D.; Chen, X.; et al. Prognostic significance of frequent CLDN18-ARHGAP26/6 fusion in gastric signet-ring cell cancer. *Nat. Commun.* 2018, 9, e2447. [CrossRef]
102. Yin S, Li Z, Huang J, Miao Z, Zhang J, Lu C, Xu H, Xu H. Prognostic value and clinicopathological significance of proliferating cell nuclear antigen expression in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2017 Jan 10;10:319-327. doi: 10.2147/OTT.S126551. PMID: 28138255; PMCID: PMC5237593.
103. Zhang Y, Yu C. Distinct expression and prognostic values of the replication protein A family in gastric cancer. *Oncol Lett.* 2020 Mar;19(3):1831-1841. doi: 10.3892/ol.2020.11253. Epub 2020 Jan 7. PMID: 32194677; PMCID: PMC7038973.
104. Fourtziola E, Givalos N, Alexakis N, Griniatsos J, Alevizopoulos N, Kavantzias N, C Lazaris A, Korkolopoulou P, Gakiopoulou H. Replication Protein A (RPA1, RPA2 and RPA3) expression in gastric cancer: correlation with clinicopathologic parameters and patients' survival. *J BUON.* 2020 May-Jun;25(3):1482-1489. PMID: 32862594.
105. Gao X, Zhong S, Tong Y, Liang Y, Feng G, Zhou X, Zhang Z, Huang G. Alteration and prognostic values of collagen gene expression in patients with gastric cancer under different treatments. *Pathol Res Pract.* 2020 Mar;216(3):152831. doi: 10.1016/j.prp.2020.152831. Epub 2020 Jan 24. PMID: 32005407
106. Huang R, Gu W, Sun B, Gao L. Identification of COL4A1 as a potential gene conferring trastuzumab resistance in gastric cancer based on bioinformatics analysis. *Mol Med Rep.* 2018 May;17(5):6387-6396. doi: 10.3892/mmr.2018.8664. Epub 2018 Mar 1. PMID: 29512712; PMCID: PMC5928613.
107. Fields GB. The Rebirth of Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Moving Beyond the Dogma. *Cells.* 2019 Aug 27;8(9):984. doi: 10.3390/cells8090984. PMID: 31461880; PMCID: PMC6769477.
108. Shah, MA; Starodub, A. ; Sharma, S. ; Berlín, J. ; Patel, M. ; Wainberg, ZA; Chaves, J. ; Gordon, M. ; Windsor, K. ; Braichmann, CB; et al. Andecaliximab / GS-5745 solo y combinado con mFOLFOX6 en el adenocarcinoma avanzado de la unión gástrica y gastroesofágica: resultados de un estudio de fase I. *Clin. Cancer Res.* 2018, 24 , 3829–3837.
109. Yoon C, Cho SJ, Aksoy BA, Park DJ, Schultz N, Ryeom SW, Yoon SS. Chemotherapy Resistance in Diffuse-Type Gastric Adenocarcinoma Is Mediated by RhoA Activation in Cancer Stem-Like Cells. *Clin Cancer Res.* 2016 Feb 15;22(4):971-83. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1356. Epub 2015 Oct 19. PMID: 26482039; PMCID: PMC4823002.
110. Oerlemans R, Franke NE, Assaraf YG, Cloos J, van Zantwijk I, Berkers CR, Scheffer GL, Debipersad K, Vojtekova K, Lemos C, van der Heijden JW, Ylstra B, Peters GJ, Kaspers GL, Dijkmans BA, Scheper RJ, Jansen G. Molecular basis of bortezomib resistance: proteasome subunit beta5 (PSMB5) gene mutation and overexpression of PSMB5 protein. *Blood.* 2008 Sep 15;112(6):2489-99. doi: 10.1182/blood-2007-08-104950. Epub 2008 Jun 18. PMID: 18565852.
111. Revach OY, Liu S, Jenkins RW. Targeting TANK-binding kinase 1 (TBK1) in cancer. *Expert Opin Ther Targets.* 2020 Nov;24(11):1065-1078. doi: 10.1080/14728222.2020.1826929. Epub 2020 Oct 5. PMID: 32962465; PMCID: PMC7644630.
112. Priscila F. Aquino et al. Are Gastric Cancer Resection Margin Proteomic Profiles More Similar to Those from Controls or Tumors? *Journal of Proteome Research* 2012 11 (12), 5836-5842. DOI: 10.1021/pr300612x



113. Tummers QR, Hoogstins CE, Gaarenstroom KN, de Kroon CD, van Poelgeest MI, Vuyk J, Bosse T, Smit VT, van de Velde CJ, Cohen AF, Low PS, Burggraaf J, Vahrmeijer AL. Intraoperative imaging of folate receptor alpha positive ovarian and breast cancer using the tumor specific agent EC17. *Oncotarget*. 2016 May 31;7(22):32144-55. doi: 10.18632/oncotarget.8282. PMID: 27014973; PMCID: PMC5078003.
114. Wang J, Cui S, Zhang X, Wu Y, Tang H. High expression of heat shock protein 90 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with advanced gastric cancer. *PLoS One*. 2013 Apr 26;8(4):e62876. doi: 10.1371/journal.pone.0062876. PMID: 23638161; PMCID: PMC3637377.
115. Wang T, Wang Z, Niu R, Wang L. Crucial role of Anxa2 in cancer progression: highlights on its novel regulatory mechanism. *Cancer Biol Med*. 2019;16(4):671-687. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0228
116. Rostami-Nejad M, Rezaei-Tavirani M, Mansouri V, Akbari Z, Abdi S. Impact of proteomics investigations on gastric cancer treatment and diagnosis. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2019;12(Suppl1):S1-S7.
117. Hernot S, van Manen L, Debie P, Mieog JSD, Vahrmeijer AL. Latest developments in molecular tracers for fluorescence image-guided cancer surgery. *Lancet Oncol*. 2019 Jul;20(7):e354-e367. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30317-1. PMID: 31267970.
118. Lee JH, Chang KK, Yoon C, Tang LH, Strong VE, Yoon SS. Lauren histologic type is the most important factor associated with pattern of recurrence following resection of gastric adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2016.
119. Koderu Y, Nakanishi H, Ito S, Mochizuki Y, Yamamura Y, Fujiwara M, et al. Detection of disseminated cancer cells in linitis plastica-type gastric carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2004 Sep; 34(9):525-31.
120. Yonemura Y, Canbay E, Li Y, Cocolini F, Glehen O, Sugarbaker PH, et al. A comprehensive treatment for peritoneal metastases from gastric cancer with curative intent. *Eur J Surg Oncol*. 2016, Aug; 42(8):1123-31. doi: 10.1016/j.ejso.2016.03.016.
121. Simkens GA, Rovers KP, Nienhuijs SW, de Hingh IH. Patient selection for cytoreductive surgery and HIPEC for the treatment of peritoneal metastases from colorectal cancer. *Cancer Manag Res*. 2017 Jun 30; 9: 259-266. doi: 10.2147/CMAR.S119569. eCollection 2017.
122. Wang R , Song S , Harada K , Ghazanfari Amlashi F , Badgwell B , Ajani JA et al. Multiplex profiling of peritoneal metastases from gastric adenocarcinoma identified novel targets and molecular subtypes that predict treatment response. *Gut*. 2020 Jan; 69(1):18-31. doi: 10.1136/gutjnl-2018-318070.



8.

**Eranskinak**

Anexos



## Anexo 1. Resolución CEIC parte clínica.



**Osakidetza**

OSI EZKERRALDEA-ENKARTERRI-CRUCES  
EZKERRALDEA-ENKARTERRI-GURUTZETA ESI

### COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

#### ASISTENTES

##### PRESIDENTE

D. José Ignacio Pijoán Zubizarreta

##### VOCALES

D. Mikel Latorre Guisasaola  
Dª. Vanesa Regúlez Campo  
Dª. Mª Pilar Bonachía Caballero  
D. Fermín Labayen Beraza  
D. Francisco José Álvarez Díaz  
Dª. Rita Sainz de Rozas Aparicio  
Dª. Elena Bereciartua Bastarrica

##### SECRETARÍA

Dª. Amaia Martínez Galarza

#### ACTA 02/20

En Cruces-Barakaldo, el día 25 de Febrero de 2020, a las 15 horas 30 minutos, se reúnen los miembros del Comité señalados al margen. Excusan su inasistencia D. Álvaro Goñi de Francisco y Dª. Marta Montejo Fernández. Se trataron los siguientes temas:

#### III-PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

- ❖ Se presenta para su valoración ética el estudio:
- a) “Factores pronósticos del Cáncer Gástrico tratado quirúrgicamente (Protocolo versión de fecha 27 de Enero de 2020, CRD versión de Fecha 27 de Enero de 2020)” (Dr. Aingeru Sarringarte Lasarte) (Sº Cirugía General) (código CEIC E20/14). Tras su valoración, este CEIC decide dar su **APROBACIÓN ÉTICA** al estudio aunque tiene que realizar las siguientes consideraciones:
- El análisis multivariante no es un elemento del diseño, sino de la estrategia de obtención de información a partir de un procesamiento de los datos a recoger establecidos y definidos en el diseño
  - No está muy claro qué se va a hacer con los 12 casos con información molecular de la pieza tumoral
  - El análisis estadístico multivariable propuesto (predictivo) no se corresponde con el objetivo (explicativo). Se aconseja asesoría estadística

Asimismo, se recuerda al investigador que debe informar al CEIC del desarrollo e incidencias del estudio durante su realización, así como de la finalización del mismo con la presentación del Informe Final. Se informa al investigador.

Sin más temas por tratar, se da por finalizada la reunión a las 18 horas 15 minutos del día señalado al principio.

  
Osakidetza  
EZKERRALDEA-ENKARTERRI-CRUCES ESI  
OSI EZKERRALDEA-ENKARTERRI-CRUCES  
GURUTZETA ESI  
GURUTZETA ESI  
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES  
LA SECRETARÍA  
MUNTZA KLINIKORAKO BATZORDE ETIKOA  
COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN  
EUSKO JAURLARITZA  
GOBIERNO VASCO  
OSASUN SALA  
DEPARTAMENTO DE SALUD

Plaza de Cruces, Nº 12 - 48903 BARAKALDO (Bizkaia)  
Tel. 946 006 000

**Anexo 2. Taula/Tabla 4.2.4 Univariante y Multivariante de supervivencia global y libre de enfermedad.**

	UNIV SG		MULTIV SG		UNIV LE		MULTI LE		p	N
	HR	p.ratio	HR	p.ratio	HR	p.ratio	HR	p.ratio		
<b>Edad</b>	1.02 [1.00;1.03]	0.028	1 [0.98;1.03]	0.7	1.02 [1.00;1.04]	0.032			0.028	199
<b>Edad categórica:</b>									0.025	199
≤65 años	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.				
>65 años	1.54 [1.05;2.24]	0.027			1.56 [1.01;2.40]	0.044				
<b>Sexo:</b>									0.686	199
<b>Hombres</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.				
<b>Mujeres</b>	0.93 [0.63;1.35]	0.689	1.33 [0.85;2.09]	0.213	1.06 [0.69;1.62]	0.788				
<b>Gastro. localización:</b>									0.106	199
<b>Tercio superior</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.				
<b>Cuerpo</b>	0.59 [0.35;1.00]	0.049			0.67 [0.35;1.32]	0.248				
<b>Antro</b>	0.67 [0.43;1.05]	0.080			0.37 [0.20;0.71]	0.003				
<b>Técnica:</b>									0.155	190
<b>Total</b>	1.33 [0.90;1.97]	0.156			1.77 [1.11;2.81]	0.017				
<b>Subtotal</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.				
<b>Reintervención:</b>									0.239	199
<b>No</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.				
<b>Sí</b>	0.70 [0.39;1.27]	0.242			0.83 [0.45;1.52]	0.553				
<b>Histología. Lauren:</b>									0.087	192
<b>Indeterminado</b>	1.32 [0.83;2.10]	0.243			1.02 [0.61;1.72]	0.932				
<b>Adeno intestinal</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.				
<b>Difuso</b>	1.61 [1.05;2.47]	0.028			0.63 [0.38;1.06]	0.083				
<b>Histología.OMS:</b>									0.008	199
<b>Indeterminado</b>	0.73 [0.42;1.27]	0.260			1.26 [0.63;2.51]	0.512				

<b>Papilar Tubular</b>	0.58 [0.33;1.00]	0.050			1.68 [0.86;3.26]	0.127		
<b>Cell anillo sello</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.		
<b>Mucinoso</b>	0.51 [0.19;1.37]	0.181			0.82 [0.30;2.19]	0.687		
<b>Pobremente cohesivo</b>	1.35 [0.76;2.41]	0.311			0.62 [0.23;1.66]	0.345		
<b>Linitis.AP:</b>								<0.001 199
<b>No</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.		
<b>Sí</b>	4.11 [2.28;7.39]	<0.001	3.26 [1.58;6.77]	0.001	0.00 [0.00;.]	0.996		
<b>T_PATOLOGICO</b>								<0.001 199
<b>&lt;Tis/T1</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>T2</b>	1.48 [0.60;3.64]	0.389			0.70 [0.40;1.23]	0.219	1.33 [0.26;6.78]	0.729
<b>T3</b>	3.74 [1.71;8.17]	0.001			0.84 [0.48;1.46]	0.526	5.06 [1.16;22.03]	0.031
<b>T4a/T4b</b>	7.93 [3.49;18.0]	<0.001			1.58 [0.72;3.48]	0.254	5.71 [1.22;26.67]	0.027
<b>N_ PATOLOGICO:</b>								<0.001 196
<b>N0</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>N1</b>	1.56 [0.82;2.96]	0.173	1.5 [0.64;3.51]	0.35	0.84 [0.49;1.42]	0.511	1.95 [0.78;4.85]	0.15
<b>N2</b>	3.28 [1.92;5.60]	<0.001	3.44 [1.57;7.54]	0.002	0.62 [0.32;1.19]	0.153	3.16 [1.43;6.98]	0.004
<b>N3a/N3b</b>	5.13 [2.07;12.7]	<0.001	4.33 [2.01;9.33]	<0.001	0.88 [0.45;1.70]	0.697	4.69 [2.02;10.9]	<0.001
<b>Linfad.D:</b>								<0.001 195
<b>Paliativa</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	1.70 [0.40;7.11]	0.471		
<b>D1</b>	0.29 [0.15;0.56]	<0.001	0.15 [0.07;0.33]	<0.001	Ref.	Ref.		
<b>D2</b>	0.28 [0.14;0.56]	<0.001	0.14 [0.06;0.31]	<0.001	1.05 [0.67;1.65]	0.828		
<b>Reseccion. ampliada:</b>								0.010 199
<b>No</b>	Ref.	Ref.			Ref.	Ref.		
<b>Sí</b>	2.11 [1.18;3.77]	0.012			1.06 [0.41;2.74]	0.902		
<b>Bordes. anastomosis:</b>								0.001 197

## 8. ERANSKINAK / ANEXOS

<b>Bordes. anastomosis: -</b>	Ref.	Ref.		Ref.	Ref.		
<b>Bordes. anastomosis: +</b>	2.30 [1.41;3.75]	0.001		4.62 [1.87;11.4]	0.001		
<b>Proximal.Distal:</b>						0.691	156
<b>Proximal</b>	Ref.	Ref.		Ref.	Ref.		
<b>Distal</b>	0.92 [0.60;1.40]	0.690		0.63 [0.39;1.02]	0.062		
<b>G:</b>						0.001	183
<b>Bien diferenciado</b>	Ref.	Ref.		Ref.	Ref.		
<b>Moderadamente diferenciado</b>	1.86 [1.02;3.38]	0.041		0.60 [0.33;1.08]	0.090		
<b>Pobremente diferenciado o Indiferenciado</b>	2.56 [1.52;4.32]	<0.001		0.72 [0.44;1.18]	0.191		
<b>R:</b>						<0.001	197
<b>R:0</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	
<b>R:1 o 2</b>	3.01 [1.84;4.91]	<0.001	3.62 [1.92;6.81]	<0.001	8.80 [3.17;24.5]	<0.001	
<b>Adyuvancia:</b>						0.003	157
<b>No</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	
<b>QT</b>	0.76 [0.44;1.31]	0.318	0.43 [0.22;0.84]	0.013	0.68 [0.29;1.58]	0.370	
<b>QT-RT</b>	0.49 [0.32;0.74]	0.001	0.31 [0.18;0.54]	<0.001	0.58 [0.31;1.08]	0.084	
<b>Recidiva.:</b>						0.000	195
<b>No</b>	Ref.	Ref.		Ref.	Ref.		
<b>Sí</b>	14.8 [8.75;24.9]	<0.001		0.00 [0.00;]	0.996		
<b>Estadaje TNM7ed:</b>						<0.001	181
<b>IA</b>	Ref.	Ref.		Ref.	Ref.		
<b>IB</b>	2.04 [0.64;6.51]	0.228		0.71 [0.37;1.37]	0.305		
<b>IIA</b>	2.38 [0.78;7.32]	0.129		0.43 [0.21;0.87]	0.018		
<b>IIB</b>	2.57 [0.82;8.07]	0.107		0.96 [0.47;1.96]	0.906		
<b>IIIA</b>	5.47 [1.91;15.6]	0.002		0.66 [0.31;1.41]	0.284		



<b>IIIB</b>	6.54 [2.29;18.7]	<0.001	0.53 [0.22;1.28]	0.159	
<b>IIIC</b>	11.6 [3.65;36.6]	<0.001	2.16 [0.62;7.56]	0.227	
<b>Estadíaaje TNM8ed:</b>					<0.001 194
<b>IA</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	
<b>IB</b>	2.04 [0.64;6.52]	0.227	0.71 [0.37;1.37]	0.306	
<b>IIA</b>	2.39 [0.78;7.34]	0.127	0.43 [0.21;0.86]	0.018	
<b>IIB</b>	2.58 [0.82;8.09]	0.105	0.95 [0.47;1.95]	0.899	
<b>IIIA</b>	5.84 [2.08;16.4]	0.001	0.57 [0.27;1.20]	0.139	
<b>IIIB</b>	7.78 [2.73;22.2]	<0.001	0.80 [0.35;1.80]	0.583	
<b>IIIC</b>	21.8 [6.82;69.7]	<0.001	4.64 [0.48;44.6]	0.184	
<b>Complicaciones:</b>					0.026 199
<b>No</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	
<b>Sí</b>	1.51 [1.05;2.16]	0.027	1.24 [0.81;1.87]	0.319	
<b>Tipo de complicaciones:</b>					0.053 199
<b>No complicaciones</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	
<b>Médicas</b>	1.83 [1.16;2.88]	0.009	1.29 [0.69;2.40]	0.431	
<b>Quirúrgicas</b>	1.50 [0.92;2.44]	0.106	1.39 [0.76;2.55]	0.282	
<b>Ambas</b>	1.16 [0.67;2.01]	0.595	1.11 [0.63;1.93]	0.725	
<b>Complicaciones fuga:</b>					0.083 199
<b>No</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	
<b>Complicaciones distinto de fuga</b>	1.49 [1.00;2.20]	0.048	1.12 [0.70;1.78]	0.632	
<b>Fuga</b>	1.55 [0.93;2.59]	0.090	1.61 [0.86;2.99]	0.134	
<b>CD&gt;2</b>					199
<b>No</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	

## 8. ERANSKINAK / ANEXOS

Sí	1.54 [1.07;2.20]	0.019	1.06 [0.69;1.61]	0.802		
<b>CD&gt;3A</b>						199
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.		
Sí	0.91 [0.59;1.40]	0.654	1.03 [0.63;1.68]	0.898		
<b>CD&gt;3B</b>						199
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.		
Sí	0.72 [0.42;1.27]	0.258	0.83 [0.47;1.47]	0.531		
<b>CD&gt;4</b>						199
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.		
Sí	0.92 [0.38;2.25]	0.855	3.52 [1.08;11.4]	0.037		
<b>Pobremente. cohesivos:</b>						0.014 195
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.		
Sí	1.57 [1.09;2.27]	0.014	0.59 [0.36;0.95]	0.029		
<b>Distancia mínima:</b>						0.001 150
<b>Bordes anastomosis=1 o &lt;1</b>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
[1,3)	0.44 [0.27;0.71]	0.001	0.20 [0.08;0.53]	0.001	0.59 [0.29;1.21]	0.149
>=3	0.52 [0.31;0.88]	0.014	0.118 [0.07;0.50]	0.001	0.71 [0.34;1.48]	0.364

**Anexo 3. Datos clínico-patológicos pacientes proteómica.**

Código	Cruces_1	Cruces_2	Cruces_3
F. Nacimiento	05/11/1946	31/12/1927	05/03/1940
Sexo	1	2	1
F. Ingreso	07/10/2013	16/10/2013	31/05/2013
F. Alta	08/11/2013	28/11/2013	11/06/2013
F. Dx (AP)	21/10/2013	21/10/2013	22/05/2013
ASA	II	III	III
Fumador	1	0	1
Alcohol	0	0	1
AP familiar	0	0	0
Cardiológico	1	0	1
Respiratorio	0	1	1
Pérdida peso (3m)	1	1	1
Disfagia	1	1	0
Dolor-Dispepsia	1	1	1
Helicobacter py.	0	0	0
Gastritis crónica previa	0	1	0
Hemorragia Digestiva	0	0	0
TAC	1	1	1
EUS	0	0	0
PET	0	0	0
Gastroscopia	1	1	1
Gástrico localizado	2	3	2
Localmente avanzado	1	0	0
Ca19.9		4	9
CEA	2	1	2
AP biopsia	2	0	1
HER2	1	0	0
Neoadyuvancia	0	0	0
Fecha Cirugía.	31/10/2013	30/10/2013	31/05/2013
Técnica	2	2	2

## 8. ERANSKINAK / ANEXOS

Urgencia	0	0	0
Laparoscopia	1	0	0
Complicaciones Médicas	0	1	1
Complicaciones quirúrgicas	0	0	0
Clavien Dindo	1	2	2
Reintervención	0	0	0
Exitus intrahospitalario	0	0	0
Histología	2	2	2
T 4a/4b	4a	3	3
N 3a/3b	3a	2	2
M	0	0	0
Citología	1	0	0
Linfadenectomía D	1	2	1
Ganglios +	33	3	3
Nº Ganglios	41	20	16
Resección ampliada	0	0	0
Bordes anastomosis	0	1	0
Reconstrucción	3	3	3
Estadío		5	5
G	3	3	3
R	0	0	0
SRC (anillo de sello)	1	0	0
Mucinoso	0	0	0
Adyuvancia	0	0	1
Tipo Adyuvancia			LV+5FU
Fecha recidiva	21/02/2014	07/02/2014	
Recidiva	1	1	0
Tipo de Recidiva	3	3	
Fecha éxitus	30/05/2014	13/02/2014	01/01/2018
Éxitus cáncer	1	1	0
Enfermedad oncológica asociada			Neoplasia Pulmón

#### Anexo 4. CEIC-E estudio proteómica. (Adenda ampliación al H. Cruces).



### **INFORME DEL COMITE ETICO DE INVESTIGACION CLINICA DE EUSKADI (CEIC-E)**

D<sup>a</sup>. María Rodríguez Velasco como Secretaria del CEIC de la Comunidad Autónoma del País Vasco (CEIC-E)

#### **CERTIFICA**

Que este Comité de acuerdo a la ley 14/2007 de Investigación Biomédica, principios éticos de la declaración de Helsinki y resto de principios éticos aplicables, en su reunión del día 23/03/2016, acta 03/2016, ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice la modificación **Adenda al proyecto** en el estudio:

**Título: CÁNCER GÁSTRICO. BIOMARCADORES PROTEICOS Y SUS IMPLICACIONES EN EL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO. AUTORIZADO EN EL CEIC DE GALDAKAO, AMPLIACIÓN A CRUCES.**

**Código Promotor:** EHU11/25 **Código Interno:** PI2012087  
**Versión Protocolo Evaluada:** Versión 21/03/16

Y que este Comité ha decidido emitir INFORME FAVORABLE A LA REALIZACIÓN DE DICHA ENMIENDA para que sea realizada en todos los centros participantes.

Lo que firmo en Vitoria, a 13 de abril de 2016

Fdo:



D<sup>a</sup>. María Rodríguez Velasco  
Secretaria del CEIC Comunidad Autónoma del País Vasco (CEIC-E)

**Nota:** Una vez comenzado el estudio, se recuerda la obligación de enviar un **informe de seguimiento anual** y **informe final** que incluya los resultados del estudio (si el estudio dura menos de un año, con el informe final será suficiente). Más información en la página web del CEIC-E:  
[https://apps.euskadi.eus/85-0kfarm03/es/contenidos/informacion/ceic\\_proyectos\\_investigacion/es\\_ceic/proyectos\\_investigacion.html](https://apps.euskadi.eus/85-0kfarm03/es/contenidos/informacion/ceic_proyectos_investigacion/es_ceic/proyectos_investigacion.html)

## Anexo 5. Proteínas destacadas en condiciones estrictas.

Nombre de la proteínas	ID Uniprot y símbolo	Función	
Collagen alpha-2(V) chain COL5A2	HUMANIHGNC = 2210 UniProtKB=P05997 COL5A2	extracellular matrix structural protein	
Collagen alpha-1(I) chain COL1A1	HUMANIHGNC=2197 UniProtKB=P02452 COL1A1 COLLAGEN ALPHA-1(I) CHAIN (PTHR24023:SF569)	extracellular matrix structural protein	
ATP synthase F(0) complex subunit B1, mitochondrial ATP5PB ortholog	ATP SYNTHASE F(0) COMPLEX SUBUNIT B1, MITOCHONDRIAL (PTHR12733:SF3)	HUMANIHGNC=840   UniProtKB=P24539 ATP synthase	ATP5F1 Homo sapiens
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3 ATP1B3 ortholog	SODIUM/POTASSIUM-TRANSPORTING ATPASE SUBUNIT BETA-3 (PTHR11523:SF47)	HUMANIHGNC=806 UniProtKB=P54709 primary active transporter	Homo sapiens
Four and a half LIM domains protein 2 FHL2 ortholog	FOUR AND A HALF LIM DOMAINS PROTEIN 2 (PTHR24205:SF3)	HUMANIHGNC=3703 UniProtKB=Q14192 transcription cofactor	FHL2 Homo sapiens
Asporin ASPN ortholog	ASPORIN (PTHR45712:SF2)	HUMANIHGNC=14872 UniProtKB=Q9BXN1	ASPN Homo sapiens
Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase, mitochondrial ALDH4A1 ortholog	DELTA-1-PYRROLINE-5-CARBOXYLATE DEHYDROGENASE, MITOCHONDRIAL (PTHR14516:SF3)	HUMANIHGNC=406 UniProtKB=P30038 dehydrogenase	ALDH4A1 Homo sapiens
Adenosylhomocysteinase 3 AHCYL2 ortholog	ADENOSYLHOMOCYSTEINASE 3 (PTHR23420:SF2)	HUMANIHGNC=22204 UniProtKB=Q96HN2 hydrolase	AHCYL2 Homo sapiens
Ribosome biogenesis protein BRX1 homolog BRX1 ortholog	RIBOSOME BIOGENESIS PROTEIN BRX1 HOMOLOG (PTHR13634:SF0)	HUMANIHGNC=24170 UniProtKB=Q8TDN6 RNA metabolism protein	BRX1 Homo sapiens
Nicotinamide N-methyltransferase NNMT ortholog	NICOTINAMIDE N-METHYLTRANSFERASE (PTHR10867:SF32)	HUMANIHGNC=7861 UniProtKB=P40261 methyltransferase	NNMT Homo sapiens
NAD kinase 2, mitochondrial NADK2 ortholog	NAD KINASE 2, MITOCHONDRIAL (PTHR13158:SF5)	HUMANIHGNC=26404 UniProtKB=Q4G0N4	NADK2 Homo sapiens
Ethylmalonyl-CoA decarboxylase ECHDC1 ortholog	ETHYLMALONYL-COA DECARBOXYLASE (PTHR11941:SF27)	HUMANIHGNC=21489 UniProtKB=Q9NTX5 hydratase	ECHDC1 Homo sapiens

<b>Prostaglandin E synthase 2 PTGES2 ortholog</b>	PROSTAGLANDIN E SYNTHASE 2 (PTHR12782:SF5)	HUMAN HGNC=17822 UniProtKB=Q9H7Z7 reductase	PTGES2 Homo sapiens
<b>Metalloproteinase inhibitor 1 TIMP1 ortholog</b>	METALLOPROTEINASE INHIBITOR 1 (PTHR11844:SF20)	HUMAN HGNC=11820 UniProtKB=P01033 protease inhibitor	TIMP1 Homo sapiens
<b>Cytochrome c oxidase assembly factor 3 homolog, mitochondrial COA3 ortholog</b>	CYTOCHROME C OXIDASE ASSEMBLY FACTOR 3 HOMOLOG, MITOCHONDRIAL (PTHR15642:SF3)	chaperone	Homo sapiens
<b>Presequence protease, mitochondrial PITRM1 ortholog</b>	PRESEQUENCE PROTEASE, MITOCHONDRIAL (PTHR43016:SF13)	HUMAN HGNC=17663 UniProtKB=Q5JRX3 metalloprotease	PITRM1 Homo sapiens
<b>Transmembrane protein 198 TMEM198 ortholog</b>	TRANSMEMBRANE PROTEIN 198 (PTHR31247:SF7)	HUMAN HGNC=33704 UniProtKB=Q66K66	TMEM198 Homo sapiens
<b>CD109 antigen CD109 ortholog</b>	CD109 ANTIGEN (PTHR11412:SF162)	HUMAN HGNC=21685 UniProtKB=Q6YHK3 protease inhibitor	CD109 Homo sapien
<b>Gastric triacylglycerol lipase LIPF ortholog</b>	GASTRIC TRIACYLGLYCEROL LIPASE (PTHR11005:SF15)	HUMAN HGNC=6622 UniProtKB=P07098 lipase	LIPF Homo sapiens

### Anexo 6. Proteínas seleccionadas: Nombre, gen, código uniprot, función y dianas terapéuticas, de las proteínas de la vía señalización celular Rho.

Nombre de la proteína	Gen	Código Uniprot	Función	Dianas terapéuticas
Cadherin-1;E-Cad/CTF1;E-Cad/CTF2;E-Cad/CTF3	CDH1	P12830;A0A087WXI5;P128302;A0A087WX17;A0A087WU43	Se relaciona con la adhesión, migración y motilidad celular	
Catenin alpha-1	CTNNA1	P35221;P35221-2;G3XAM7;P35221-3	Relacionada con la vía MAPK Proliferación celular	
Catenin beta-1	CTNNB1	B4DGU4;P35222	Proliferación celular	
Transforming protein RhoA	RHOA	P61586;C9JNR4;C9JX21	Miembro de la familia GTPasa que regula la transducción de señales y se asociada a la progresión de neoplasias específicas	
FYVE, RhoGEF and PH domain-containing protein 4	FGD4	F8VWL3;B7Z493;E9PJX4;Q96M96;F8W1R0	Proteína activadora de RHOA	
Rho guanine nucleotide exchange factor 7	ARHGEF7	E7EUY6;E9PDQ5;B1ALK7;Q14155-6;Q14155-1;Q14155-5;Q14155-2;Q14155-3;Q14155	Funciones en migración, adhesión y propagación celular	
Rho guanine nucleotide exchange factor 16	ARHGEF16	Q5VV41-2;Q5VV41;B0QZD4	Se une a CDH y a RhoGTPasa y a receptores tirosina quinasa	
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	P04406;P04406-2;E7EUT5	Apoptosis y regulación de la transducción	
RHG01_HUMAN	ARHGAP1	Q07960	Se une a la CDH y activador GTPasa	
Rho-associated protein kinase 1	ROCK1	Q13464	Actividad de la proteína serina / treonina quinasa dependiente de Rho. Regula la adhesión celular	

### Anexo 6 b). Fosfatasa en el cáncer gástrico difuso.

Nombre de la proteína	Gen	Código Uniprot	Función	Dianas terapéuticas
Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	PPP2CA	P67775	inactivación de la actividad MAPK Regula la vía WNT	
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	PTPN1	P18031	Regulación negativa de MAPK	



**Anexo 7. Características clínico patológicas y subtipos molecular de Gee (PX1-3).**

	PX1	PX2	PX3	p.overall
	N=16	N=34	N=34	
<b>Genero</b>				<b>0.116</b>
<b>Hombre</b>	5 (31.2%)	17 (50.0%)	9 (26.5%)	
<b>Mujer</b>	11 (68.8%)	17 (50.0%)	25 (73.5%)	
<b>Edad</b>	62.5 (8.92)	54.7 (14.8)	58.5 (14.3)	<b>0.166</b>
<b>Tipo tumor:</b>				<b>0.180</b>
<b>1</b>	8 (50.0%)	11 (32.4%)	10 (29.4%)	
<b>2</b>	4 (25.0%)	15 (44.1%)	14 (41.2%)	
<b>3</b>	0 (0.00%)	1 (2.94%)	6 (17.6%)	
<b>4</b>	4 (25.0%)	7 (20.6%)	4 (11.8%)	
<b>Localización primaria del tumor</b>				<b>0.001</b>
<b>Cardias</b>	6 (37.5%)	12 (35.3%)	4 (11.8%)	
<b>Cuerpo</b>	7 (43.8%)	17 (50.0%)	9 (26.5%)	
<b>Antro</b>	3 (18.8%)	5 (14.7%)	21 (61.8%)	
<b>Anillo de sello:</b>				<b>0.094</b>
<b>0</b>	12 (75.0%)	15 (44.1%)	21 (61.8%)	
<b>1</b>	4 (25.0%)	19 (55.9%)	13 (38.2%)	
<b>T:</b>				<b>0.017</b>
<b>2</b>	1 (6.25%)	1 (2.94%)	5 (14.7%)	
<b>3</b>	12 (75.0%)	17 (50.0%)	10 (29.4%)	
<b>4</b>	2 (12.5%)	15 (44.1%)	18 (52.9%)	
<b>5</b>	1 (6.25%)	1 (2.94%)	1 (2.94%)	
<b>Categoría T</b>				<b>0.198</b>
<b>1-2,</b>	1 (6.25%)	1 (2.94%)	5 (14.7%)	
<b>3,4,5</b>	15 (93.8%)	33 (97.1%)	29 (85.3%)	
<b>N:</b>				<b>0.122</b>
<b>0</b>	1 (6.25%)	10 (29.4%)	8 (23.5%)	
<b>1</b>	5 (31.2%)	2 (5.88%)	8 (23.5%)	
<b>2</b>	5 (31.2%)	5 (14.7%)	5 (14.7%)	
<b>3</b>	5 (31.2%)	13 (38.2%)	9 (26.5%)	
<b>4</b>	0 (0.00%)	4 (11.8%)	4 (11.8%)	
<b>Categoría N</b>				<b>0.173</b>
<b>0</b>	1 (6.25%)	10 (29.4%)	8 (23.5%)	
<b>1,2,3,4</b>	15 (93.8%)	24 (70.6%)	26 (76.5%)	
<b>N_categoria 2:</b>				<b>0.061</b>
<b>0</b>	1 (6.25%)	10 (29.4%)	8 (23.5%)	
<b>1-2</b>	10 (62.5%)	7 (20.6%)	13 (38.2%)	
<b>3-4</b>	5 (31.2%)	17 (50.0%)	13 (38.2%)	
<b>M:</b>				<b>0.347</b>
<b>0</b>	15 (93.8%)	33 (97.1%)	34 (100%)	
<b>1</b>	1 (6.25%)	1 (2.94%)	0 (0.00%)	
<b>Invasión linfovascular</b>				<b>0.251</b>
<b>0..negativo..1..positivo:</b>				
<b>0</b>	2 (12.5%)	12 (35.3%)	10 (29.4%)	
<b>1</b>	14 (87.5%)	22 (64.7%)	24 (70.6%)	
<b>Primer lugar de recurrencia</b>				<b>0.106</b>
<b>Diseminación peritoneal</b>	1 (14.3%)	5 (62.5%)	5 (62.5%)	
<b>Metástasis a distancia</b>	6 (85.7%)	3 (37.5%)	3 (37.5%)	



# 9.

## **Baimenak** Autorizaciones

## 9. BAIMENAK / AUTORIZACIONES

**Autorización del director de la tesis.**

**TESI ZUZENDARIAREN BAIMENA TESIA  
AURKEZTEKO**

**AUTORIZACIÓN DEL/LA DIRECTORA/A  
DE TESIS PARA SU PRESENTACIÓN**

Zuzendarien izen-abizenak / Nombre y apellidos de los directores:

JOAQUIN LOSADA RODRIGUEZ, IFZ/NIF. 14874847B

RAFAEL SARRÍA ARÓSTEGUI, IFZ/NIF. 72253583A

Tesiaren izenburua / Título de la tesis:

***Histopatologian oinarritutako tratamendu kirurgikotik proteogenomikak gidatutako doitasunezko kirurgiara***

***Del tratamiento quirúrgico basado en histopatología a la cirugía de precisión guiada por proteogenómica***

***From surgical treatment based on histopathology to precision surgery guided by proteogenomics***

Doktorego programa / Programa de doctorado: NEUROCIENCIAS.

Doktoregaiaren izen-abizenak / Nombre y apellidos del doctorando: AINGERU SARRIUGARTE LASARTE

Unibertsitateak horretarako jartzen duen tresnak emandako ANTZEKOTASUN TXOSTENA ikusita, baimena ematen dut goian aipatzen den tesia aurkez dadin, horretarako baldintza guztiak betetzen baititu.

Visto el INFORME DE SIMILITUD obtenido de la herramienta que a tal efecto pone a disposición la universidad, autorizo la presentación de la tesis doctoral arriba indicada, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Tokia eta data / Lugar y fecha:

Sin. / Fdo.: Tesiaren zuzendaria / El director de la tesis

Joaquín Losada Rodríguez

Rafael Sarria Aróstegui

**Autorización de la comisión académica del programa.**

## AUTORIZACIÓN DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO

La Comisión Académica del Programa de Doctorado en NEUROCIENCIAS en reunión celebrada el día 29 de abril de 2021, ha acordado dar la conformidad a la presentación de la Tesis Doctoral titulada:

***Histopatologian oinarritutako tratamendu kirurgikotik proteogenomikak gidatutako doitasunezko kirurgiara***

***Del tratamiento quirúrgico basado en histopatología a la cirugía de precisión guiada por proteogenómica***

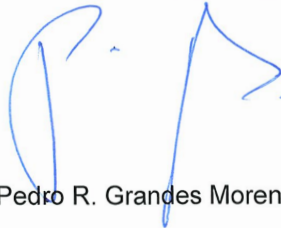
***From surgical treatment based on histopathology to precision surgery guided by proteogenomics***

dirigida por los Dres. D. JOAQUÍN LOSADA RODRÍGUEZ y D. RAFAEL SARRÍA ARÓSTEGUI

y presentada por Don AINGERU SARRIUGARTE LASARTE, adscrito al Departamento de Neurociencias

En LEIOA, a 29 de abril de 2021

EL RESPONSABLE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO



Fdo.: Pedro R. Grandes Moreno

**Autorización del consejo de departamento.**



AUTORIZACIÓN DEL DEPARTAMENTO

El Consejo del Departamento de Neurociencia, en reunión celebrada el día 29 de abril de 2021, ha acordado dar la conformidad a la admisión a trámite de presentación de la Tesis Doctoral titulada:

***Histopatologian oinarritutako tratamendu kirurgikotik proteogenomikak gidatutako doitasunezko kirurgiara***

***Del tratamiento quirúrgico basado en histopatología a la cirugía de precisión guiada por proteogenómica***

***From surgical treatment based on histopathology to precision surgery guided by proteogenomics***

dirigida por los Dres. JOAQUÍN LOSADA RODRÍGUEZ y RAFAEL SARRÍA ARÓSTEGUI

y presentada por Don AINGERU SARRIUGARTE LASARTE

ante este Departamento.

En Leioa, a 29 de abril de 2021

VºBº DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO

SECRETARIA DEL DEPARTAMENTO

Fdo.: Rafael Sarria Aróstegui

Fdo.: Izaskun Elezgarai Gabantxo

**9. BAIMENAK / AUTORIZACIONES**

**Acta de grado de doctor.**

**ACTA DE GRADO DE DOCTOR O DOCTORA**  
**ACTA DE DEFENSA DE TESIS DOCTORAL**

DOCTORANDO D. **INGERU SARRIUGARTE LASARTE**  
TITULO DE LA TESIS:

***Histopatologian oinarritutako tratamendu kirurgikotik proteogenomikak gidatutako doitasunezko kirurgiara***

***Del tratamiento quirúrgico basado en histopatología a la cirugía de precisión guiada por proteogenómica***

***From surgical treatment based on histopathology to precision surgery guided by proteogenomics***

El Tribunal designado por la Comisión de Postgrado de la UPV/EHU para calificar la Tesis Doctoral arriba indicada y reunido en el día de la fecha, una vez efectuada la defensa por el/la doctorando/a y contestadas las objeciones y/o sugerencias que se le han formulado, ha otorgado por \_\_\_\_\_ la calificación de:  
*unanimidad ó mayoría*

--

SOBRESALIENTE / NOTABLE / APROBADO / NO APTO

Idioma/s de defensa (en caso de más de un idioma, especificar porcentaje defendido en cada idioma):

Castellano \_\_\_\_\_

Euskera \_\_\_\_\_

Otros Idiomas (especificar cuál/cuales y porcentaje) \_\_\_\_\_

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

EL/LA PRESIDENTE/A,

EL/LA SECRETARIO/A,

Fdo.:

Fdo.:

Dr/a: \_\_\_\_\_

Dr/a: \_\_\_\_\_

VOCAL 1º,

VOCAL 2º,

VOCAL 3º,

Fdo.:

Fdo.:

Fdo.:

Dr/a: \_\_\_\_\_

Dr/a: \_\_\_\_\_

Dr/a: \_\_\_\_\_

EL/LA DOCTORANDO/A,

Fdo.: Aingeru Sarriugarte Lasarte



# 10.

**Material gehigarria**  
Material complementario

**10. MATERIAL GEHIGARRIA / MATERIAL COMPLEMENTARIO**

**10.1 Artículo publicado en Cir Esp: Current Status of Gastrectomy for Cancer- “Less Is Often More”.**

**10.2 Caso clínico publicado en Rev. Chil. Cir: Paresia gástrica masiva como único hallazgo diagnóstico de linitis plástica por carcinoma de células en anillo de sello.**

**10.3 Caso clínico publicado en RCC: Escudo de Blumer signo diagnóstico de la diseminación a distancia del cáncer gástrico difuso.**

**10.4 Artículo del estudio I publicado en REED: From Laurens diffuse gastric cancer to WHO's poorly cohesive carcinoma.**

**10.5 Estadística completa del Estudio II.**

**10.6 Artículo del estudio II. Aceptado para publicación en Cirugía y Cirujanos.**

**10.7 Video del Estudio III: Técnica gastrectomía 95% totalmente laparoscópica.**

**10.8 Artículo del estudio III publicado en Cir Esp: Short Term Results of NearTotal 95 Laparoscopic Gastrectomy.**

**10.9 Artículo del estudio III publicado en Laparoscopic Surgery: Totally laparoscopic 95 gastrectomy for gastric cancer how to reduce complications while maintaining oncological radicality.**

**10.10 Excel (E\_1) con resultados completos del Estudio IV “Proteómica del CGD”.**

**10.11 Tesis doctoral completa Euskera-Castellano-Ingles formato PDF.**









eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea