

# Valor pronóstico de la expresión del gen P53, del VEGF y de la angiogénesis tumoral en pacientes intervenidos por cáncer gástrico y la influencia de estos factores sobre la respuesta al tratamiento quimioterápico adyuvante

Constantino Fondevila Campo

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES QUIRÚRGICAS**

**Programa de doctorado: FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS DE LA CIRUGÍA**

**TESIS DOCTORAL:**

**VALOR PRONÓSTICO DE LA EXPRESIÓN DEL GEN  
p53, DEL VEGF Y DE LA ANGIOGÉNESIS TUMORAL  
EN PACIENTES INTERVENIDOS POR CÁNCER  
GÁSTRICO Y LA INFLUENCIA DE ESTOS FACTORES  
SOBRE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO  
QUIMIOTERÁPICO ADYUVANTE.**

Tesis presentada por D. CONSTANTINO FONDEVILA CAMPO para optar  
al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Directores: Dr. Josep FUSTER OBREGÓN y Dr. Manuel PERA ROMÁN

**Barcelona, 18 de Enero de 2002**

---

JOSEP FUSTER OBREGÓN, Profesor Asociado del Departamento de Cirugía y Especialidades Quirúrgicas de la Universidad de Barcelona, y

MANUEL PERA ROMÁN, Doctor en Medicina Cirugía por la Universidad de Barcelona,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral “**VALOR PRONÓSTICO DE LA EXPRESIÓN DEL GEN P 53, DEL VEGF Y DE LA ANGIOGÉNESIS TUMORAL EN PACIENTES INTERVENIDOS POR CÁNCER GÁSTRICO Y LA INFLUENCIA DE ESTOS FACTORES SOBRE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO QUIMIOTERÁPICO ADYUVANTE** ”, presentada por D. Constantino Fondevila Campo, ha sido realizada bajo su dirección.

Y tras valorar el trabajo realizado por el aspirante al Título de Doctor,

AUTORIZAN:

Su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente.

En Barcelona, a 18 de Enero de 2002.

Fdo.: J. Fuster Obregón

Fdo.: M.Pera Román

---

A los pacientes,

por los que todo esfuerzo merece la pena.

---

## **Agradecimientos**

A los Dres. Josep Fuster y Manuel Pera, por su estímulo y apoyo en la elaboración de esta tesis doctoral y por ser una referencia de valores humanos y profesionales.

Al Dr. Alain Volant, del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de la Cavale Blanche de Brest, por sus enseñanzas para poder realizar este estudio. Sin las largas jornadas de trabajo compartidas, esta tesis no hubiera sido posible.

Al Dr. Josep Visa i Miracle, Jefe del Servicio de Cirugía General y Digestiva, por ser un ejemplo de dedicación y autoexigencia en el trabajo diario.

A los Dres. Juan Carlos García-Valdecasas y Luis Grande, con los que he compartido muchas horas de trabajo, cuyas enseñanzas y estímulo constante han contribuido de forma fundamental en mi formación como cirujano.

A todos los Dres. y Residentes que forman parte del Servicio de Cirugía General del Hospital Clínico, por todos los momentos compartidos en el trabajo diario para conseguir un objetivo común.

A los Dres. Miguel Navasa y Javier Fernández, por su amistad.

A los Dres. Antonio Palacín, Carmela Iglesias y Juan José Grau por su colaboración en la realización de esta tesis doctoral.

Al Dr. Enric Pous por su ayuda en el análisis estadístico de los datos.

A todo el personal de enfermería del Servicio de Cirugía, por su dedicación y colaboración indispensable en nuestro quehacer diario.

A mi familia y a mis amigos, por su cariño, comprensión y apoyo incondicional.

---

**ÍNDICE**

---

## INTRODUCCIÓN

### 1. CÁNCER GÁSTRICO.

1.1. EPIDEMIOLOGÍA	1
1.1.1. Incidencia y mortalidad.	1
1.1.2. Sexo y edad.	2
1.1.3. Factores geográficos.	2
1.1.4. Clase socioeconómica.	3
1.1.5. Histología.	3
1.1.6. Localización tumoral	4
1.2. ETIOLOGÍA	4
1.2.1. Lesiones precancerosas	5
1.2.2. Factores dietéticos	8
1.2.2.1. Sal	8
1.2.2.2. Nitrosaminas	9
1.2.2.3. Factores preventivos	9
1.2.3. Tabaco y alcohol	10
1.2.4. Helicobacter pylori	11
1.2.5. Virus de Epstein-Barr	13
1.2.6. Cirugía gástrica previa	13
1.2.7. Factores genéticos	14
1.3. ANÁLISIS CLÍNICO-PATOLÓGICO	16
1.3.1. Presentación clínica	16
1.3.2. "Screening"	16
1.3.3. Estadificación clínica	17
1.3.3.1. Marcadores tumorales	17
1.3.3.2. Endoscopia	18
1.3.3.3. Ultrasonografía endoscópica	18
1.3.3.4. Tomografía axial computerizada	18
1.3.3.5. Tomografía de emisión de positrones	18
1.3.3.6. Laparoscopia	19
1.3.4. Consideraciones anatómicas	19

1.3.5. Histopatología de los tumores gástricos	20
1.3.6. Estadificación patológica y pronóstico	22
1.3.6.1. Estadio T	24
1.3.6.2. Estadio N	25
1.3.6.3. Estudio citológico del líquido peritoneal	27
1.3.6.4. Micrometástasis en médula ósea	28
1.3.7. Patrones de diseminación y recidiva	28
1.3.7.1. Recidiva local	28
1.3.7.2. Recidiva a distancia	30
<b>1.4. TRATAMIENTO</b>	<b>31</b>
1.4.1. Resección endoscópica	31
1.4.2. Cirugía	31
1.4.2.1. Tipo de gastrectomía	32
1.4.2.2. Tipo de linfadenectomía	35
1.4.3. Quimioterapia adyuvante	39
1.4.4. Quimioterapia neoadyuvante	40
1.4.5. Quimioterapia intraperitoneal	41
1.4.6. Inmunoquimioterapia	42
1.4.7. Radioterapia	43
1.4.8. Tratamiento paliativo	45
1.4.8.1. Cirugía paliativa	45
1.4.8.2. Quimioterapia paliativa	45
1.4.8.3. Radioterapia paliativa	47
<b>2. BIOLOGIA MOLECULAR DEL CÁNCER.</b>	
<b>2.1. EL CICLO CELULAR</b>	<b>48</b>
2.1.1. Fases del ciclo celular	48
2.1.2. Control del ciclo celular	49
2.1.3. Genes reguladores del ciclo celular	50
<b>2.2. APOPTOSIS</b>	<b>52</b>
<b>2.3. DESARROLLO DEL CÁNCER</b>	<b>54</b>
2.3.1. Acción de los carcinógenos	54

2.3.2. Fases de crecimiento tumoral	56
2.3.2.1. Iniciación	56
2.3.2.2. Promoción	57
2.3.2.3. Progresión y producción de metástasis	57
<b>2.4. ALTERACIONES GENÉTICAS EN EL CÁNCER GÁSTRICO Y SU VALOR PRONÓSTICO</b>	<b>59</b>
<b>2.5. PROTEÍNA P53</b>	<b>61</b>
2.5.1. Características de la proteína p53	61
2.5.2. Funciones de la proteína p53	62
2.5.3. Regulación de la actividad de la proteína p53	63
2.5.4. Valor pronóstico de la proteína p53 en el cáncer gástrico	64
2.5.5. p53 y respuesta al tratamiento antitumoral	64
<b>2.6. ANGIOGÉNESIS</b>	<b>65</b>
2.6.1. Angiogénesis tumoral	66
2.6.2. Significado pronóstico de la angiogénesis tumoral	67
2.6.3. Factores angiogénicos	67
<b>2.7. VEGF</b>	<b>70</b>
2.7.1. Características y estructura	70
2.7.2. Receptores y funciones	71
2.7.3. Valor pronóstico del VEGF en el desarrollo tumoral	72
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>74</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>77</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
<b>1. ESTUDIO CLÍNICO</b>	<b>78</b>
1.1. Pacientes	78
1.2. Criterios de inclusión	79

1.3. Criterios de exclusión	79
1.4. Técnica quirúrgica y tratamiento adyuvante	80
1.5. Estadificación y gradación de los pacientes	81
1.6. Seguimiento	83
<b>2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO</b>	<b>85</b>
2.1. Procedimiento técnico	85
2.2. Interpretación de resultados	86
2.2.1. p53	86
2.2.2. VEGF	88
2.2.3. Angiogénesis	89
<b>3. ESTUDIO ESTADÍSTICO</b>	<b>91</b>

## RESULTADOS

<b>1. ESTUDIO CLÍNICO</b>	<b>93</b>
1.1. Variables demográficas	93
1.2. Sintomatología y antecedentes	93
1.3. Tratamiento quirúrgico	95
1.3.1. Complicaciones postoperatorias	95
1.3.2. Reintervenciones	97
1.3.3. Mortalidad peroperatoria	98
1.4. Tratamiento quimioterápico	98
<b>2. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO</b>	<b>99</b>
<b>3. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO</b>	<b>100</b>
3.1. Proteína p53	100
3.2. Densidad microvascular	100
3.3. VEGF	102
<b>4. SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA</b>	<b>102</b>

4.1. Supervivencia global y relacionada con la enfermedad de la serie completa de pacientes -----	102
4.2. Supervivencia global y relacionada con la enfermedad de los pacientes intervenidos con intención curativa -----	104
4.3. Pacientes con recidiva tumoral -----	105
<b>5. ANÁLISIS DE LA CORRELACIÓN EXISTENTE ENTRE LA DENSIDAD MICROVASCULAR Y LA EXPRESIÓN DE p53 Y VEGF -----</b>	<b>107</b>
5.1. Relación entre p53 y densidad microvascular -----	107
5.2. Relación entre p53 y VEGF -----	108
5.3. Relación entre VEGF y densidad microvascular -----	108
<b>6. ANÁLISIS DE LA CORRELACIÓN EXISTENTE ENTRE LA DENSIDAD MICROVASCULAR, LA EXPRESIÓN DE p53 Y VEGF CON PARÁMETROS CLÍNICOPATOLÓGICOS -----</b>	<b>110</b>
<b>7. ANÁLISIS DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES INTERVENIDOS QUIRÚRGICAMENTE POR CÁNCER GÁSTRICO (SERIE COMPLETA) -----</b>	<b>112</b>
7.1. Análisis Univariado de los factores clínicopatológicos -----	112
7.2. Análisis Univariado del valor pronóstico de p53, VEGF y densidad microvascular -----	114
7.3. Análisis Multivariado de supervivencia -----	115
<b>8. ANÁLISIS DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES INTERVENIDOS QUIRÚRGICAMENTE CON INTENCIÓN CURATIVA POR CÁNCER GÁSTRICO -----</b>	<b>116</b>
8.1. Análisis Univariado de los factores clínicopatológicos -----	117
8.2. Análisis Univariado del valor pronóstico de p53, VEGF y densidad microvascular -----	117
<b>8.3. RECIDIVA TUMORAL -----</b>	<b>120</b>
8.3.1. Análisis de la influencia de p53, VEGF y densidad microvascular en	

la aparición de recidivas -----	120
8.3.2. Análisis de la influencia de p53, VEGF y densidad microvascular en la Supervivencia Libre de Recidiva -----	120
8.3.3. Localización de las recidivas-----	121
8.3.3.1. Recidiva ganglionar -----	122
8.3.3.2. Recidiva a distancia -----	123
8.3.4. Análisis multivariado de los factores de riesgo para la aparición de recidiva y para la Supervivencia Libre de Recidiva-----	124
8.4. QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE-----	125
8.4.1. Efecto de la quimioterapia adyuvante en la aparición de recidivas-----	125
8.4.2. Análisis del efecto de la quimioterapia adyuvante en la supervivencia -----	126
8.4.3. Influencia de p53, VEGF y densidad microvascular en el efecto terapéutico de la quimioterapia adyuvante -----	127
8.4.3.1. p53 -----	127
8.4.3.2. VEGF -----	127
8.4.3.3. Densidad microvascular-----	128
8.5. ANÁLISIS MULTIVARIADO DE SUPERVIVENCIA -----	128
<b>DISCUSIÓN-----</b>	<b>131</b>
<b>CONCLUSIONES-----</b>	<b>152</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA-----</b>	<b>154</b>
<b>ANEXOS</b>	
1. ÍNDICE DE TABLAS-----	181
2. ÍNDICE DE FIGURAS-----	184

## **INTRODUCCIÓN**

---

# **1. CÁNCER GÁSTRICO.**

## **1.1. EPIDEMIOLOGÍA.**

### **1.1.1. Incidencia y mortalidad.**

Hasta la década de los años ochenta, el cáncer gástrico fue uno de los tumores malignos más frecuentes y la primera causa de muerte por cáncer en el mundo, si bien ha sido superado desde entonces por el cáncer de pulmón<sup>1</sup>. En los últimos cuarenta años se viene produciendo en los Estados Unidos y en otros países occidentales un claro descenso de la incidencia del cáncer gástrico, cuyos motivos no se conocen. A pesar de ello, el cáncer gástrico constituye todavía en la actualidad un importante problema sociosanitario y es la segunda neoplasia maligna del aparato digestivo en cuanto a frecuencia y la primera en lo que respecta a mortalidad <sup>2</sup>.

Este descenso en la incidencia y mortalidad observado en las últimas décadas constituye uno de los rasgos más llamativos en la epidemiología del cáncer gástrico. Aunque su distribución epidemiológica varía significativamente en distintos países, en Estados Unidos se estima que se producirán 21.700 nuevos diagnósticos de cáncer gástrico durante el año 2001 y que unos 12.800 pacientes fallecerán por este motivo <sup>3</sup>.

La mortalidad por cáncer gástrico en España comenzó a declinar a partir de 1960, siendo el segundo tumor maligno como causa de muerte en 1980, sólo superado por el cáncer de pulmón y, en las mujeres, por el de mama. En la actualidad, el cáncer gástrico figura en el tercer lugar entre los tumores malignos más frecuentes del tubo digestivo, precedido únicamente por los de colon y recto<sup>4</sup>

El descenso en la tasa de mortalidad del cáncer gástrico en todo el mundo, es debido a la disminución en su incidencia, ya que las tasas de supervivencia relativas a cinco años no han cambiado considerablemente a lo largo del tiempo. El pronóstico de estos pacientes en el mundo occidental no ha mejorado mucho en las últimas décadas como consecuencia del diagnóstico tardío de estas neoplasias. Esta circunstancia condiciona que las posibilidades de curación sean escasas y que la supervivencia global a cinco años se sitúe entre un 20-30 %<sup>6</sup> (Tabla 3).

### **1.1.2. Sexo y edad.**

En la mayoría de las series el cáncer gástrico afecta más a los hombres que a las mujeres (1,5-2 : 1) y en cuanto a la edad de aparición en España, la máxima incidencia se sitúa entre los 60-80 años, con menos de un 10% de casos en individuos menores de 50 años<sup>4 5</sup>.

### **1.1.3. Factores geográficos.**

La mayor incidencia de cáncer gástrico en el mundo se produce en Japón y algunas partes de la antigua Unión Soviética, donde llega a ser de 85 casos por 100.000 habitantes en varones. Elevadas tasas de incidencia también se han observado en partes de China (Shangai 51.7) y América Latina (Costa Rica 46.9, Colombia 36.3).

La incidencia de cáncer gástrico en Europa es aproximadamente de 20-33 casos por 100.000 habitantes<sup>7</sup>, si bien existen importantes diferencias regionales. Por ejemplo, en Italia la incidencia oscila entre el 16.1 de Sicilia al 40.2 de Florencia. En España la incidencia se encuentra entre 15-27 casos por 100.000 habitantes (riesgo intermedio), aunque en áreas como Soria o Burgos la incidencia

llega a ser de 80 casos por 100.000 habitantes y año <sup>5</sup>. Las tasas de menor incidencia en el mundo se producen en países como Gambia (3.9) y en regiones de la India (2.1).

Estas variaciones geográficas en la incidencia sugieren que factores ambientales pueden ejercer una influencia determinante en la etiopatogenia tumoral. En ese sentido, se ha observado que los fenómenos migratorios internacionales producen un cambio en el riesgo de padecer la enfermedad, especialmente en la segunda y tercera generación de inmigrantes, que hace que dicho riesgo se asemeje al del nuevo entorno <sup>8 9</sup>.

#### **1.1.4. Clase socioeconómica.**

Dentro de la misma área geográfica, el adenocarcinoma gástrico es más frecuente en los segmentos de población con menor potencial económico. En ciudades de Estados Unidos la incidencia se duplica en clases sociales bajas y lo mismo ocurre en relación a la mortalidad de dichos pacientes en países como Inglaterra y Gales<sup>10</sup>.

#### **1.1.5. Histología.**

Lauren en 1965 dividió el cáncer gástrico en dos tipos histológicos, que se diferenciaban en sus características morfológicas y epidemiológicas<sup>11</sup>.

El tipo intestinal es más frecuente en varones y en edades avanzadas. Se desarrolla sobre zonas precancerosas como la atrofia gástrica o la metaplasia intestinal. Esta variedad histológica prevalece en regiones de alto riesgo y parece relacionarse con factores ambientales. Su incidencia y mortalidad han disminuido en todo el mundo.

El tipo difuso o infiltrante, tiene una prevalencia similar en ambos sexos y es más común en edades jóvenes, pero su pronóstico es peor al del tipo intestinal. No aparece sobre lesiones precancerosas y se asocia más a menudo con factores genéticos familiares. La disminución de su incidencia es ligera en ambos sexos y no se observa en los inmigrantes de regiones de alto riesgo de cáncer gástrico cuando se trasladan a regiones de menor prevalencia de la enfermedad <sup>12</sup>.

### **1.1.6. Localización tumoral.**

La supervivencia global de los pacientes con cáncer gástrico proximal es menor a la de los pacientes cuyo tumor se localiza distalmente, por lo que se pensaba que los tumores proximales eran biológicamente más agresivos y más complejos de tratar <sup>13</sup>. Sin embargo, datos recientes no pueden concluir que la localización anatómica afecte directamente a la supervivencia o constituya simplemente un predictor de un estadio diagnóstico más tardío ya que no se aprecian diferencias significativas entre tumores de localización proximal y distal cuando se comparan tumores con idéntico estadio <sup>14</sup>.

Es necesario señalar que la incidencia de adenocarcinomas de la unión gastroesofágica y del tercio proximal gástrico ha aumentado de forma significativa en todo el mundo occidental aunque los factores de riesgo y posibles mecanismos responsables de esta tendencia no han sido bien establecidos <sup>15 16</sup>.

## **1.2. ETIOLOGIA.**

En los años ochenta se señalaba que el descenso progresivo que había experimentado la incidencia del cáncer gástrico en la gran mayoría de los países desarrollados era resultado de un proceso espontáneo y no estaba en relación con

determinadas medidas preventivas que se hubieran adoptado sobre posibles factores causales previamente identificados <sup>17</sup>. En el momento actual se conocen un número importante de factores de riesgo para este tumor, sus posibles asociaciones y sus mecanismos de acción.

Se acepta que determinados factores dietéticos constituyen la causa principal de la aparición del cáncer gástrico. Otros factores de riesgo que juegan un papel destacado en su etiopatogenia son: la infección por *Helicobacter pylori*, la edad avanzada, el sexo masculino, la gastritis atrófica, la anemia perniciosa, el hábito tabáquico, la enfermedad de Menetrier y la poliposis familiar.

Tabla 1. Factores asociados con un riesgo incrementado de padecer cáncer gástrico.

LESIONES PRECURSORAS	Gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia. Pólipos gástricos adenomatosos, enfermedad de Menetrier.	
FACTORES ADQUIRIDOS	Nutricionales:	Consumo de sal, consumo de nitratos, dieta pobre en vitaminas A y C, conservación alimentos (ahumados, salazón), falta de refrigeración.
	Tabaco, alcohol.	
	Infección por <i>Helicobacter pylori</i> .	
	Virus de Epstein-Barr	
	Cirugía gástrica previa.	
FACTORES GENÉTICOS	Grupo sanguíneo A, anemia perniciosa, historia familiar, síndromes hereditarios.	

### 1.2.1. Lesiones precancerosas.

Pelayo Correa en el año 1970 propuso una hipótesis etiopatogénica del cáncer gástrico y señaló que el proceso de carcinogénesis se producía de forma multisequencial <sup>18</sup>. La progresión desde un epitelio normal hasta el tumoral, podría desarrollarse a lo largo de seis fases:

- 1) gastritis superficial
- 2) gastritis crónica atrófica
- 3) metaplasia intestinal completa
- 4) metaplasia intestinal incompleta
- 5) displasia
- 6) carcinoma

La **gastritis crónica atrófica** puede considerarse una lesión premaligna y presenta una elevada prevalencia en personas que habitan en regiones de alta incidencia de cáncer gástrico. La inflamación crónica induce una hiperproliferación celular para la regeneración y las células inflamatorias producen radicales libres que lesionan el ADN de las células de la mucosa. Los linfocitos producen citocinas que también estimulan la proliferación celular, y se crea, en definitiva, un ambiente propicio para que aparezcan alteraciones genéticas.

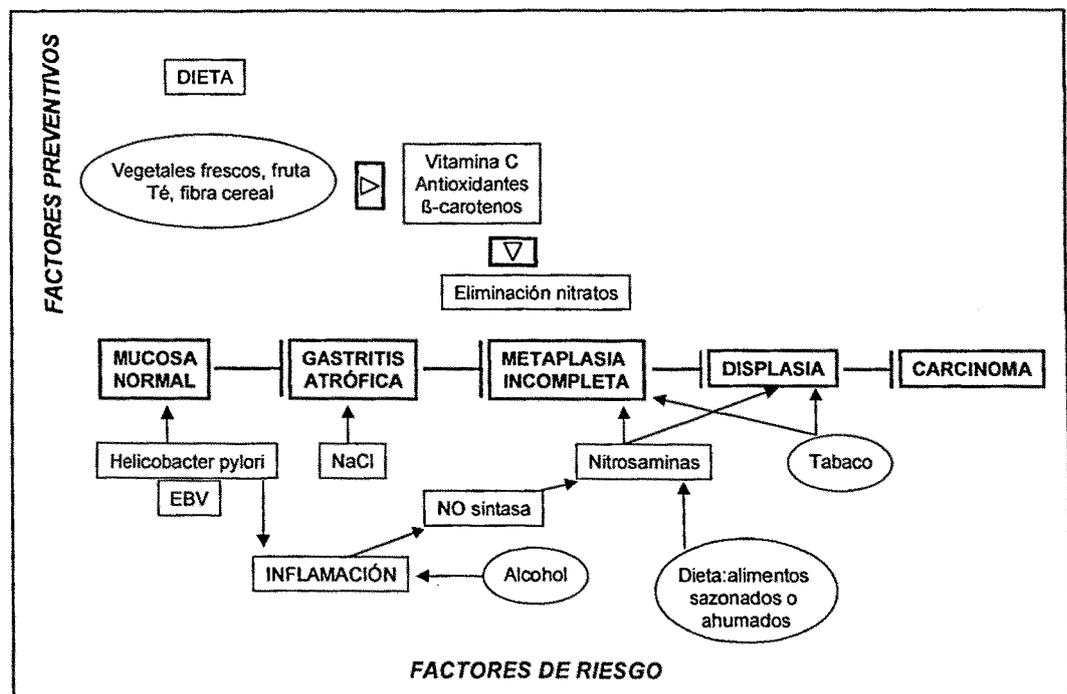
Sin embargo, el riesgo relativo de padecer cáncer gástrico asociado a la gastritis crónica atrófica es claramente diferente según el tipo histológico del cáncer: 24.71 para el tipo intestinal y 3.49 para el tipo difuso. Las lesiones precancerosas del cáncer gástrico de tipo difuso no están claramente identificadas.

La aparición de la metaplasia intestinal y displasia ya implica una alteración del fenotipo celular secundaria a procesos de mutagénesis<sup>19</sup>. La **metaplasia intestinal** se clasifica en completa e incompleta en función de sus características histológicas; el riesgo de aparición de cáncer gástrico es proporcional su extensión<sup>20</sup>. La **displasia** es un proceso dinámico caracterizado por profundas alteraciones celulares y estructurales con tendencia a la transformación maligna. El

cáncer gástrico se asocia a la presencia de displasia moderada o displasia severa en un 36% y en un 80% de pacientes respectivamente <sup>21</sup>.

Estos cambios secuenciales en la mucosa gástrica se pueden producir en un periodo de muchos años como resultado de la exposición a múltiples factores exógenos o endógenos (Figura 1).

Figura 1. Desarrollo de cáncer gástrico. Factores protectores y factores de riesgo.



Los **pólipos epiteliales** gástricos se clasifican en neoplásicos y no neoplásicos. Los neoplásicos son los **adenomatosos** que pueden ser planos y papilares, y aparecen habitualmente sobre una mucosa metaplásica. El carcinoma se desarrolla en un 6-21% de los adenomas planos y en un 20-76% de los papilares y esta frecuencia se correlaciona con la severidad de la displasia <sup>20</sup>.

La **enfermedad de Menetrier** es una hipertrofia de la mucosa del estómago debida a una hiperplasia epitelial y presenta una frecuencia de aparición de carcinoma de un 5-10% <sup>22</sup>.

### **1.2.2. Factores dietéticos.**

Los hábitos dietéticos pueden influir en la carcinogénesis gástrica pero es muy difícil valorar adecuadamente su influencia real dado que hay aspectos metodológicos que pueden haber distorsionado los resultados de los estudios <sup>23</sup>.

#### **1.2.2.1. Sal.**

La sal puede eliminar la barrera mucosa del epitelio y dar lugar a una irritación gástrica y a la aparición de gastritis atrófica superficial. En Japón y China se ha encontrado una asociación positiva entre la ingesta de alimentos con elevada concentración de sal y la mortalidad por cáncer gástrico <sup>24 25</sup>. Estudios experimentales han demostrado que la administración de sal por vía oral junto al carcinógeno N-metil-N-nitronitrosoguanidina, aumenta la incidencia de aparición de cáncer gástrico en roedores <sup>26</sup>. La sal produce una lesión inicial en las células de la mucosa que favorecería la acción de la N-metil-N-nitronitrosoguanidina, pero una vez iniciado el proceso de carcinogénesis, ya no tendría ninguna influencia sobre éste.

Numerosos estudios epidemiológicos han mostrado que el elevado consumo de carne cruda preservada en sal y/o ahumada aumenta el riesgo de cáncer gástrico <sup>27 28</sup>. Estos alimentos constituyen una de las principales fuentes de nitritos, nitrosamidas y nitrosaminas exógenas.

### **1.2.2.1. Nitrosaminas.**

Ha sido demostrado que el contenido de nitratos en el agua es generalmente muy alto en las regiones con alta prevalencia de cáncer gástrico <sup>29</sup>.

Los nitratos se transforman en nitritos por la acción de las bacterias que están presentes en la saliva. Los nitritos reaccionan con amidas y aminos para formar en el estómago nitrosaminas y nitrosamidas endógenas, que se unen a las nitrosaminas exógenas incorporadas por los alimentos.

Las nitrosaminas pueden provocar cambios en la secuencia de las bases del ADN y desencadenar el proceso de carcinogénesis en el estómago <sup>30 31</sup>. Sin embargo, se ha señalado que el efecto perjudicial de los nitratos y nitritos sólo se produciría en una mucosa previamente dañada pero no en una normal <sup>32</sup>.

### **1.2.2.3. Factores preventivos.**

Numerosos estudios muestran de forma consistente que el consumo de vegetales frescos y fruta son un factor de protección frente al riesgo de padecer cáncer gástrico <sup>33, 34, 35</sup>. La vitamina C y en menor medida la E, presentes en esos vegetales y frutas, inhiben la formación endógena de nitrosaminas y nitrosamidas a partir de los nitratos y nitritos, y además contienen carotenoides que son unos potentes antioxidantes <sup>36</sup>.

La concentración de ácido ascórbico está disminuida en estómagos que presentan gastritis crónica atrófica y ésta disminución de la defensa antioxidante provoca una menor capacidad de eliminar nitritos <sup>37</sup>.

Otros alimentos protectores que inhiben la progresión tumoral y han sido motivo de análisis especiales son el té, el ajo, la cebolla o la borraja <sup>38</sup>. También se ha señalado recientemente el papel protector de la ingesta de fibra cereal

disminuyendo el riesgo de desarrollar cáncer de cardias <sup>39</sup>. La fibra cereal actúa eliminando los nitratos en condiciones de acidez como las que se producen en el estómago.

### **1.2.3. Tabaco y alcohol.**

El humo del tabaco contiene sustancias con potencial cancerígeno para el estómago como las N-nitrosaninas y los óxidos de nitrógeno, que a su vez pueden contribuir a la formación endógena de estos compuestos, y de radicales libres de elevado potencial oxidante. El papel carcinogénico del alcohol sobre el estómago se atribuye a que puede producir un daño inespecífico de la mucosa gástrica que la hace más susceptible a la acción de los carcinógenos.

La asociación entre cáncer gástrico y el consumo de alcohol y tabaco presenta resultados contradictorios. En 7 de los 8 estudios prospectivos y en 16 de los 29 estudios casos-control que investigaron la relación del cáncer gástrico con el tabaco se observó una asociación positiva <sup>23</sup>. En 10 de los 13 estudios realizados en Europa no se observó ninguna relación. En relación al alcohol, sólo 2 de los 7 estudios prospectivos y 8 de los 28 casos control que estudiaron la asociación con el alcohol, encontraron un riesgo elevado. En la mayoría de los estudios, el riesgo relativo variaba entre 1,5 y 2,2 y sólo en dos casos se observó relación dosis-respuesta positiva <sup>23</sup>.

Ante el aumento reciente de la incidencia del adenocarcinoma del cardias, diversos estudios sugieren que la etiología de estos tumores puede ser diferente a la de aquellos tumores localizados en la región distal del estómago, y sea similar a la de los adenocarcinomas del esófago. Estudios recientes han relacionado el hábito tabáquico y el consumo de alcohol con el cáncer de cardias <sup>40 41 42</sup>. Por

ejemplo, Gammon y cols. observaron que existe un incremento del riesgo de 2,4 (IC 95 %, 1,7 – 3,4) de padecer cáncer de cardias en pacientes fumadores y que este riesgo aumenta en función de la intensidad y duración del hábito tabáquico <sup>43</sup>.

#### 1.2.4. *Helicobacter pylori*.

La prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en países en vías de desarrollo se sitúa entre el 80-90 %. En los países desarrollados la prevalencia es más baja (30-60%) y aumenta con la edad, mientras que en áreas de Japón se eleva hasta un 70-80%.

La mayor evidencia epidemiológica del papel del *H. pylori* en el proceso de carcinogénesis gástrica procede de tres estudios con largos periodos de seguimiento <sup>44 45 46</sup>. La relación entre los años de infección y la magnitud del riesgo, es uno de los argumentos más consistentes a favor del papel carcinógeno causal del *H. pylori*.

En un estudio prospectivo de 1526 pacientes japoneses publicado recientemente, se demuestra que los pacientes infectados por *H. pylori* que presentan hallazgos histológicos de atrofia gástrica severa, gastritis de predominio en el cuerpo gástrico o metaplasia intestinal, son los que tienen un elevado riesgo de padecer cáncer gástrico <sup>47</sup>.

Una de las mayores paradojas de la infección por *H. pylori* es la divergencia en los síndromes clínicos asociados a la misma. Por un lado, la infección por *H. pylori* puede provocar una gastritis antral con una hipersecreción ácida que da lugar a úlceras duodenales y esofagitis por reflujo o, si afecta al cuerpo, se puede asociar con el desarrollo de atrofia gástrica, hipoclorhidria y un riesgo aumentado de cáncer gástrico y úlceras gástricas <sup>48</sup>. Sin embargo, la infección por *H. pylori* es

asintomática en la mayoría de los pacientes y no alcanza ninguno de los dos extremos clínicos anteriores. El germen coloniza el epitelio foveolar superficial gástrico y durante años o décadas provoca una gastritis crónica, la mayor parte de las veces asintomática y de bajo grado lesional. En determinados casos, la acción del germen junto a la respuesta inflamatoria celular destruye el epitelio proliferante dando paso a fenómenos de atrofia y ulceración <sup>49</sup>. En este proceso es crucial la capacidad secretora del estómago <sup>50</sup>, ya que la inhibición farmacológica de la secreción ácida provoca un cambio en la distribución de la gastritis desde el antro hacia el cuerpo, con el riesgo de desarrollar una gastritis atrófica <sup>51</sup>. La inhibición de la secreción ácida gástrica se asocia además con un aumento significativo en la prevalencia de la colonización de la mucosa gástrica por otras bacterias <sup>52</sup>. La presencia de ambos tipos de bacterias tiene efecto sinérgico, aumenta el riesgo de gastritis atrófica y eleva los niveles de citoquinas (interleuquina-1 $\beta$  e interleuquina-8) <sup>53</sup>.

Por otro lado, el *H. pylori* presenta actividad ureasa, responsable de la abundante liberación de amonio sobre las células epiteliales gástricas, la cual estimula la replicación celular. Este efecto mitógeno se acompaña de un aumento en la liberación de radicales libres y óxido nítrico. Todo ello induce la mutagénesis y activación de la p53 y otros oncogenes, dando paso al desarrollo de la metaplasia intestinal y displasia <sup>54</sup>. Por tanto, el *H. pylori* actúa como promotor en la progresión desde un epitelio normal a otro metaplásico, mediante la inducción de un estado hiperproliferativo en la mucosa gástrica inflamada. Parece claro, por tanto, que las claves en el proceso que determinará la aparición del cáncer gástrico son la secreción ácida, la infección por *H. pylori* y la inflamación.

Recientemente se ha observado que el gen de la interleuquina-1 $\beta$  interactúa mediante los tres mecanismos anteriores: la interleuquina-1 $\beta$  aumenta con la infección por helicobacter pylori, es profundamente proinflamatoria y es la molécula con mayor capacidad de inhibir la secreción ácida<sup>55 56</sup>. Un estudio clínico reciente ha confirmado que el polimorfismo genómico que determina la expresión de la interleuquina-1 $\beta$  se asocia con un riesgo aumentado de padecer cáncer gástrico<sup>57</sup>. Así, se puede afirmar que los factores genéticos del huésped son la clave en la aparición del cáncer y que determinan el resultado final de la infección por el H: pylori, lo que explicaría que unos pacientes desarrollen el cáncer y otros no<sup>58</sup>.

### **1.2.5. Virus de Epstein-Barr.**

El virus de Epstein-Barr se relaciona con tumores linfoides y algunos tumores epiteliales incluyendo una variedad de cáncer gástrico de tipo linfoepitelial<sup>59 60</sup>. Puede aparecer en tumores de cualquier localización, incluyendo los de cardias o de muñón<sup>61</sup>. En una serie japonesa de 970 pacientes se constató la presencia del mismo en el 7 % de los casos, apareciendo en casi todos los tumores que presentaban un marcado componente de células linfoides en el estroma. El ARN viral se detectó mediante técnicas de hibridación "in situ" en las células tumorales y estaba ausente en las células no tumorales circundantes<sup>62</sup>.

### **1.2.6. Cirugía gástrica previa.**

Algunos procedimientos quirúrgicos sobre el estómago, como la vagotomía, provocan la neutralización de la acidez y un incremento de la flora bacteriana, incluyendo bacterias anaerobias que transforman los nitratos de la dieta en

nitritos<sup>63</sup>. Además, el persistente reflujo biliar promueve la aparición de gastritis crónica y metaplasia, lo que explicaría la mayor tasa de aparición de cáncer gástrico después de gastrectomías tipo Billroth II<sup>64</sup>.

Existen dos metaanálisis publicados que demuestran que existe un incremento de padecer cáncer en el muñón gástrico, pero la elevación del riesgo se produce después de un periodo de latencia de unos quince años y parece independiente del tipo de reconstrucción practicada tras la gastrectomía<sup>65 66</sup>.

Recientemente se han comparado las características de los tumores gástricos tras cirugía previa en pacientes con gastroduodenostomías o gastroyeyunostomía (Billroth II). Los tumores que aparecen en pacientes con Billroth II predominan en el área próxima a la anastomosis (61 % de los casos frente a 18%) donde aparece una importante gastritis activa con elevada proliferación celular<sup>67</sup>.

### **1.2.7. Factores genéticos.**

La presencia de varios miembros de una misma familia afectados de cáncer gástrico ha sugerido la existencia de una predisposición genética a padecer cáncer gástrico.

El cáncer gástrico puede ser una manifestación de varios síndromes hereditarios que predisponen al cáncer como son: el cáncer de colon hereditario no polipoideo, la poliposis adenomatosa familiar, el síndrome de Peutz-Jeghers, la enfermedad de Cowden y el síndrome de Li-Fraumeni. Todo ello sugiere que existen genes predisponentes al desarrollo de tumores con efecto pleiotrópico.

Actualmente sabemos que varios genes pueden relacionarse con un riesgo incrementado de padecer cáncer gástrico. Aproximadamente, un 10 % de los

pacientes con cáncer gástrico presentan una historia familiar de desarrollo de la enfermedad. En 1999 se señalaron por primera vez los criterios para denominar el "Cáncer Gástrico Difuso Hereditario" y el "Cáncer Gástrico Intestinal Familiar" <sup>68</sup>.

Una de las mutaciones que se han asociado con el cáncer gástrico difuso hereditario es la del gen que codifica la E-caderina (CDH1), una proteína de adhesión intracelular <sup>69 70</sup>, por lo que recientemente se ha propuesto la posibilidad de realizar gastrectomías profilácticas a los portadores de dicha mutación pertenecientes a familias con alta incidencia de cáncer gástrico <sup>71</sup>. Lewis y cols. realizaron seis gastrectomías profilácticas en jóvenes asintomáticos portadores de dicha mutación y en todos los casos se encontraron infiltrados de células malignas, a menudo multifocales, en las piezas de resección <sup>72</sup>.

También se ha descrito la asociación del grupo sanguíneo A con el cáncer gástrico, cuyo riesgo relativo es 1.2 veces superior que para el grupo sanguíneo O y la predisposición existente a padecer este cáncer en pacientes con anemia perniciosa, en los que el riesgo de aparición de cáncer gástrico es al menos 2 veces superior al de la población general <sup>73</sup>. En estos pacientes, las células parietales de la mucosa gástrica son destruidas por anticuerpos fijadores del complemento que dan como resultado una marcada atrofia gástrica que suele respetar la zona antral. Las gastritis atrófica resultante representa la lesión premaligna que conduce al cáncer gástrico.

### **1.3. ANÁLISIS CLÍNICO-PATOLÓGICO.**

#### **1.3.1. Presentación clínica.**

Muchos pacientes son diagnosticados con tumores avanzados debido a los síntomas inespecíficos que caracterizan a la enfermedad como pérdida de peso, anorexia, fatiga o vagas molestias epigástricas. Algunos autores han evidenciado que la pérdida de más de un 10 % de peso es un hallazgo frecuente en más del 80 % de los pacientes con tumores avanzados y que se asocia con una disminución en la supervivencia <sup>74</sup> .

En algunos pacientes la presencia de disfagia o vómitos puede informar de la presencia del tumor en localizaciones específicas como el cardias o la región pilórica. La presencia de hematemesis puede producirse hasta en un 15 % de los pacientes.

Hay pacientes que son diagnosticados después del desarrollo de ascitis, ictericia o una masa palpable, lo que es indicativo en estos casos de un tumor extendido e incurable.

#### **1.3.2. "Screening".**

Las campañas de cribaje poblacional o "screening" del cáncer gástrico se justifican por el hecho de que con el diagnóstico precoz de la neoplasia se consiguen elevadas tasas de curación de la enfermedad <sup>75</sup> . Se han llevado a cabo mayoritariamente en Japón, zona con elevada incidencia de cáncer gástrico, donde la mayor parte de la población se considera con riesgo de presentar la enfermedad. En dicho país, los programas de "screening" han conseguido aumentar la

proporción de los pacientes diagnosticados en estadio precoz desde un 20% en la década de los 70 hasta un 50-60% en la de los 90 <sup>76</sup> .

El "screening" suelen incluir la realización de una radiografía de doble contraste baritado y una endoscopia, consiguiéndose tasas de sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de hasta el 90 % <sup>77</sup> . El intervalo de tiempo más adecuado que ha de transcurrir para repetir las exploraciones en caso de que inicialmente sean negativas, es de dos años <sup>78</sup> . También se ha señalado que la disminución del ratio de pepsinógeno I/II en suero se asocia con mayor riesgo de presentar gastritis atrófica y cáncer gástrico por lo que su evaluación se ha propuesto como otra técnica de "screening" <sup>79</sup> .

### **1.3.3. Estadificación clínica.**

#### **1.3.3.1. Marcadores tumorales.**

El antígeno carcinoembrionario (CEA) se eleva en un tercio de los pacientes con cáncer gástrico <sup>80 81</sup> . La sensibilidad de este marcador es baja, pero cuando sus niveles en suero se elevan, suelen correlacionarse con un aumento del estadio tumoral. Su combinación con otros marcadores como el CA 19-9 o CA 50 incrementa la sensibilidad del CEA aislado <sup>82 83 84</sup> .

Elevaciones del TAG-72 se han observado hasta en un 47% de los pacientes con cáncer gástrico habiéndose encontrado diferencias al comparar los estadios I-II frente a III-IV. También se ha observado como la combinación del TAG-72 y el CA 19-9 puede ser útil para realizar el seguimiento de los pacientes operados <sup>81</sup> .

### **1.3.3.2. Endoscopia.**

Se utiliza rutinariamente para el diagnóstico inicial y estadificación del tumor. Determina el tamaño, localización y morfología tumoral, la extensión proximal y distal, las anomalías de la mucosa, la distensibilidad del estómago y su actividad peristáltica. Además permite realizar la toma de biopsias, alcanzándose una precisión diagnóstica que llega a ser superior al 95 %.

### **1.3.3.3. Ultrasonografía endoscópica.**

Se utiliza para evaluar la profundidad de la invasión tumoral y la afectación de los ganglios linfáticos regionales, superando en estos aspectos a la tomografía computerizada <sup>85</sup>. Autores japoneses utilizan minisondas de alta frecuencia para determinar los pacientes con cáncer gástrico precoz ("early gastric cancer") que serán candidatos a resección endoluminal <sup>86</sup>.

### **1.3.3.4. Tomografía axial computerizada.**

La realización de un TAC de abdomen, pelvis y tórax, complementa a la ultrasonografía endoscópica para identificar las metástasis a distancia. El TC espiral parece mejorar la sensibilidad del TC convencional para detectar enfermedad metastásica de pequeño tamaño, sobre todo carcinomatosis peritoneal, y para evaluar el estadio T<sup>87</sup>.

### **1.3.3.5. Tomografía de emisión de positrones.**

Se está empleando cada vez más en pacientes con tumores gastrointestinales con gran precisión diagnóstica para detectar recurrencias de la enfermedad y focos de enfermedad residual <sup>88 89</sup>. Hay que destacar también su papel en la evaluación de la respuesta tumoral en caso de la utilización de tratamientos neoadyuvantes <sup>90</sup>.

### **1.3.3.6. Laparoscopia.**

Varios estudios comparativos han demostrado que la exploración laparoscópica añade información adicional a la evaluación mediante TC preoperatoria ya que un número importante de pacientes con cáncer gástrico son estadificados incorrectamente. Los errores en la estadificación se deben, sobre todo, a las metástasis peritoneales de pequeño tamaño que pasan desapercibidas con la tomografía. Las tasas de detección de enfermedad metastásica no conocida mediante laparoscopia se sitúa entre el 13 – 37 %, <sup>91 92 93 94</sup>, con una sensibilidad del 84% y una especificidad del 100% <sup>92</sup>.

Entre los beneficios que aporta la laparoscopia en el manejo de los carcinomas gástricos están el evitar la necesidad de una laparotomía innecesaria, acortar el tiempo de hospitalización y acelerar el comienzo de una radioterapia o quimioterapia paliativas <sup>94 92</sup>. La realización de la exploración laparoscópica puede modificar la estrategia terapéutica hasta en un 40% de los pacientes con tumores avanzados <sup>95</sup>.

Por último, existe la posibilidad de realizar una ultrasonografía por laparoscopia que puede permitir la identificación de metástasis no sospechadas en el hígado y en ganglios linfáticos <sup>96</sup>.

### **1.3.4. Consideraciones anatómicas.**

Las especiales relaciones anatómicas del estómago, así como su extensa vascularización y drenaje linfático, hacen que los tumores avanzados puedan invadir por contigüidad órganos vecinos o diseminarse con facilidad, lo que dificulta en estos casos la realización de resecciones completas sin enfermedad residual tras la cirugía.

Los tumores de localización proximal pueden extenderse hacia el diafragma, el bazo o el segmento lateral izquierdo del hígado. Los tumores de curvatura mayor y cuerpo, se pueden extender hacia el hilio esplénico, páncreas y colon transverso.

La vascularización gástrica es rica y proviene del tronco celíaco, con un drenaje venoso exclusivamente portal por lo que el hígado es el primer órgano en el que se producirá la diseminación metastásica a distancia.

El drenaje linfático del estómago es extenso, existiendo distintas estaciones ganglionares, perigástricas y más distales, relacionadas entre sí que confluyen hacia los conductos linfáticos celíacos y periaórticos. Debido a la extensa red linfática submucosa del estómago, la diseminación linfática es habitual.

### **1.3.5. Histopatología de los tumores gástricos.**

El cáncer gástrico muestra diferentes características biológicas relacionadas con su histología y localización. El 95 % de los tumores gástricos lo constituyen los adenocarcinomas. Otros tumores malignos son muy raros e incluyen: carcinomas de células escamosas y adenoescamosos, tumores carcinoideos y leiomiomas o tumores estromales. Por otra parte, el estómago es el lugar del tracto digestivo donde con mayor frecuencia aparecen linfomas, que tienen un comportamiento clínico, un tratamiento y un pronóstico muy diferente a los adenocarcinomas.

Actualmente, la clasificación del tipo histológico del tumor se hace siguiendo las recomendaciones propuestas por la OMS :

- Adenocarcinoma in situ/displasia severa
- Adenocarcinoma
- Adenocarcinoma papilar

- Adenocarcinoma tubular
- Adenocarcinoma mucinoso (>50% de células mucinosas)
- Carcinoma de células en anillo de sello (>50% de cél. en anillo de sello)
- Carcinoma adenoescamoso
- Carcinoma de células escamosas
- Carcinoma de células pequeñas
- Carcinoma indiferenciado
- Otros tipos

El grado histológico del tumor se clasifica:

- Grado X: no puede determinarse
- Grado 1: bien diferenciado (>95% de tumor compuesto de glándulas)
- Grado 2: moderadamente diferenciado (50-95% de tumor compuesto de glándulas)
- Grado 3: pobremente diferenciado (5-49% de tumor compuesto de glándulas)
- Grado 4: indiferenciado (<5% de tumor compuesto de glándulas)

El grado histológico del tumor se ha correlacionado con la supervivencia para todos los estadios<sup>97</sup>.

Una clasificación ampliamente utilizada del cáncer gástrico es la de Lauren<sup>11</sup> que consta de dos grupos: intestinal y difuso. Esta clasificación, basada en la histología, caracteriza dos variedades de adenocarcinomas con distintas características patológicas, epidemiológicas y clínicas.

El tipo intestinal representa un tipo de tumor diferenciado, con tendencia a la formación de glándulas. Los tipos tubular, papilar y mucinoso de la OMS pueden ser considerados pertenecientes a este grupo.

El tipo difuso presenta muy poca cohesión celular y tiene tendencia a la infiltración submucosa y a metastatizar de forma temprana. En general, los tipos con células en anillo de sello o indiferenciados pertenecen a este grupo.

Los tumores tipo difuso se consideran en general de peor pronóstico que los de tipo intestinal, pero éste viene determinado fundamentalmente por el estadio tumoral TNM.

### **1.3.6. Estadificación patológica y pronóstico.**

Actualmente se utiliza la clasificación TNM con las modificaciones del año 1997 siguiendo las recomendaciones de la UICC (Unión Internacional Contra el Cáncer) y la AJCC (American Joint Committee on Cancer)<sup>98</sup>. Tras la unificación de criterios de la Clasificación Japonesa del Cáncer Gástrico con la clasificación TNM de la UICC, llevada a cabo por parte de la Asociación Japonesa del Cáncer Gástrico (AJCG)<sup>99</sup> es posible comparar los resultados del tratamiento del cáncer gástrico en Japón con los de los países occidentales en base al estadio TNM (Tabla 2).

El estadio tumoral constituye el factor pronóstico más importante para determinar la supervivencia de los pacientes con cáncer gástrico tanto en el mundo occidental (Tabla 3) como en Japón (Figura 2).

Tabla 2 . Estadificación del Cáncer Gástrico (UICC).

Tumor primario (T)	
Tx	No puede determinarse
T0	Sin evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ: tumor intraepitelial sin invasión de la lámina propia
T1	El tumor invade la lámina propia o submucosa
T2	El tumor invade la muscular propia (T2a) o subserosa (T2b)
T3	El tumor penetra la serosa(peritoneo visceral) sin invadir las estructuras adyacentes
T4	El tumor invade estructuras adyacentes
Gánglios linfáticos (N)	
Nx	No puede determinarse
N0	Sin metástasis ganglionares
N1	Metástasis en 1-6 gánglios perigástricos.
N2	Metástasis en 7-15 gánglios perigástricos.
N3	Metástasis en más de 15 gánglios perigástricos.
Metástasis a distancia (M)	
Mx	No puede determinarse
M0	Sin metástasis a distancia
M1	Con metástasis a distancia.
Estadio:	
0	TisN0M0
IA	T1,N0,M0
IB	T1,N1,M0 ; T2,N0,M0
II	T1,N2,M0 ; T2,N1,M0 ; T3,N0,M0
IIIA	T2,N2,M0 ; T3,N1,M0 ; T4,N0,M0
IIIB	T3,N2,M0
IV	T4,N1,M0 ; T4,N2,M0 ; T1,N3,M0 ; T2,N3,M0 ; T3,N3,M0 ; T...,N...,M1

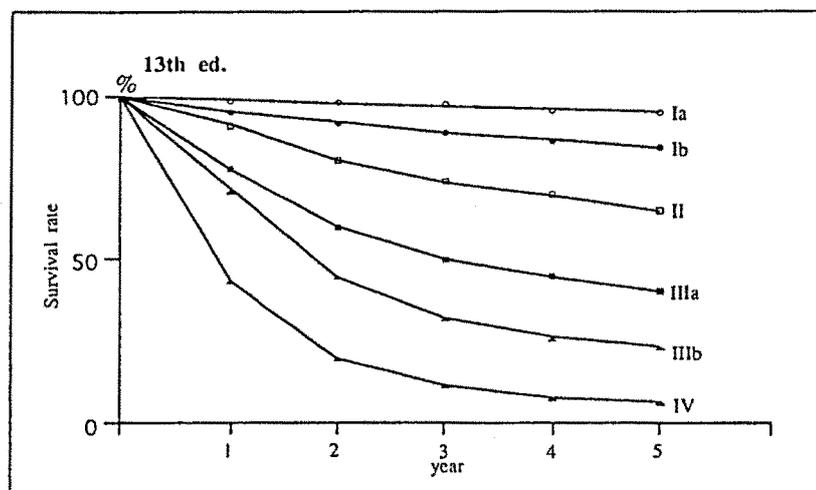
Tabla 3. Supervivencia acumulada de pacientes con cáncer gástrico tratados mediante gastrectomía, diagnosticados entre 1985-1996 en Estados Unidos.

	Años después del diagnóstico						
	Nº pacientes	1	2	3	4	5	10
Total	49756*	63 %	43 %	34 %	30 %	28 %	20 %
Estadio							
IA	2905	93 %	88 %	84 %	81 %	78 %	65 %
IB	4658	86 %	75 %	68 %	62 %	58 %	42 %
II	6541	76 %	55 %	44 %	38 %	34 %	26 %
IIIA	7481	65 %	39 %	27 %	22 %	20 %	14 %
IIIB	2330	55 %	24 %	14 %	10 %	8 %	3 %
IV	8617	40 %	17 %	10 %	8 %	7 %	5 %

\*16902 pacientes con estadio no determinado.

Comunicación de "The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society", 5ª edición de AJCC Staging, febrero 2000.

Figura 2. Supervivencia acumulada por estadios (UICC) en Japón (8338 pacientes, Cancer Institute Hospital, Tokyo, entre 1946 y 1997).



La supervivencia global en Japón de los pacientes intervenidos por cáncer gástrico se sitúa en el 68% a los cinco años <sup>100</sup>. Dicha tasa de supervivencia contrasta fuertemente con las tasas de series europeas y de Estados Unidos (Tabla I136). Estos excelentes resultados de las series japonesas pueden ser explicados por el hecho de que en ese país el diagnóstico de cáncer gástrico precoz se realiza hasta en el 50% de los pacientes, frente al 10-15% en el mundo occidental <sup>75 100</sup>.

### 1.3.6.1. Estadio T.

Viene determinado por la profundidad de la invasión tumoral. Existen diferencias en la supervivencia en función del estadio T en series de todo el mundo, japonesas y occidentales <sup>101 102 103 104 105</sup>. En una serie occidental publicada recientemente en la que se evaluaban más de 1000 pacientes intervenidos por cáncer gástrico, la supervivencia a cinco años para los pacientes T1, T2 y T3 fue respectivamente de 91, 56 y 26 % <sup>106</sup>.

El estadio T también es el factor pronóstico de supervivencia más importante en el subgrupo de pacientes que presentan metástasis ganglionares y son tratados con linfadenectomías ampliadas <sup>107</sup>.

#### **1.3.6.2. Estadio N.**

El principal problema de la clasificación TNM han sido las discrepancias en la definición del estadio N entre autores japoneses y occidentales. Los autores japoneses se basaban en la localización de los ganglios afectados definiendo las estaciones ganglionares mediante un sistema de numeración (Figura 3), difícil de evaluar en los países occidentales <sup>108</sup>, que reclasificaban en cuatro categorías N:

- N1: ganglios linfáticos perigástricos.
- N2: ganglios linfáticos de art. gástrica izquierda, art. hepática común, art. esplénica y tronco celíaco.
- N3: ganglios linfáticos de ligamento hepatoduodenal, cara posterior páncreas y raíz del mesentario.
- N4: ganglios linfáticos paraaórticos y de art. cólica media.

Esta clasificación del estadio N muestra gran capacidad para determinar diferencias en la supervivencia a largo plazo. La afectación de las estaciones ganglionares N3 o N4 determinan un impacto en la supervivencia similar a la presencia de metástasis a distancia <sup>101 109</sup>.



Hasta 1992, la clasificación TNM se basaba en la localización de las estaciones ganglionares en función de la distancia de los ganglios afectados al tumor (N1 / N2: ganglios afectados situados a menos o más de 3 cm del tumor). Sin embargo, la localización de los ganglios positivos es menos importante que el número de ganglios afectados, que tiene un profundo impacto en la supervivencia, como se ha evidenciado en un estudio retrospectivo de 1038 pacientes en Norteamérica <sup>106</sup>.

Las nuevas categorías N de la clasificación TNM de 1997 se basan en el número de ganglios metastásicos y definen tres subgrupos homogéneos con gran valor pronóstico, identificados en estudios multicéntricos <sup>110</sup> (N1: 1 a 6 ganglios positivos, N2: 7 a 15 ganglios positivos, N3: más de 15 ganglios positivos). Esta nueva clasificación de la afectación ganglionar es más homogénea a la hora de evaluar la supervivencia de los distintos grupos de pacientes y ha mostrado su utilidad al reclasificar pacientes de series occidentales y japonesas con el nuevo sistema <sup>111</sup>. La supervivencia para estadios II, IIIA y IIIB se modifica claramente en función del nuevo estadio N, pero para que los resultados sean reproducibles se precisa que se extirpen más de quince ganglios linfáticos <sup>106</sup>.

### **1.3.6.3. Estudio citológico del líquido peritoneal.**

Actualmente se considera necesario realizar un estudio citológico del líquido de la cavidad peritoneal <sup>112</sup>, que puede evidenciar la existencia de células tumorales libres en algunos pacientes (hasta un 33% de pacientes con estadios T3 y T4) <sup>113</sup>, en cuyo caso el pronóstico es malo <sup>114</sup>.

La supervivencia de los pacientes con tumores en estadio III y estudio citológico del líquido peritoneal positivo no supera los 18 meses en algunas series

<sup>115</sup> y otros autores han señalado recidivas tumorales a nivel peritoneal hasta en el 90 % de estos pacientes <sup>113</sup> . Por estos motivos, en la actualidad se considera a estos pacientes pertenecientes a un estadio IV o con enfermedad residual microscópica tras la cirugía.

#### **1.3.6.4. Micrometástasis en médula ósea.**

La utilización de anticuerpos monoclonales frente a determinadas citoqueratinas permite la detección de células tumorales en muestras provenientes de aspirados de médula ósea en pacientes con tumores. Ello ha provocado la aparición del concepto de enfermedad residual mínima o micrometástasis. En una serie de 180 pacientes con cáncer gástrico, se detectaron células tumorales en la médula ósea del 53 % de los pacientes y este hallazgo no estaba relacionado con el estadio tumoral puesto que el 35% de los pacientes con cáncer gástrico precoz las presentaban <sup>116</sup>. Este fenómeno parece indicar que puede existir una diseminación hematógica temprana de células tumorales. La detección de dichas micrometástasis en médula ósea se correlaciona con un peor pronóstico en pacientes intervenidos con intención curativa <sup>117</sup> , sobre todo en pacientes sin metástasis ganglionares y estadios T1-2 <sup>118</sup> .

### **1.3.7. Patrones de diseminación y recidiva.**

#### **1.3.7.1. Recidiva local.**

Las dos formas de extensión local del cáncer gástrico que tienen más importancia en el pronóstico de la enfermedad son: la afectación de la capa serosa gástrica, que aumenta considerablemente el riesgo de invasión de estructuras vecinas o la diseminación peritoneal, y la afectación linfática.

En una serie de 1577 pacientes con cáncer gástrico diagnosticados en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center entre 1995 y 1998, el 60 % de los 1221 pacientes a los que se practicó una resección gástrica, presentaban tumores que penetraban la capa serosa y el 68 % tenían afectación ganglionar. Estas metástasis ganglionares existían en el 18 % de los tumores con lesiones pT1 (el tumor invade la lámina propia o submucosa) y 60 % con lesiones pT2 (el tumor invade la muscular propia o subserosa), lo que demuestra la importancia de la profundidad de invasión de la pared gástrica para la extensión local del tumor. También se ha demostrado que los pacientes con invasión de la capa serosa (T3) presentan el mayor riesgo de diseminación a cavidad peritoneal <sup>104 119</sup>.

Aparte de la extensión local dependiente de la penetración en la pared gástrica, existe una diseminación radial intramural al esófago, que se produce a partir de linfáticos de la submucosa y al duodeno, a partir de una infiltración directa de la capa muscular o por infiltración de los linfáticos de la subserosa.

La alta incidencia de afectación ganglionar es independiente de la localización tumoral, aunque se han observado diferencias en el patrón de afectación ganglionar dependiendo de la misma <sup>101</sup> (Tabla 4).

La recidiva locoregional constituye el tipo de recidiva más frecuente en pacientes intervenidos por cáncer gástrico con finalidad curativa llegando a constituir el 70 % del total de las recidivas en muchas series <sup>120</sup>, alguna de las cuales se basaba en los resultados de las laparotomías exploradoras realizadas tras la resección del tumor primario <sup>121</sup>. Esta recidiva locoregional también se relaciona con la penetración del tumor en la pared gástrica y con el número de ganglios afectados en la cirugía inicial.

Tabla 4. Localización de las metástasis ganglionares de cáncer gástrico en función de la localización tumoral:

	1/3 superior (%)	1/3 medio (%)	1/3 inferior (%)
Paracardiales	22	9	4
Curvaturas mayor o menor	25	36	37
Art. Gástrica derecha o suprapilóricos	2	3	12
Infrapilóricos	3	15	49
Art. Gástrica izquierda	19	22	23
Art. Hepática común	7	11	25
Tronco celíaco	13	8	13
Art. Esplénica / hilio espl.	11	3	2
Ligam. Hepatoduodenal	1	2	8
Otros	0-5	0-5	0-5

Modificado de Maruyama, World J Surg 1987

### 1.3.7.2. Recidiva a distancia.

Además de la recidiva locoregional, el cáncer gástrico tiende a recidivar a distancia, bien sea como carcinomatosis peritoneal o metástasis, fundamentalmente en el hígado. Los patrones de recidiva difieren en algunas series debido a las diferencias en los tiempos de evaluación de las recidivas y los métodos empleados para el diagnóstico. La importancia de la recidiva a distancia en la historia natural de la enfermedad queda patente al ver los resultados de las autopsias de tres series históricas de pacientes con cáncer gástrico<sup>122 123 124</sup> (Tabla 5).

El hígado es el órgano en el que el cáncer gástrico tiende a metastatizar con mayor frecuencia, seguido del pulmón. La recurrencia a nivel peritoneal presenta una elevada incidencia en muchas series recientes, lo que en ocasiones representa casi el 50 % de las formas de recidiva<sup>125 126</sup>. Hay datos que sugieren

que el patrón de recidiva podría modificarse por el empleo de agentes quimioterápicos tras la intervención quirúrgica <sup>127</sup>.

Tabla 5. Localización de las metástasis a distancia de cáncer gástrico.

	Metástasis a distancia (autopsias)		
	Peritoneales	Hígado	Pulmón
Warwick (n= 176)	20 %	38 %	12 %
Clarke y cols. (n= 250)	17 %	40 %	19 %
Dupont y cols. (n= 348)	24 %	54%	22%

## 1.4. TRATAMIENTO DEL CÁNCER GÁSTRICO.

### 1.4.1. Resección endoscópica.

La resección endoscópica debe reservarse a los pacientes con tumores gástricos precoces intramucosos que reúnen las siguientes características: grado bien diferenciado, menores de 1 cm de diámetro, no ulcerados y localizados en un área fácilmente accesible <sup>128 129</sup>. En centros con elevada experiencia, esta técnica puede ser una alternativa a la gastrectomía <sup>130 131</sup>.

Los tumores que invaden la submucosa tienen mucho mayor riesgo de metastatizar a ganglios linfáticos y no estaría indicado realizar la resección endoscópica por la alta probabilidad de dejar enfermedad residual <sup>132</sup>.

### 1.4.2. Cirugía.

La resección quirúrgica completa representa el único tratamiento potencialmente curativo para el cáncer gástrico localizado. El pronóstico de los pacientes a los que se realiza la exéresis completa del tumor, depende fundamentalmente del estadio tumoral determinado por el sistema TNM.

En EEUU y Europa la tasa de reseccabilidad media es cercana al 49 % y sólo en la mitad de estos casos se puede realizar una gastrectomía con pretensión curativa. Hay que señalar que incluso en aquellos casos en los que la intervención quirúrgica es potencialmente curativa, el 35-40 % de los pacientes presentarán recidivas locoregionales y en otros casos desarrollarán metástasis hepáticas y diseminación peritoneal <sup>133</sup>.

#### **1.4.2.1. Tipo de gastrectomía.**

El tipo de gastrectomía depende de la localización tumoral y del tipo de tumor.

1. Gastrectomía subtotal distal si la lesión no se encuentra ni en el fundus ni en la unión cardioesofágica (Figura 4). Sin embargo, en ocasiones debe practicarse una gastrectomía total debido al hecho de que a veces existe, incluso en tumores precoces, una extensión intramural extensa o focos múltiples de tumor <sup>134</sup>.

Existen tres estudios prospectivos randomizados que analizan los resultados de la gastrectomía total o subtotal en el tratamiento de los tumores gástricos distales <sup>135-137</sup>, y no hallaron diferencias en cuanto a morbilidad ni mortalidad postoperatoria, pero tampoco en la supervivencia a largo plazo.

2. Gastrectomía subtotal proximal o gastrectomía total (Figura 5) si la lesión se encuentra en el cardias. La gastrectomía total es también el procedimiento de elección en muchos centros en casos de tumores proximales. En un estudio comparativo publicado recientemente sobre resultados del tratamiento de adenocarcinomas proximales y distales, se cuestiona la utilización de la hemigastrectomía proximal <sup>14</sup>. El desarrollo de una esofagitis por reflujo biliar en estos pacientes es común y la superioridad de la gastrectomía proximal con

esofagogastrostomía sobre la gastrectomía total con esofagoyeyunostomía en Y de Roux no ha podido ser establecida desde el punto de vista nutricional ni oncológico. Los mismos autores comparan de forma retrospectiva en otro trabajo los resultados de la gastrectomía total o proximal en 98 pacientes con tumores gástricos proximales, sin evidenciar un aumento en las complicaciones ni mortalidad postoperatoria pero tampoco en la supervivencia libre de enfermedad o en la supervivencia a largo plazo <sup>138</sup>.

3. Gastrectomía total si el tumor afecta al estómago difusamente o si se origina en el cuerpo gástrico y se extiende hasta menos de 6 cm del cardias (Figura 6).

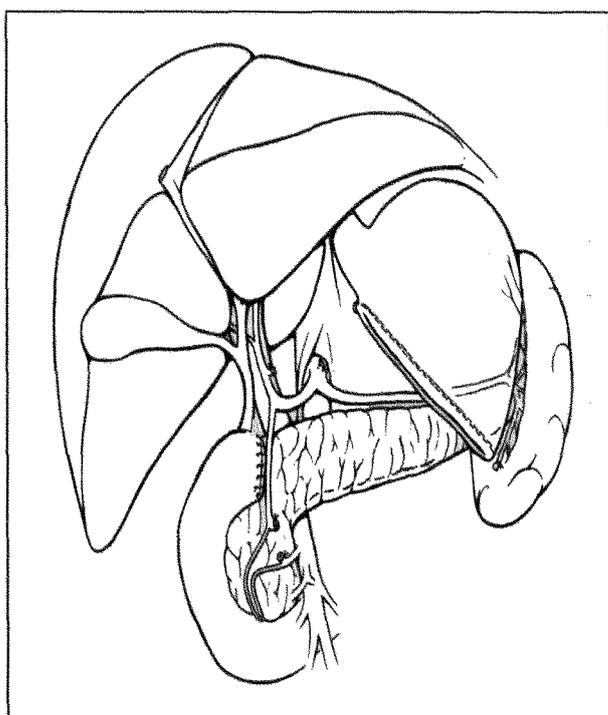


Figura 4. Extensión de la resección en una gastrectomía subtotal distal.

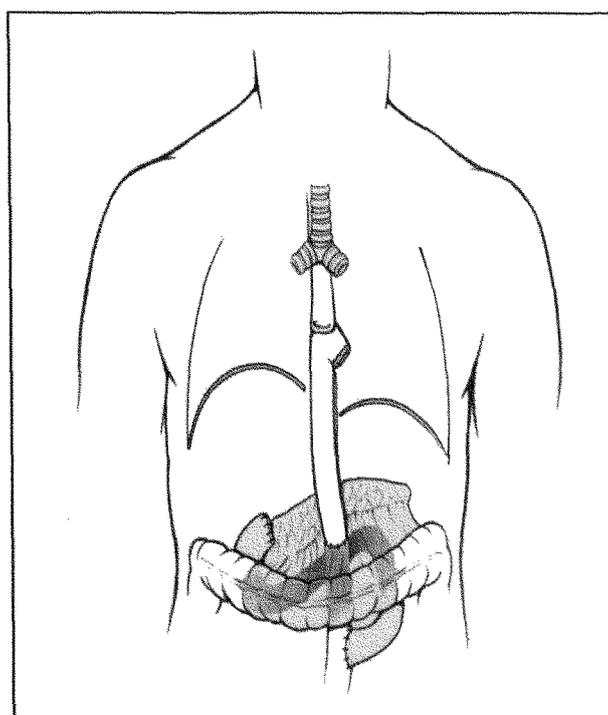


Figura 5. Gastrectomía total extendida oralmente y reconstrucción mediante esofagoyeyunostomía en Y de Roux.

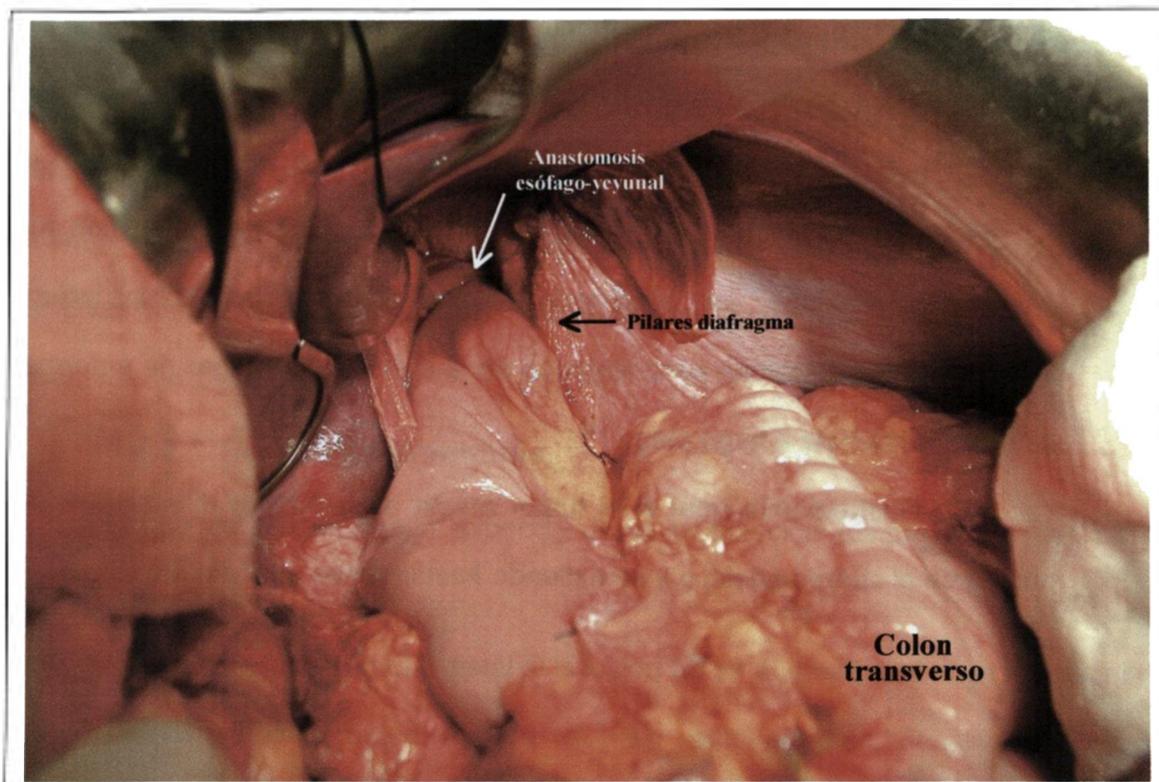


Figura 6. Gastrectomía total. Ascensión de asa yeyunal transmesocólica y anastomosis esofago-yeyunal por encima de los pilares diafrámaticos.

La mortalidad postoperatoria tras gastrectomía total en series publicadas se sitúa entre un 4 - 18%, siendo las fístulas anastomóticas responsables de hasta el 50% de la mortalidad <sup>139</sup>.

En los pacientes con estadios tumorales T4 en los que existe una invasión de estructuras adyacentes, puede practicarse una cirugía agresiva con exéresis de los órganos adyacentes afectados y linfadenectomías ampliadas para prolongar la supervivencia de los pacientes. Con este planteamiento, Isozaki y cols. han conseguido supervivencias a 5 años del 35% en este subgrupo de pacientes <sup>140</sup>.

En los últimos años, debido al desarrollo de la cirugía laparoscópica, este abordaje quirúrgico se comienza a utilizar en el cáncer gástrico en centros con experiencia. Inicialmente su uso se reserva a pacientes con cáncer gástrico

precoz<sup>141</sup>, pero hay autores que practican gastrectomías y linfadenectomías D2 por laparoscopia en tumores más avanzados<sup>142</sup>. Es necesario llevar a cabo estudios randomizados comparando este abordaje con la cirugía abierta para evaluar su eficacia<sup>143</sup>.

#### 1.4.2.2. Tipo de linfadenectomía.

La linfadenectomía D1 consiste en la extirpación en bloque, junto a la pieza operatoria, de los ganglios situados en ambas zonas paracardiales, ambas curvaturas y los ganglios supra e infrapilóricos.

La linfadenectomía D2 consiste en la extirpación en bloque, junto a la pieza operatoria, de las cadenas ganglionares del primer nivel (paracardiales derechas e izquierdas, curvaturas mayor y menor, suprapilóricas e infrapilóricas) y segundo nivel (cadenas de la arteria gástrica izquierda, hepática común, tronco celíaco, hilio esplénico y arteria esplénica).

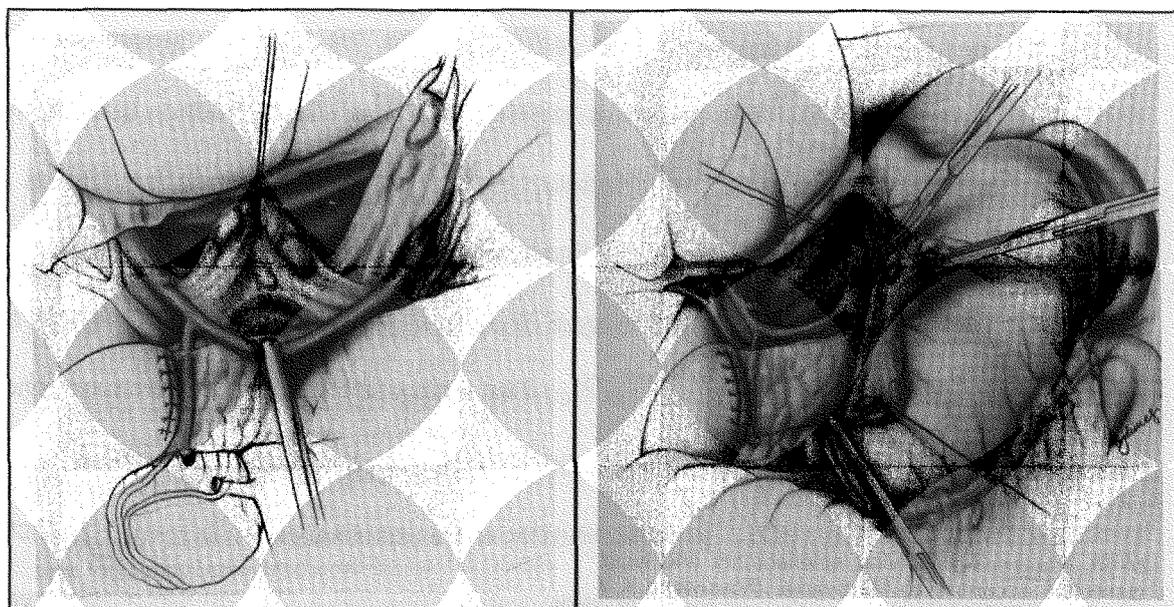


Figura 7. Inicio de la disección ganglionar a lo largo de la arteria hepática.

Figura 8. Disección ganglionar a lo largo de la curvatura menor gástrica.

En Japón, la linfadenectomía D2 ha sido aceptada como la técnica de elección si se realiza una resección con intención curativa debido al aumento en la supervivencia de los pacientes a los que se practicaba la linfadenectomía D2 con respecto a la D1. En una serie japonesa con largos periodos de seguimiento, se evidenció una mejoría en la supervivencia a cinco años del 46% frente al 21% en tumores con afectación de la capa serosa gástrica al practicar linfadenectomías D2<sup>144</sup>. Sin embargo, en otros tumores menos avanzados (T1, T2), se ha demostrado que existe una afectación de ganglios linfáticos regionales hasta en un 15 – 40 % de los casos, por lo que también será preciso realizar una linfadenectomía D2 para garantizar una exéresis completa de los ganglios afectados<sup>145 146 147 148</sup>. Estudios japoneses con series muy amplias de pacientes también revelan que la linfadenectomía D2 no aporta mejorías en la supervivencia cuando existe enfermedad a distancia como metástasis peritoneales o metástasis ganglionares en las estaciones N3 y N4<sup>149 101</sup>.

En Europa y Estados Unidos, varios autores han presentado series en las que se intentan reproducir los resultados de los autores japoneses con la linfadenectomía D2 con buenos resultados<sup>150</sup>. Otro hecho que apoya la recomendación de practicar linfadenectomías D2 en el mundo occidental es el hecho de que en el estudio patológico de la pieza operatoria se identifican el doble o el triple de ganglios afectados que al realizar una exéresis D1 (exéresis de los ganglios linfáticos perigástricos)<sup>151</sup>. Sin embargo, debido a la mayor dificultad técnica de la linfadenectomía D2, el hecho de que pueda asociarse a mayor morbilidad y que pueda ser innecesaria en pacientes que no presentan afectación ganglionar ha hecho que su utilización sistemática haya sido un tema controvertido.

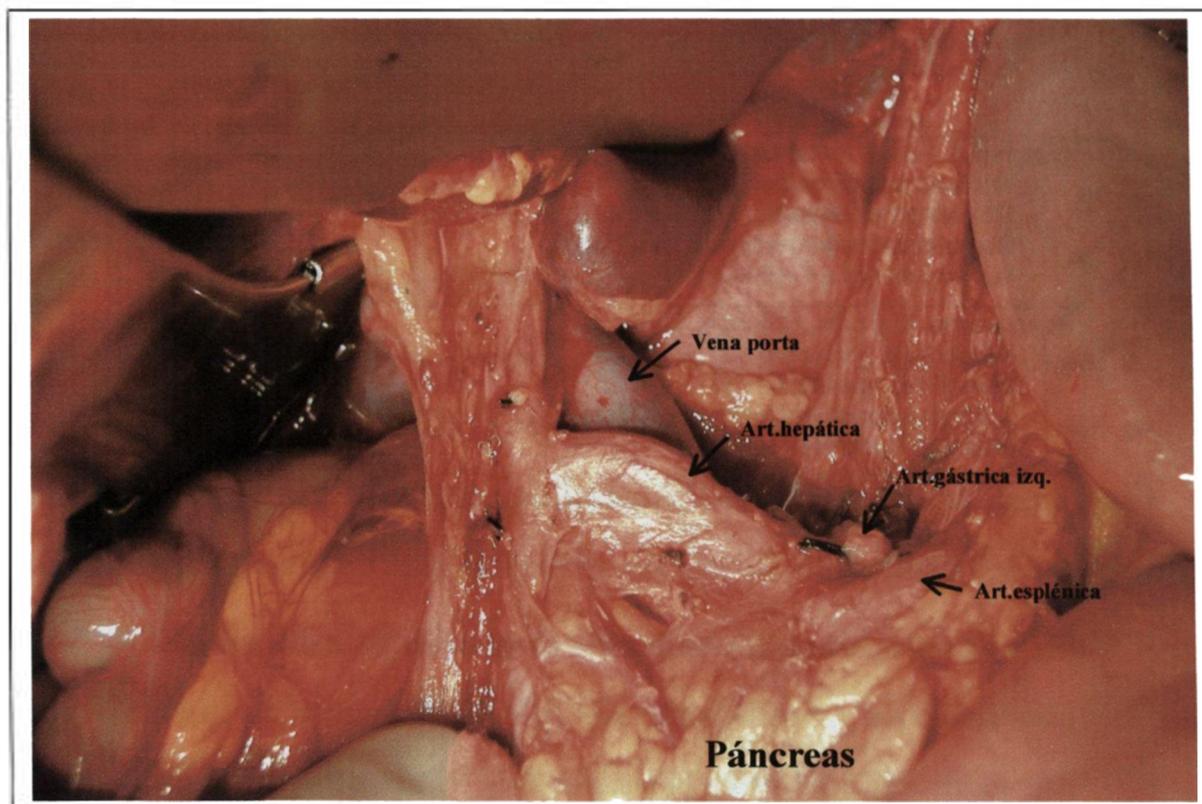


Figura 9. Linfadenectomía D2. Se aprecian las estructuras del ligamento hepatoduodenal, la art. gástrica izquierda ligada en su raíz, a la salida del tronco celíaco, y la parte proximal de la arteria esplénica, sobre el cuerpo pancreático.

Existen cuatro estudios prospectivos randomizados en la literatura que han comparado ambos tipos de linfadenectomía. Los dos primeros proceden de centros de Sudáfrica <sup>152</sup> y Hong Kong <sup>135</sup>, en los que se incluyeron un número escaso de pacientes (43 y 55, respectivamente). En ambos estudios no aparecen diferencias en la supervivencia a largo plazo, pero sin embargo la linfadenectomía D2 conlleva un mayor tiempo operatorio, mayores pérdidas hemáticas y requerimientos transfusionales, mayor número de complicaciones y una estancia hospitalaria más prolongada. Los dos últimos son estudios multicéntricos europeos iniciados en 1989 <sup>153 154</sup> (Tabla 6).

Tabla 6. Estudios prospectivos randomizados multicéntricos que comparan la linfadenectomía D1 frente a la D2 en carcinoma gástrico intervenido con intención curativa.

	Linfadenectomía		p
	D1	D2	
Cushieri A y cols. Reino Unido, 1999			
Número de pacientes	200	200	
Mortalidad operatoria (%)	6.5	13	<0.04
Complicaciones postoperatorias (%)	28	46	<0.001
Supervivencia a 5 años (%)	35	33	NS
Bonenkamp JJ y cols. Holanda, 1995			
Número de pacientes	380	331	
Mortalidad operatoria (%)	4	10	0.004
Complicaciones postoperatorias (%)	25	43	0.001
Estancia hospitalaria (días)	18	24	0.001
Supervivencia a 5 años (%)	42	47	NS

En ambos estudios se aprecia un aumento en el número de complicaciones postoperatorias y mortalidad lo que puede ser la causa de que no se aprecien diferencias significativas en la supervivencia entre uno y otro grupo de pacientes. Una de las causas que pueden haber determinado el aumento en la morbimortalidad en el grupo de pacientes con linfadenectomía D2 es debido al hecho de que a estos pacientes se les practicaba una pancreatectomía distal y esplenectomía. En la actualidad no se considera necesario plantear este tipo de resecciones para llevar a cabo una adecuada exéresis ganglionar y existe un amplio consenso que señala que la esplenectomía produce un aumento en la morbimortalidad sin provocar ningún beneficio en la supervivencia <sup>155-157 158</sup>.

En resumen, hoy se considera necesario llevar a cabo una linfadenectomía D2 al realizar una gastrectomía con pretensión de radicalidad, si bien se puede evitar la realización de una pancreático-esplenectomía con el fin de no aumentar la morbimortalidad postoperatoria. En centros con amplia experiencia en esta patología este procedimiento quirúrgico es seguro, ya que no conlleva un aumento

del número de complicaciones postoperatorias. El mayor beneficio en la supervivencia se producirá en aquellos pacientes que presenten ganglios regionales afectados y estadios tumorales intermedios (II y IIIA) <sup>159</sup>.

### **1.4.3. Quimioterapia adyuvante.**

La utilización de quimioterapia postoperatoria en el cáncer gástrico es todavía un tema controvertido, y ha sido motivo de varios metaanálisis en los últimos años <sup>160,161</sup>. En uno de ellos se llega a la conclusión de que la quimioterapia postoperatoria no mejora la supervivencia conseguida con la cirugía realizada con finalidad curativa y que, por tanto, no debe ser considerada como un tratamiento sistemático <sup>160</sup>. Sin embargo, en otro metaanálisis más reciente, la conclusión es que la quimioterapia adyuvante produce un beneficio en la supervivencia que está en el límite de la significación estadística en pacientes con cáncer gástrico intervenidos con finalidad curativa <sup>161</sup>. Por lo tanto, los esfuerzos por encontrar tratamientos adyuvantes efectivos no deben ser abandonados. Además, la quimioterapia parece ser más útil en aquellos estudios donde se han incluido un mayor número de pacientes con ganglios afectados, lo que sugiere que su beneficio podría ser mayor en este subgrupo con riesgo elevado de presentar recidivas. La diferencia entre ambos metaanálisis radica en que, en este último, se han introducido estudios más recientes y con criterios de selección más estrictos. Todo ello hace que posea un mayor poder estadístico, al eliminar posibles sesgos como la inclusión de estudios con pacientes operados con enfermedad residual, estudios en los que se asociaban otros tratamientos distintos a la quimioterapia y aquellos procedentes de países asiáticos.

Los fármacos utilizados habitualmente como tratamiento adyuvante son: derivados de nitrosoureas como el 5-Fluorouracilo, la mitomicina, antraciclinas como adriamicina y el cisplatino.

La experiencia del Hospital Clínic demuestra que el empleo de mitomicina C de forma adyuvante en pacientes con cáncer gástrico extirpado quirúrgicamente, produce un aumento en la supervivencia con disminución del índice de recidivas en seguimientos a largo plazo frente a un grupo control quirúrgico<sup>162 126 163</sup> y que el beneficio del tratamiento es mayor si se administra fluorouracilo, un derivado del 5-fluorouracilo, conjuntamente con mitomicina C<sup>127</sup>. Esta pauta de tratamiento adyuvante es comúnmente utilizada en Japón, con o sin asociar inmunoterapia<sup>164</sup><sup>165</sup> y ha mostrado su utilidad en otro reciente estudio multicéntrico randomizado fase III realizado en España en el que se incluían pacientes con tumores resecados en estadio III<sup>166</sup>.

El papel de otros fármacos quimioterápicos administrados de forma adyuvante, como el cisplatino, taxanos o irinotecán, en pacientes con cáncer gástrico resecable, está en fase de evaluación en distintos protocolos.

#### **1.4.4. Quimioterapia neoadyuvante.**

En un intento de mejorar el pronóstico de los tumores gástricos que se diagnostican en estadios avanzados, se están investigando nuevas estrategias terapéuticas como la quimioterapia neoadyuvante o preoperatoria. Su utilización pretende aumentar los índices de resecabilidad y así aumentar las posibilidades de curación. Otro de los objetivos de la quimioterapia neoadyuvante sería actuar frente a las micrometástasis existentes en el momento del diagnóstico no detectadas clínicamente<sup>167</sup>.

El riesgo de su aplicación estriba en la posibilidad de que por su toxicidad se deteriore el estado general de los pacientes y que el tumor progrese en caso de que no sea efectiva. Sin embargo varios estudios clínicos fase II han demostrado que puede administrarse de forma segura y sin que exista un aumento de la morbimortalidad postoperatoria <sup>168 169 170</sup>.

El índice de reseccabilidad en los pacientes incluidos en estos estudios es del 85-100%, con un índice de resecciones curativas del 60-80%. La respuesta clínica a la quimioterapia o disminución del estadio tumoral evaluado mediante pruebas de imagen tras la misma, varía entre un 25-50% y parece ser un factor pronóstico independiente que determina la supervivencia en estos pacientes <sup>171</sup>.

Se han realizado tres estudios clínicos fase III evaluando la utilidad de la quimioterapia neoadyuvante frente a un grupo control quirúrgico <sup>172 173 174</sup>. En dos de ellos, la utilización de la quimioterapia determina un aumento del índice de resecciones curativas (15% frente a 38% y 61% frente a 70%) y en uno de ellos, la supervivencia media mejora de forma significativa en el grupo de los pacientes reseccados que habían sido tratados con quimioterapia.

En la actualidad, se están llevando a cabo nuevos estudios en Europa y Estados Unidos que confirmen la eficacia de este abordaje terapéutico <sup>175</sup>.

#### **1.4.5. Quimioterapia intraperitoneal.**

Otra de las posibilidades terapéuticas es la utilización de quimioterapia intraperitoneal, cuya finalidad es la de evitar la recidiva tumoral a nivel del peritoneo, frecuente en aquellos pacientes con tumores avanzados y con afectación de la serosa gástrica. Hasta el momento hay cinco estudios fase III que evalúan el

empleo de quimioterapia intraperitoneal <sup>176-180</sup>. Los quimioterápicos más utilizados han sido la mitomicina C, el cisplatino, el 5-fluorouracilo y el etopósido.

Uno de estos estudios randomizados fase III, realizado en Japón, utiliza mitomicina intraperitoneal, obteniéndose mejoras en la supervivencia en pacientes con tumores avanzados resecados completamente <sup>176</sup>, pero estos resultados no han sido reproducidos en otro estudio de similares características en Europa, en el que sin embargo aumentaban las complicaciones postoperatorias (25% frente a 16%) y la mortalidad postoperatoria (11% frente a 2 %) <sup>177</sup>.

En otro estudio prospectivo randomizado, el empleo de mitomicina C y 5-fluorouracilo intraperitoneal, mostró un beneficio en la supervivencia únicamente en el subgrupo de pacientes que presentaban un estadio III, en los que la supervivencia a cinco años pasó a ser del 18,4 % al 49,1 % <sup>180</sup>. Otros autores japoneses han demostrado una disminución significativa de la diseminación peritoneal a los tres años del tratamiento con el empleo de quimioterapia intraperitoneal (9% frente a 22%) <sup>181</sup>.

En definitiva, parece que la quimioterapia intraperitoneal administrada con intención curativa es una estrategia que debe continuar evaluándose hasta que se desarrollen agentes sistémicos más efectivos pero son necesarios nuevos estudios clínicos, probablemente multicéntricos, que permitan incluir un adecuado número de pacientes.

#### **1.4.6. Inmunoquimioterapia.**

La utilización de la inmunoterapia en el tratamiento del cáncer se fundamenta en el hecho de que si se mejora el estado inmunitario del paciente, éste responderá mejor contra las células cancerosas. Distintos estudios han

demostrado que en pacientes con cáncer, incluido el cáncer gástrico <sup>182</sup>, existe una disminución de la inmunidad celular, de los linfocitos T y una menor respuesta en las pruebas de sensibilidad retardada. El tratamiento con inmunoterapia intenta restaurar la inmunidad deteriorada por acción de la cirugía y la quimioterapia utilizando sustancias que estimulan la respuesta citotóxica antitumoral o que ejercen un efecto inhibitorio directo en las células neoplásicas <sup>183</sup>.

En un estudio randomizado fase III en el que se incluyeron 99 pacientes intervenidos a los que se administraba quimioterapia (5-fluorouracilo, adriamicina y mitomicina C) con o sin inmunoterapia, se observaron diferencias significativas en la supervivencia a 5 años (62% frente a 52%,  $p=0.04$ ) <sup>184</sup>. Estos datos sugieren que la inmunoterapia puede mejorar la supervivencia de los pacientes intervenidos con intención curativa, pero estos resultados deberían confirmarse en estudios multicéntricos con un mayor número de pacientes.

#### **1.4.7. Radioterapia.**

La radioterapia ha sido utilizada como tratamiento complementario de diversos cánceres para mejorar el control local de la enfermedad tras la resección quirúrgica <sup>185</sup>.

En un estudio prospectivo y randomizado <sup>186</sup>, la radioterapia administrada tras la cirugía, no demostró beneficios en la supervivencia a los 5 años, aunque las tasas de recidiva locoregional disminuyeron de un 54% a un 32%. Otro estudio no randomizado español ha corroborado la eficacia de la radioterapia postoperatoria en el control de la recidiva tumoral locoregional <sup>187</sup>.

La radioterapia sin embargo, suele asociarse al tratamiento con quimioterapia, fundamentalmente a 5-fluorouracilo, debido a que puede actuar

como radiosensibilizador cuando se administra de forma concomitante a la irradiación <sup>188</sup> . La quimio-radioterapia postoperatoria en cáncer gástrico se ha evaluado en un estudio multicéntrico fase III en Estados Unidos cuyos resultados han sido publicados recientemente <sup>189</sup> . En este estudio, se pone de manifiesto cómo la quimioradioterapia postoperatoria (fluorouracilo, leucovorín e irradiación) consigue disminuir de forma significativa el índice de recidivas a nivel locoregional y prolongar la supervivencia, con una media de 36 meses frente a 27 en el grupo en el que la cirugía era el único tratamiento.

En el cáncer gástrico, la presencia de tejidos sanos en las proximidades del lecho tumoral (médula espinal, páncreas, riñones, intestino delgado, hígado) limita la dosis de irradiación que se pueda administrar de forma segura <sup>190</sup> . La **radioterapia intraoperatoria** intenta evitar la lesión de las estructuras adyacentes al lecho tumoral y permite administrar de forma selectiva altas dosis de irradiación. Se comenzó a utilizar en Japón y los resultados más recientes publicados por autores japoneses demuestran, en un estudio no randomizado, que produce una mejoría en la supervivencia a 5 años en pacientes con tumores localmente avanzados <sup>191</sup> . Esta mejoría en la supervivencia no ha sido demostrada en un estudio occidental randomizado con 41 pacientes, aunque sí que se producía un mejor control local de la enfermedad, con una disminución significativa de las recidivas locoregionales <sup>190</sup> . Otros estudios fase II demuestran la posibilidad de realizar esta terapéutica de forma segura en centros con experiencia, consiguiéndose en ocasiones largas supervivencias en pacientes con estadios avanzados<sup>192</sup> , pero deben realizarse más estudios que aporten conclusiones definitivas sobre la eficacia de la técnica.

## **1.4.8. Tratamiento paliativo.**

### **1.4.8.1. Cirugía paliativa.**

Dentro del tratamiento paliativo del cáncer gástrico, debe considerarse, en primer lugar, el tratamiento endoscópico, por ejemplo en aquellos casos en los que exista una obstrucción a la entrada del estómago por tumores localizados en el cardias.

En pacientes con cáncer gástrico avanzado que presenten sintomatología, como hemorragia persistente o clínica obstructiva, la resección del tumor primario puede aliviar dichos síntomas con aceptable morbilidad, aunque exista enfermedad residual macroscópica. Los criterios para decidir qué pacientes pueden beneficiarse de una cirugía paliativa no están establecidos<sup>193 194</sup>. Hay pocos estudios que hayan comparado la efectividad de la gastrectomía frente a la realización de un bypass sin reseccionar el tumor primario. En todos ellos la resección parece la mejor opción porque ofrece mejores resultados en cuanto a mejora de la sintomatología y de la supervivencia. Sin embargo, son estudios sin criterios de selección controlados para cada opción terapéutica<sup>193 195</sup>.

### **1.4.8.2. Quimioterapia paliativa.**

Hay publicados varios estudios que han intentado desarrollar combinaciones de fármacos que sean efectivas frente al cáncer gástrico avanzado, aunque en general los estudios randomizados fase III presentan tasas de respuesta tumoral menores que los estudios fase II de instituciones aisladas. Entre las posibles opciones que se han desarrollado están:

- 5 – Fluorouracilo<sup>196</sup>

- FAM: fluorouracilo + adriamicina + mitomicina C.
- FAMTX: fluorouracilo + adriamicina + metotrexate. <sup>197</sup>
- FUP: fluorouracilo + cisplatino. <sup>198</sup>
- FAP: fluorouracilo + adriamicina + cisplatino.
- EAP: etoposido + adriamicina + cisplatino.
- ELF: etoposido + leucovorin + fluorouracilo.
- ECF: epirubicina + cisplatino + fluorouracilo. <sup>197</sup>
- PELF: cisplatino + epidoxorubicina + leucovorin + fluorouracilo con glutation y filgrastim <sup>199</sup>.

De todos los estudios randomizados que se han realizado comparando los distintos tipos de tratamientos quimioterápicos en el cáncer gástrico avanzado, únicamente hay dos que han mostrado beneficios de una pauta de quimioterapia frente a otra (Tabla 7).

Tabla 7. Estudios randomizados del tratamiento quimioterápico en cáncer gástrico avanzado.

	Pacientes	Respuestas (%)	Supervivencia (meses)
FAMTX vs FAM <sup>200</sup>	213	41 vs 9 *	10,5 vs 7,2 *
FAMTX vs EAP <sup>201</sup>	60	33 vs 20	7,3 vs 6,1
ECF vs FAMTX <sup>202</sup>	274	45 vs 21 *	8,9 vs 5,7 *
ELF vs FUP vs FAMTX <sup>198</sup>	399	9 vs 20 vs 12	7,2 vs 7,2 vs 6,7

\* Diferencias estadísticamente significativas.

El primero es un estudio prospectivo multicéntrico europeo publicado en 1991, donde se comparaba la eficacia del tratamiento con FAM frente al de FAMTX, siendo éste último superior en términos de mayor respuesta tumoral así como mejoría en la supervivencia <sup>200</sup>.

El otro estudio se publicó en 1997 y mostraba la mayor efectividad del tratamiento con epirubicina, cisplatino y 5-fluorouracilo (ECF), que no sólo mejoraba la supervivencia y la respuesta tumoral, sino que también contaba con una menor toxicidad y un menor coste. A partir de entonces, éste fue el tratamiento que se adoptó en muchos centros <sup>202</sup>.

Sin embargo, un nuevo estudio multicéntrico europeo de 399 pacientes, señala la poca efectividad global del tratamiento con pautas como ELF o FAMTX en el tratamiento del cáncer gástrico avanzado, con ausencias de respuesta tumoral al tratamiento hasta en un 66% y 55% respectivamente <sup>198</sup>. Es evidente que la eficacia clínica de estas pautas de quimioterapia es modesta y que deben considerarse nuevas estrategias terapéuticas en estos pacientes.

En ese sentido, otras pautas de tratamiento como el PELF o combinaciones de los anteriores fármacos con irinotecán están siendo evaluadas en el momento actual. Este último fármaco, un inhibidor de la topoisomerasa I, está mostrando buenos resultados cuando se combina con cisplatino en estudios fase II en Japón y en Europa <sup>203</sup>. Otros nuevos agentes en evaluación son el taxotere <sup>204</sup> y la gemcitabina <sup>205</sup>.

#### **1.4.8.3. Radioterapia paliativa.**

La radioterapia puede utilizarse también de forma paliativa para aliviar los síntomas como el dolor, la hemorragia o la obstrucción, aunque no hay estudios que hayan evaluado su eficacia.

## 2. BIOLOGÍA MOLECULAR DEL CÁNCER.

### 2.1. EL CICLO CELULAR.

#### 2.1.1. Fases del ciclo celular.

El ciclo celular es la sucesión de estados que atraviesa una célula desde que está en reposo hasta que ha completado la división mitótica y comporta cuatro fases activas (G1, S, G2, M) y una fase inactiva o quiescente (G0)<sup>206</sup>:

- Fase G0: la célula puede estar en esta fase de forma indefinida, en caso de que sea una célula diferenciada que nunca se divide, o tras un periodo más o menos largo de tiempo, iniciar un ciclo activo de división.
- Fase G1: tiene una duración variable (de una horas a varios días) y corresponde a una fase de actividad funcional de la célula. En ella, la célula sufre una serie de cambios bioquímicos que la preparan para la entrada en la fase S.
- Fase S: es la fase de síntesis del ADN. Dura de 6 a 8 horas y en ella la célula genera una copia completa de su material genético.
- Fase G2: dura de 2 a 5 horas y prepara la mitosis. El contenido de ADN en esta fase es doble (célula tetraploide).
- Fase M (mitosis): en esta fase el ADN replicado es condensado en los cromosomas que son segregados para que cada célula hija reciba una copia completa del material genético. Tiene cuatro etapas, profase, metafase, anafase y telofase. Su duración puede ser desde veinte minutos a una hora y da lugar a la formación de dos células hijas en las que el contenido de ADN es de dos cromosomas (célula diploide).

### **2.1.2. Control del ciclo celular.**

El paso de una fase a otra del ciclo depende de que la anterior haya sido completada y está regulado por productos de expresión genéticos específicos de cada fase conocidos como puntos de control ("check points")<sup>207 208</sup>. La inactivación de los genes que actúan como puntos de control puede permitir, por ejemplo, que se produzca una mitosis sin haberse completado la duplicación del ADN<sup>209</sup>.

En la célula normal, la detección de alteraciones en la dotación genética produce un freno en los procesos de replicación del ADN o de duplicación celular, existiendo al menos dos puntos de control para la detección de defectos en el genoma<sup>209</sup>. El primero actúa sobre la transición de G1 a fase S, es regulado fundamentalmente por el gen p53 y constituye el principal mecanismo de control de la replicación del ADN y por tanto de la proliferación celular. El segundo punto de control actúa sobre la transición de G2 a mitosis y está regulado principalmente por la ciclina B y quinasa cdk1.

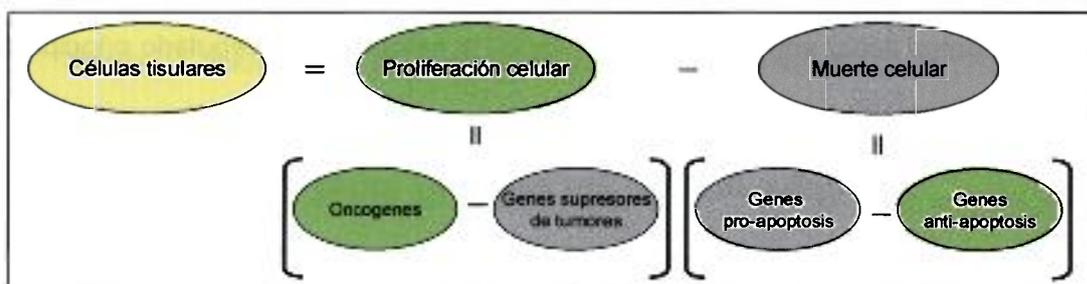
El objetivo de estos dos puntos de control es actuar sobre los complejos ciclinas-cdk y así conseguir el bloqueo del ciclo celular<sup>210</sup>. Éstos complejos proteicos compuestos por las quinasas ciclín-dependientes (cdk), intervienen en la replicación del ADN, la condensación y descondensación de la cromatina y en los movimientos del huso acromático, regulando, gracias a una actuación sucesiva y coordinada, el paso de una fase a otra del ciclo celular en una célula.

### 2.1.3. Genes reguladores del ciclo celular.

La regulación de la proliferación y de la diferenciación celular asegura el mantenimiento de las funciones vitales de la célula. Este proceso está controlado por proteínas codificadas por genes de tres tipos:

- Protooncogenes de crecimiento u oncogenes que se expresan de forma dominante.
- Protooncogenes que inhiben el crecimiento, anti-oncogenes o genes supresores de tumores, que son recesivos.
- Genes que contribuyen a la muerte celular programada (apoptosis).

Figura 10. El número de células de un tejido está determinado por el balance entre proliferación y muerte celular.



Las proteínas codificadas por estos genes se llaman onco-proteínas, y comprenden numerosos factores:

- Factores de crecimiento ("grow factors"): Son secretados por la célula al medio extracelular. Se unen a receptores fijados sobre la propia célula (acción autocrina) o sobre receptores de células de otros tipos (acción paracrina). Actúan controlando el ciclo celular al promover el paso de la fase G0 a la G1 (EGF, NGF, FGF, PDGF, TGFalfa) o el paso de la fase G1 a la M (IGF-1). En este grupo

se encuentran también factores antagonistas que inhiben el ciclo celular como el TGF beta y el TNF.

- Receptores de factores de crecimiento: ligandos con cisteína.
- Proteínas de transducción: inducen señales transductoras y estimuladoras que inician a nivel del núcleo la transducción del ADN y su replicación.
- Proteínas reguladoras: están situadas en el núcleo y están implicadas en la proliferación celular ya que se unen al ADN y actúan de forma sinérgica con otros genes para regular la división celular.

De este modo, la división celular se produce después de una cascada de reacciones que se pueden describir de esta forma:

- Los factores de crecimiento excretados por la célula en el medio extracelular (primer mensajero) se fijan por medio de un ligando a los receptores de crecimiento situados sobre la cara externa de la célula y los activan.
- Por mediación de una tyrosina-kinasa, transmiten la información a las proteínas de transducción, las "GTP binding proteins"
- Por mediación de fenómenos de fosforilación transmiten los mensajes (segundo mensajero) al núcleo, que, a partir de signos de transducción y estimulación, inicia la transcripción del ADN y su replicación poniendo en marcha así el ciclo mitótico.
- La mitosis está regulada por proteínas reguladoras situadas en el núcleo e implicadas en la proliferación celular ya que se unen al ADN y actúan de forma sinérgica con otros genes.

Los protooncogenes pueden actuar sobre los factores de crecimiento, sobre los receptores de dichos factores o sobre las proteínas de transducción. Dichos protooncogenes de crecimiento parecen ser los factores más importantes en la regulación de la proliferación y la diferenciación celular, pero es necesario señalar del mismo modo, la importancia de los protooncogenes inhibidores del crecimiento, también denominados genes supresores de tumores, que reprimen la proliferación. Estos últimos, al ser recesivos, necesitan la inactivación de los dos alelos para dar lugar a la transformación neoplásica de la célula.

Tres grandes tipos de genes supresores de tumores han sido reconocidos, TP53 localizado en el cromosoma 17, APC (Complejo Promotor de la Anafase) y RB (retinoblastoma) localizados en el cromosoma 13<sup>211</sup>.

El gen Bcl2 codifica la oncoproteína Bcl2 que impide la muerte celular programada o apoptosis. La superexpresión de este gen impide esta muerte celular programada y permite también el continuo crecimiento de las células lo que conduce a la aparición de un proceso tumoral<sup>212</sup>.

## **2.2. APOPTOSIS.**

La apoptosis es un modo de muerte celular programada desde su interior, que ocurre en respuesta a ciertos estímulos entre los que se encuentran las radiaciones ionizantes y algunos quimioterápicos. Es frecuente en tumores y lesiones preneoplásicas ya que la inducción de la apoptosis o muerte celular es un mecanismo de protección ante las alteraciones del genoma y está ligada a la regulación del ciclo celular<sup>213</sup>. Los agentes que dañan el ADN, bloquean su replicación o alteran su topología van a inducir la muerte celular por apoptosis. La célula debe progresar hacia el final de la fase G1 para que se desarrolle la

apoptosis (tanto en apoptosis p53-dependiente como en apoptosis p53-independiente) y éste sería el papel de algunos conocidos mediadores de la apoptosis como c-myc, c-fos y c-jun.

Gran parte de los agentes que inducen la apoptosis actúan mediante mecanismos dependientes de la proteína p53, que es la proteína que regula, al menos de forma parcial, el paso de fase G1 a fase S. La proteína p53 produciría un efecto inhibitor sobre los oncogenes que protegen de la apoptosis a las células mutadas, sobre todo el Bcl2<sup>214</sup> y activador sobre los elementos que aceleran la apoptosis, como el Bax<sup>215</sup>. La sobreexpresión de la proteína derivada del gen Bax puede acelerar la apoptosis e interferir sobre la acción de freno que realiza el producto de expresión del gen Bcl-2 al formar dímeros Bax-Bcl-2<sup>216</sup>.

Por otra parte, para que se produzca el paso de G1 a fase S es precisa la activación del complejo cdk2-ciclina A, que parece ser el último paso para que finalice la fase G1 y comience la síntesis de ADN y que se puede producir tanto de forma p53-dependiente como de forma independiente. Así pues, la activación de las quinasas dependientes de la ciclina A podría ser el vínculo molecular que une ciclo celular y apoptosis dado que el bloqueo del ciclo celular antes de la activación de la ciclina A protege de la apoptosis y que algunos oncogenes inductores de la apoptosis son activadores de la transcripción del gen de la ciclina A<sup>217</sup>.

Otros elementos que han sido señalados como desencadenantes de la apoptosis son el calcio iónico, la disminución del pH, la generación de radicales libres y las cascadas de la fosforilación. El hallazgo de que varias proteínas reguladoras de oxígeno reactivo son activadas por la p53 antes del establecimiento del fenómeno de apoptosis ha llevado a postular un mecanismo de muerte celular que comenzaría por la activación de genes p53-dependientes, seguiría con la

formación de especies de oxígeno reactivo y acabaría con la degradación oxidativa de los componentes celulares <sup>218</sup> .

## **2.3. DESARROLLO DEL CÁNCER.**

Para que aparezca y se desarrolle un proceso neoplásico es necesario, en la mayoría de casos, que un carcinógeno actúe sobre un tejido afectando directamente a los elementos que regulan el crecimiento y diferenciación del mismo, es decir, a su ADN. Las alteraciones genéticas que se manifiestan en los tumores son debidas a cambios en los elementos que regulan la transmisión del genoma humano (el ADN, el huso acromático y los centrosomas). Los defectos en estos tres componentes celulares de transmisión genómica darán lugar a la aparición de células neoplásicas con las siguientes lesiones <sup>219</sup> :

- ADN: la afectación de protooncogenes, genes supresores y genes reguladores dará lugar a deleciones, translocaciones, amplificaciones y mutaciones puntuales.
- Huso acromático: afectación de los cromosomas que provocará monosomías, trisomías, polisomías y aneusomías.
- Centrosomas: afectación de la ploidía con aparición de triploidías, tetraploidías, poliploidías y aneuploidías.

### **2.3.1. Acción de los carcinógenos.**

La actuación de los carcinógenos sobre el DNA se centra fundamentalmente en los tres tipos de genes implicados en la regulación del crecimiento celular:

- Los protooncogenes son la forma no activa de los oncogenes. Se activan, convirtiéndose en oncogenes mediante mutaciones puntuales, amplificaciones y traslocaciones. Ejemplos de oncogenes son los genes de las familias ras, erb B, jun, fos y myc.
- Los genes supresores son aquellos que frenan el crecimiento y proliferación celular. Para la aparición de un proceso neoplásico es necesaria la inactivación de los genes supresores que ocurre generalmente mediante dos mecanismos: la mutación y la delección o pérdida <sup>220</sup>. Los genes supresores actúan de forma recesiva, siendo generalmente necesaria la inactivación de los dos alelos para que quede abolida su acción supresora <sup>221</sup>. Ejemplos de genes supresores son el gen del retinoblastoma (Rb), el gen p 53, el walf-1 y el nm23.
- Los genes reguladores tienen como misión principal la codificación de proteínas reguladoras (factores de crecimiento, factores de transcripción nuclear, factores reguladores de la síntesis del DNA y otros). Estos factores moduladores no producen transformaciones por sí mismos sino que modifican la capacidad de difusión de las células cancerígenas en el organismo y regulan la expresión de antígenos de superficie o la función de enzimas proteolíticas. Entre los factores moduladores más conocidos están el factor de crecimiento epidérmico (EGF), un potente factor mitógeno, y los factores transformadores del crecimiento (TGF-alfa y TGF- beta) que afectan a la matriz extracelular, favoreciendo la diseminación de las células neoplásicas y la angiogénesis <sup>222</sup>.

Los mecanismos mediante los cuales los agentes carcinógenos afectan a la dotación genética de las células, promoviendo la carcinogénesis son:

- Hipometilación: pérdida de un grupo metilo.
- Hipermetilación: adición de un grupo metilo.
- Mutación puntual: cambio de una base en la secuencia genética.
- Traslocación: cambio de una secuencia genética.
- Amplificación: multiplicación excesiva de una secuencia genética.
- Deleción: pérdida de una secuencia genética que provoca una pérdida de heterocigosidad y permite que una alteración en el alelo restante altere la función de un determinado gen.

### **2.3.2. Fases de crecimiento tumoral.**

El proceso de crecimiento tumoral presenta cuatro fases bien conocidas:

#### **2.3.2.1. Iniciación.**

Se produce tras una exposición de las células a una dosis suficiente de carcinógenos (radiaciones ionizantes, sustancias químicas, virus, etc.) que, mediante los mecanismos anteriormente expuestos, alteran el ADN en el seno del genoma. Esta alteración se perpetúa en divisiones posteriores de la célula y hace que ésta adquiera una carga genética diferente a la de las células normales de su entorno.

Las alteraciones del ADN contribuyen a la formación del 80% de los tumores en el hombre y están influenciadas por una predisposición hereditaria a ser susceptible a éste tipo de cambios<sup>223</sup>.

La mutación de los genes *p53* es, dentro de todas estas alteraciones, un acontecimiento que aparece de manera precoz en un gran número de tumores. La célula en la que aparece la mutación no es inicialmente una célula tumoral ya que no tiene autonomía de crecimiento, pero no es tampoco una célula normal, ya que bajo la acción de ciertos promotores puede dar lugar a un tumor.

#### **2.3.2.2. Promoción.**

En esta fase los agentes promotores o también llamados co-carcinógenos, actúan sobre las células ya iniciadas para promover su transformación tumoral (clon tumoral) y su multiplicación (fase de carcinoma in situ). Este proceso es reversible, puesto que se trata de un clon celular que todavía no difiere fenotípicamente del tejido circundante y que puede ser modulado por factores como la dieta, factores ambientales, equilibrio hormonal y otros.

#### **2.3.2.3. Progresión y producción de metástasis.**

La fase de progresión se caracteriza por dos fenómenos que van a condicionar el crecimiento y la progresión del tumor en formación: presencia de alteraciones fenotípicas tanto estructurales como funcionales y la alteración de los genes y proteínas que regulan el ciclo celular y la apoptosis. Se producen nuevas mutaciones en los clones de células neoplásicas y estas adquieren nuevas capacidades como la síntesis de diversos enzimas y factores de crecimiento, que permiten la implantación y extensión local del tumor, la angiogénesis y la migración a distancia de células tumorales.

Uno de los aspectos más característicos de la fase de progresión tumoral es la aparición en el seno del tejido donde se desarrolla el tumor, de un estroma que asegura el sostén y soporte nutricional del tumor. Éste último se hace gracias a una proliferación vascular que se denomina neoangiogénesis vascular o

angiogénesis<sup>224</sup>, indispensable para el crecimiento del tumor, y que se desarrolla por el crecimiento vascular a partir de los vasos de la vecindad bajo la acción de diversos factores angiogénicos, fundamentalmente el VEGF (Figura 11). También se ha observado que la activación de oncogenes, sobre todo de las familias ras y myc<sup>225</sup> y la inactivación de genes supresores<sup>226</sup> tienen una importante participación en el proceso de angiogénesis.

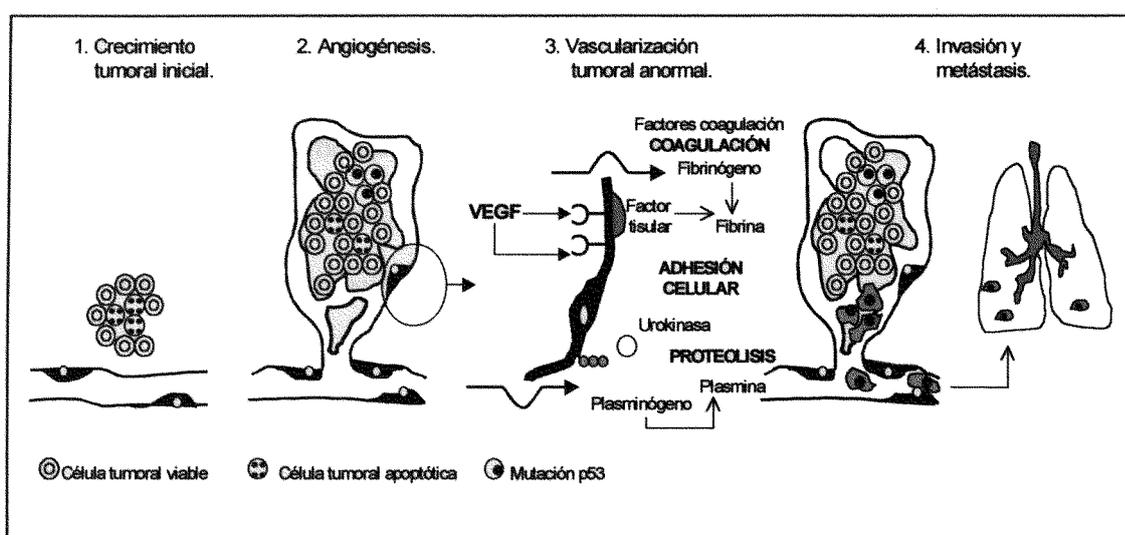


Figura 11. Angiogénesis tumoral.

El aumento de tamaño y la proliferación de vasos sanguíneos van a favorecer la diseminación de las células tumorales por el organismo, es decir, la aparición de metástasis. Para que éstas se produzcan primero se debe producir la destrucción de la matriz extracelular y de la membrana basal del endotelio vascular mediante enzimas proteolíticas segregadas por las células tumorales. Varios estudios han puesto de manifiesto que los tumores con mayor expresión de proteasas son más invasivos<sup>227</sup>. En el caso del cáncer gástrico, se ha demostrado que la sobreexpresión del sistema uPA (activador del plasminógeno del tipo

urokinasa) es un factor pronóstico con impacto negativo en la supervivencia<sup>228 229</sup>. El uPA actúa como activador de otras proteasas, por ejemplo la MMP-2 (matriz-metaloproteinasa 2) que degrada el colágeno de la membrana basal<sup>118</sup>. Una vez que las células tumorales penetran en la membrana basal endotelial se produce la invasión del torrente circulatorio, lo que, en ocasiones, provoca la aparición de metástasis. Otras proteasas que se han relacionado con la capacidad de invasión del cáncer gástrico son la MMP-9<sup>230</sup> y la MMP-7<sup>231</sup>.

#### **2.4. Alteraciones genéticas en el cáncer gástrico y su valor pronóstico.**

Las evidencias obtenidas mediante los estudios de genética molecular del cáncer gástrico sugieren que éste, al igual que otros tumores, se desarrolla a través de múltiples pasos que acumulan de forma secuencial múltiples alteraciones genéticas. En primer lugar, algunos cambios genéticos ocurren en la mucosa gástrica y provoca la aparición de una gastritis crónica atrófica o una metaplasia intestinal como primer cambio. Estas células epiteliales con alteraciones genéticas, si adquieren determinadas capacidades de crecimiento o inestabilidad genética, se expandirán clonalmente y acumularán mutaciones adicionales, dando lugar al carcinoma gástrico precoz, al cáncer localmente avanzado y finalmente al tumor con capacidad para metastatizar.

En los primeros estudios, la prevalencia de alteraciones genéticas encontradas en el cáncer gástrico eran bajas, probablemente debido a la contaminación con células no tumorales de las muestras de tejido utilizadas para la extracción del ADN<sup>232</sup>. Sin embargo, con la aplicación de técnicas de genética molecular más refinadas, se ha visto que existen múltiples alteraciones genéticas

que incluyen determinados oncogenes, genes supresores de tumores y pérdidas de heterocigosidad de cromosomas (Tabla 8). La presencia de errores de replicación del ADN debida a inestabilidad genética ha sido demostrada, utilizando pruebas de microsatélites, en determinados adenomas y adenocarcinomas gástricos <sup>233</sup>.

---

Tabla 8. Alteraciones genéticas evidenciadas en el cáncer gástrico.

Oncogenes:

1. *ras*: - Ki-*ras* mutación en los codones 12 y 13,  
- Ha-*ras* mutación en el codon 12,  
- sobreexpresión de *ras* p 21.
2. *c-erbB-2*: amplificación, reordenación, sobreexpresión.
3. *K-sam*: amplificación.
4. *hst/int-2*: actividad de transformación.
5. *c-met*: amplificación, expresión aberrante de 6.0 kb *c-met* mRNA, reordenación *tpr-met*.
6. *c-myc*: amplificación

Genes supresores de tumores:

1. APC: - mutación
2. p53: - mutación  
- acumulación nuclear de la proteína p53.

Pérdida de heterocigosidad de cromosomas:

1p, 5q, 7q, 12q, 13q, 17p, 18q, Y

Inestabilidad genómica:

Errores de replicación examinados mediante microsatélites.

---

Los datos acumulados de las alteraciones genéticas en el cáncer gástrico también indican que el proceso de carcinogénesis difiere en los dos subtipos histológicos <sup>234</sup>:

- Tipo intestinal: se asocia a metaplasia intestinal en la vecindad del tumor y puede tener una similar vía carcinogénica que el cáncer de colon, ya que estos dos tumores comparten mutaciones *ras*, del gen p53, del gen APC y pérdidas de heterocigosidad de los cromosomas 5q, 17p y 18q.

- Tipo difuso: las alteraciones genéticas en este tipo de tumor no están dilucidadas todavía. Amplificaciones de los genes *K-sam* y *c-met* se han puesto de manifiesto sólo en tumores avanzados.

Se necesitan más estudios para clarificar las alteraciones genéticas en estadios tempranos para descubrir factores de riesgo y mecanismos de mayor susceptibilidad genética. Ésto podría contribuir a la identificación de clarificar las diferencias en la historia natural de los dos tipos de tumores, intestinal y difuso, y proporcionar información para su prevención <sup>235</sup>.

## **2.5. Proteína p53.**

### **2.5.1. Características de la proteína p53.**

Es el producto de expresión del gen p53, un gen supresor de tumores que está localizado en el locus 13 del brazo corto del cromosoma 17 y que participa en el control del ciclo celular, la reparación del ADN, la apoptosis y la conservación de la integridad genómica, al interaccionar con el DNA en forma de tetrámeros e inducir la transcripción de varios genes ( p21, MDM2, bax).

La proteína p53 tiene 53000 daltons de peso molecular y 393 aminoácidos y presenta una vida media de unos 30 minutos <sup>236</sup>. Es una proteína de unión específica al ADN que puede ser dividida en tres regiones principales <sup>237 238</sup>:

- El dominio central, donde se localizan las mutaciones más conocidas de la misma y donde se unen de forma específica los genes regulados de forma transcripcional por p53.
- El extremo N-terminal: responsable de la actividad de transcripción de los genes p53 dependientes.

- El extremo C-terminal: fundamental para la unión al ADN dañado.

La existencia de una mutación puntual del gen p53 unida a la pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 17, locus 13, es la lesión genética más frecuente en el cáncer humano <sup>239</sup>.

### **2.5.2. Funciones de la p53.**

La función de la proteína p53 consiste en unirse al ADN e interactuar con otras proteínas para reconocer al ADN dañado y alterar la transcripción proteica de los genes dependientes del gen p53 <sup>210</sup>. La aparición de una alteración en el ADN produce una elevación de los niveles de p53 nativa que conlleva la detención del ciclo celular antes de entrar en la fase de síntesis del DNA. Este aumento de la p53 nativa permite la reparación del material genético dañado o, alternativamente, la puesta en marcha de los mecanismos que conducen a la muerte celular por apoptosis cuando la alteración genética es grave, a través de mecanismos ya señalados.

El bloqueo del ciclo celular en fase G1 se produce mediante una inactivación de las kinasas ciclin-dependientes <sup>240</sup>, pero la p53 también puede inhibir la replicación del ADN directamente <sup>241</sup> y a través de la p21 <sup>242</sup>.

La pérdida de la funcionalidad de esta proteína por inactivación del gen p53 (mutación) da lugar a una pérdida del punto de control en G1 y al acortamiento del tiempo disponible para la reparación del DNA antes de su replicación <sup>243 244</sup>. Esta alteración favorece la inestabilidad genómica y la propagación de alteraciones genéticas a las células hijas.

### 2.5.3. Regulación de la actividad de la p53.

En condiciones normales, la concentración intracelular de la proteína p53 es muy baja. Sin embargo, la mutación del gen p53 puede dar lugar a la aparición de una proteína anómala en el núcleo celular, que posee una vida media prolongada (unas 6 horas), por lo que alcanza concentraciones cien veces superiores a la proteína p53 nativa (wild-type)<sup>245 246</sup>. Estas mutaciones puntuales constituyen la gran mayoría de las mutaciones que afectan al gen p53, pero pueden existir también deleciones completas que den lugar a la pérdida total de la expresión de la p53<sup>216</sup>.

El aumento de los niveles de la p53 al mutar su gen parece producirse por cambios en la conformación de la proteína debido a fenómenos de fosforilación y a una disminución de su degradación, ya que la lesión genética no se asocia a un aumento en la transcripción<sup>216</sup>. Este hecho permite su detección mediante técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos monoclonales<sup>247</sup>. La identificación inmunohistoquímica de la proteína p53 (sobreexpresión) constituye un método indirecto para detectar mutaciones del gen p53, habiéndose descrito la existencia de una buena correlación entre ambos<sup>248</sup>.

El estudio inmunohistoquímico de diferentes tipos de tumores (pulmón<sup>249</sup>, mama<sup>250</sup>, ovario<sup>251</sup>, esófago<sup>252</sup>, colon-recto<sup>253</sup>) ha demostrado que la sobreexpresión de la proteína p53 es un hallazgo frecuente. En el caso del cáncer gástrico, la prevalencia de la sobreexpresión de p53 varía entre un 25-65 % y se ha visto que en más del 70 % de los casos coexiste la mutación del gen p53<sup>254 255</sup>.

#### **2.5.4. Valor pronóstico de la p53 en el cáncer gástrico.**

La variabilidad en la prevalencia de la expresión de la p53 y algunos aspectos metodológicos podrían explicar, en parte, algunos de los resultados contradictorios sobre el pretendido valor pronóstico de la p53 en los pacientes tratados por cáncer gástrico, así como la posible implicación de este gen supresor de tumores en una mayor agresividad de estas neoplasias. En algunas series la sobreexpresión de p53 se asocia con una menor supervivencia; sin embargo, otros autores no encuentran dicha correlación <sup>256 257 258</sup>. Por otro lado, recientes estudios han demostrado que la expresión de la p53 en el cáncer gástrico puede relacionarse con una marcada angiogenesis tumoral <sup>259 260</sup>.

#### **2.5.5. p53 y respuesta al tratamiento antitumoral.**

Se ha demostrado que los procesos de apoptosis dependientes de la p53 modulan el efecto citotóxico de algunas terapias antitumorales <sup>261</sup> como las radiaciones ionizantes, el fluorouracilo, el etopósido, la doxorubicina y los nuevos inhibidores de la topoisomerasa I <sup>262</sup>. También se ha señalado como la resistencia a los quimioterápicos puede desarrollarse durante la progresión tumoral y se asocia a mutaciones en el gen p53 <sup>263</sup>.

Estudios clínicos han confirmado este hecho en tumores de diferentes localizaciones <sup>264 265 266</sup> cuya respuesta al tratamiento con quimioterapia es deficiente si presentan mutaciones en el gen p53. Por otro lado, se ha señalado que en algunos tumores que raramente exhiben mutaciones del gen p53, como el cáncer testicular, el tumor de Wilms o la leucemia linfoblástica aguda, la quimioterapia es altamente efectiva <sup>261</sup>.

## 2.6. Angiogénesis.

El término angiogénesis implica el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes y es un proceso necesario para el crecimiento de los organismos multicelulares por la necesidad de la oxigenación tisular. Dicho proceso ocurre normalmente durante la cicatrización de las heridas y el ciclo menstrual en ovarios y endometrio. En otras circunstancias la angiogénesis aparece en procesos patológicos como la retinopatía diabética, la artritis, los hemangiomas, la psoriasis y asociada al desarrollo de tumores <sup>267</sup>. Sin vasos sanguíneos, los tumores no pueden crecer por encima de una masa crítica ni pueden aparecer metástasis a distancia. Por otro lado, sin un adecuado aporte sanguíneo, los quimioterápicos no pueden llegar en cantidades efectivas a todas las partes del tumor.

Para que se inicie la angiogénesis es necesario que se produzca una degradación de la membrana basal del endotelio y broten células endoteliales que den lugar a nuevos vasos que suelen ser anormales tanto morfológica y como funcionalmente.

Algunas de las señales que pueden inducir el inicio del proceso angiogénico son <sup>268</sup> :

- El estrés metabólico: pO<sub>2</sub> bajo, pH bajo, hipoglucemia.
- El estrés mecánico: presión generada por la proliferación celular.
- La respuesta inmune o inflamatoria: células inflamatorias que infiltran el tejido.
- Mutaciones genéticas: activación de oncogenes o delección de genes supresores de tumores que controlan la producción de reguladores de angiogénesis.

### 2.6.1. Angiogénesis tumoral.

Las primeras observaciones de que los tumores provocan el desarrollo de vasos sanguíneos a su alrededor se realizó hace unos 100 años <sup>269</sup>. En 1971, Folkman propuso que el crecimiento tumoral y la aparición de metástasis dependían de la angiogénesis, hipótesis que fue corroborada por otros autores posteriormente <sup>270</sup>. Además, se ha sugerido que el grado de angiogénesis tumoral se relaciona directamente con la evolución clínica debido a su influencia en la agresividad del tumor <sup>271</sup>. Todo ello sustenta la idea de que el bloqueo de la angiogénesis puede ser una estrategia para detener el crecimiento tumoral <sup>272</sup>.

Los vasos tumorales tienen una estructura y funcionalidad anómalas. Al contrario que los vasos normales, la vascularización tumoral es desorganizada, con vasos tortuosos y dilatados, de desigual diámetro y excesivas ramificaciones y comunicaciones. En relación a su ultraestructura, los vasos tumorales son también anormales ya que sus paredes tienen abundantes orificios, con uniones interendoteliales amplias y una discontinua o ausente membrana basal lo que los hace permeables <sup>273</sup>. Por todo ello, el flujo vascular tumoral es variable, lo que puede provocar zonas de acidosis e hipoxia intratumorales, lo que conlleva la selección de aquellas células tumorales más malignas y con mayor capacidad para metastatizar <sup>274</sup>. Estas células seleccionadas perderían también su capacidad de responder a la hipoxia mediante la apoptosis <sup>275</sup>.

La valoración de la angiogénesis en el cáncer puede realizarse mediante la tinción del endotelio vascular con anticuerpos monoclonales. Esta técnica ha permitido demostrar que la angiogénesis se produce fundamentalmente en áreas focales ("hot spots") próximas a los límites de crecimiento tumoral <sup>276 277</sup>. Se han utilizado varios métodos de tinción entre los que se encuentran los anticuerpos

frente al antígeno asociado al factor VIII (F8RA) <sup>278</sup> y anticuerpos frente a las moléculas de adhesión CD31 <sup>279</sup> y CD34 <sup>280</sup>. En la actualidad se considera que estos dos últimos métodos son más sensibles y específicos que el F8RA ya que éste presenta una expresión más variable, a pesar de lo cual ha sido utilizado en trabajos publicados <sup>281</sup>. La utilización de anticuerpos frente a la molécula de adhesión CD34 constituye uno de los métodos más útiles para detectar y cuantificar la angiogénesis <sup>282</sup>.

### **2.6.2. Significado pronóstico de la angiogénesis tumoral.**

Varios estudios clínicos han demostrado que existe correlación entre el grado de angiogénesis y la agresividad tumoral en el cáncer de pulmón <sup>283</sup>, el melanoma <sup>284</sup>, el cáncer de próstata <sup>271</sup>, el cáncer de mama <sup>285</sup>, el cáncer de ovario y también en el cáncer gástrico <sup>286 287</sup>. Sin embargo, otros estudios no han observado una asociación tan clara entre la angiogénesis y otros factores de mal pronóstico <sup>288 289</sup>, posiblemente por tratarse de series cortas o por la existencia de problemas metodológicos a la hora de valorar la densidad vascular tumoral.

En el caso del cáncer gástrico, estudios recientes señalan que la cuantificación de la densidad microvascular puede ser un factor pronóstico de gran utilidad para predecir qué pacientes presentarán una recidiva de la enfermedad <sup>290</sup>.

### **2.6.3. Factores angiogénicos.**

La secreción y activación de varios factores de crecimiento endotelial (factores angiogénicos) por las células tumorales juega un importante papel en la formación de la neovascularización <sup>222</sup>. Esta posibilidad estimuló la búsqueda de

moléculas pro y anti-angiogénicas (Tabla 9) y hoy se acepta que la angiogénesis depende del balance entre factores activadores e inhibidores <sup>291</sup>.

Tabla 9. Activadores e inhibidores de la angiogénesis.

ACTIVADORES:

VEGF y Recept. TNF, IL-8 Neurofilina-1 Angiopietinas PDGF y recept. TGF y recept. Integrinas VE-caderinas Act. Plasminógeno y matrizmetaloproteinasas Óxido nítrico sintasa	Estimula la angiogénesis, la permeabilidad y la adhesión leucocitaria. Integración señales angiogénesis y supervivencia. Estabilización vasos, inducción de proteasas. Reclutamiento células músculo liso. Estimulación producción matriz extracelular. Receptores de macromoléculas de la matriz y proteinasas. Moléculas endoteliales de unión. Remodelación matriz extracelular, liberación/activación factores de crecimiento. Estímulo angiogénesis y vasodilatación.
---	--

INHIBIDORES:

Trombospondina-1 y 2 Angiostatina Endostatina Vasostatina Factor plaquetario-4 Inhibidores de MMP IFN- $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , IL-1, IL-12 Prolactina	Inhibición migración endotelial, crecimiento, adhesión y supervivencia. Inhibición angiogénesis tumoral. Inhibe la supervivencia endotelial y la migración. Inhibe el crecimiento endotelial. Inhibe la unión a los receptores del VEGF. Suprime la angiogénesis patológica. Inhiben la migración endotelial. Inhibe al VEGF.
--	--

Las moléculas pro y anti-angiogénicas pueden proceder de las células tumorales, células endoteliales, células estromales, sangre y de la matriz extracelular <sup>292</sup>. Los fenómenos biológicos que dan lugar al proceso angiogénico están regulados por una serie de procesos bioquímicos paralelos que se inician en respuesta a dichas moléculas proangiogénicas entre las que se encuentra el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), las angiopietinas, factores de crecimiento derivados de los fibroblastos, factor de necrosis tumoral, factor de crecimiento derivado de las plaquetas, interleuquina-8 y otras proteínas y péptidos. El VEGF es un importante factor angiogénico, que actúa como un mitógeno

selectivo de las células endoteliales y las angiopoietinas parecen jugar un papel fundamental como iniciadoras de este proceso angiogénico<sup>293 294 295</sup>.

Recientemente se ha demostrado, en pacientes con cáncer gástrico, que aquellos tumores con elevada expresión de Angiopoietina-2 (Ang-2) presentaban con más frecuencia invasión vascular y peor pronóstico, lo que sugiere que la Ang-2 está implicada en el desarrollo y agresividad tumoral del cáncer gástrico. Los mismos autores demuestran, en experimentos "in vitro", que la Ang-2 ejerce una acción promotora del desarrollo de la angiogénesis tumoral mediante la inducción de proteasas (MMP y uPA) en las células endoteliales en presencia del VEGF<sup>296</sup>.

Existen también factores antiangiogénicos entre los que se encuentran la angiostatina producida por proteólisis del plasminógeno, interferones, interleuquinas 1 y 12, trombospondina 1 (TSP-1), ácido retinoico, etc<sup>297</sup>.

En relación con el proceso de la angiogénesis, la mutación del gen p53 induce en modelos experimentales un aumento en la producción del VEGF<sup>298</sup> y una disminución en la síntesis de la trombospondina-1 (TSP-1)<sup>299</sup>. Ambos hechos favorecen conjuntamente la aparición de nuevos capilares en el lecho tumoral y, por tanto su crecimiento, y es otro de los mecanismos, aparte de los citados anteriormente, por los cuales la mutación del gen p53 parece ser fundamental en el proceso de desarrollo tumoral.

Varios agentes antiangiogénicos están siendo utilizados, solos o en combinación con otros agentes quimioterápicos en ensayos clínicos. Sin embargo, todavía existen una serie de problemas que justifican cierta precaución para su aplicación en humanos. Debido a la variedad de las moléculas estimuladoras del proceso angiogénico, deberían utilizarse varias sustancias para garantizar la inhibición. Los efectos a largo plazo de las terapias antiangiogénicas en tejidos

normales son por ahora desconocidos. A pesar de todo, la terapia antiangiogénica es el campo más prometedor en el tratamiento del cáncer en la actualidad.

## **2.7. VEGF.**

### **2.7.1. Características y estructura.**

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es uno de los factores más importantes para la supervivencia del endotelio<sup>300</sup>. Induce la angiogénesis y la proliferación de las células endoteliales y juega un importante papel en la regulación de la vasculogénesis.

El VEGF es una glicoproteína fijadora de heparina que es secretada como un homodímero de 45 kDa<sup>301 302</sup>. Muchos tipos de células pueden secretar VEGF excepto las células endoteliales que no lo hacen habitualmente. La primera variante descubierta del VEGF fue el VEGF-A que produce un aumento de la permeabilidad vascular, pero además, el VEGF produce vasodilatación, en parte a través de la estimulación de la óxido nítrico sintetasa en las células endoteliales<sup>303</sup>. También puede estimular la migración celular e inhibir la apoptosis<sup>304</sup>.

El VEGF-A presenta distintas variantes estructurales. Las principales incluyen 121, 165, 189 y 206 aminoácidos. La proteína de 165 aminoácidos es la variante más abundante y presenta un dominio de fijación a la heparina que le sirve para anclarse en la matriz extracelular. Este dominio de fijación está implicado en la adhesión al heparán sulfato y en la presentación a los receptores de VEGF<sup>305</sup>. La presencia de este dominio es el factor clave de la potencia del VEGF y hace que las formas que lo posean sean más activas.

Otros miembros de la familia del VEGF son el VEGF-B, -C y -D. La función del VEGF-B, -C y -D es menos conocida pero no parecen estar regulados por los mismos mecanismos que regulan el VEGF-A.

La transcripción del VEGF-A está potenciada por la hipoxia y por oncogenes activados:

- La inducción de la hipoxia caracteriza el VEGF-A frente a otros miembros de la familia del VEGF y otros factores angiogénicos.
- La transcripción del VEGF en normoxia es activada por varios oncogenes incluyendo el H-ras y varias tyrosina kinasas como el receptor del factor de crecimiento epidérmico y el erbB2<sup>306</sup>.

Estas vías de activación, en conjunto, ejercen un efecto de marcada regulación positiva del VEGF-A en tumores en comparación con tejidos normales y tienen a menudo implicación pronóstica.

### **2.7.2. Receptores y funciones.**

Existen tres receptores para el VEGF (VEGF-R1, -R2, -R3)<sup>307</sup>, los cuales tienen propiedades en común con los dominios extracelulares "IgG-like" y presentan actividad tyrosina-kinasa. Las células endoteliales también expresan otros receptores del VEGF como la neurofilina-1 y 2<sup>308</sup>.

- VEGF-R1 es el de mayor afinidad y media los procesos de motilidad y permeabilidad vascular.
- VEGF-R2 es necesario para la proliferación.
- VEGF-R3 está expresado específicamente en el endotelio de los vasos linfáticos y estimula su proliferación<sup>309</sup>.

Entre las acciones del VEGF destacan: favorecer la permeabilidad microvascular así como la migración y proliferación de células endoteliales, arteriales y venosas, aumentar la permeabilidad de proteínas circulantes como el fibrinógeno que se degrada a fibrina y potencia la angiogénesis, inducir la producción local de óxido nítrico que aumenta el flujo sanguíneo que precede a la angiogénesis o favorecer la degradación de la matriz extracelular al inducir la expresión de enzimas proteolíticas.

El VEGF está implicado en determinadas situaciones patológicas en las que se produce una angiogénesis aumentada como por ejemplo la psoriasis o la artritis reumatoide <sup>310</sup>. La retinopatía diabética está también asociada con unos niveles intraoculares de VEGF elevados y la inhibición de su función puede provocar infertilidad al bloquear la función del cuerpo lúteo <sup>311</sup>.

### **2.7.3. Valor pronóstico del VEGF en el desarrollo tumoral.**

El VEGF es también uno de los factores angiogénicos segregados por los tumores y juega un papel muy importante en la angiogénesis tumoral necesaria para que el tumor adquiera el estroma que le permita crecer. Su expresión ha sido detectada en varios tumores como el glioblastoma <sup>312</sup> y carcinomas de riñón <sup>313</sup>, vejiga <sup>314</sup>, ovario <sup>315</sup>, mama <sup>316</sup>, colon <sup>317</sup> y estómago <sup>318</sup>.

La demostración directa de la importancia del VEGF en el crecimiento tumoral ha sido probada mediante la utilización de anticuerpos bloqueantes del VEGF o del VEGF-R2, cuyo efecto es el de inhibir la proliferación tumoral <sup>319 320</sup>. Este hecho ha provocado que el desarrollo de drogas que interfieran con el VEGF y por tanto inhiban la angiogénesis sea un área de gran interés y pueda tener una aplicación terapéutica en muchas enfermedades <sup>321</sup>.

Varios estudios han confirmado el papel que la secreción de VEGF tiene sobre la angiogénesis en el cáncer gástrico y que su sobreexpresión se suele asociar a una mayor incidencia de invasión vascular de las células neoplásicas <sup>322</sup>. Este mecanismo provocaría una mayor tendencia a la aparición de metástasis a distancia, especialmente en el hígado <sup>323</sup>. Otros autores también han observado que la sobreexpresión de VEGF en el adenocarcinoma gástrico se asocia con una mayor incidencia de afectación ganglionar <sup>324</sup>.

**HIPÓTESIS**

---

## HIPOTESIS

El cáncer gástrico presenta, en el momento actual, un pronóstico desfavorable debido a su tendencia a la recidiva tras la cirugía realizada con intención curativa si no se diagnostica en estadios precoces. Esta progresión supone un incremento significativo de la mortalidad a pesar de los tratamientos que se aplican, que en muchas ocasiones son inefectivos. La instauración de terapias más agresivas en pacientes seleccionados podría mejorar la supervivencia.

El pronóstico de estos pacientes se basa en el análisis de toda una serie de criterios clinicopatológicos clásicos, pero en el momento actual es de sumo interés el estudio de nuevos marcadores moleculares que permitan una mejor evaluación pronóstica y la identificación de aquellos pacientes con un elevado riesgo de desarrollar recidivas, los cuales podrían beneficiarse de la administración de quimioterapia adyuvante.

La multiplicación celular es el factor más importante para que se produzca el crecimiento y progresión de los tumores. La proteína p53 es un elemento determinante en la regulación de la multiplicación celular, tanto por su capacidad para inducir la apoptosis como por el bloqueo que ejerce sobre el ciclo celular que impide la replicación.

Por otro lado, dicha multiplicación y crecimiento tumoral, también depende en alto grado de la angiogénesis, ya que para que se produzca un incremento en la población celular tumoral debe existir previamente el desarrollo de capilares que faciliten el aporte sanguíneo y este hecho es necesario también para el desarrollo de metástasis a distancia. La angiogénesis está mediada por distintos factores

angiogénicos, entre los que destaca el VEGF por ser uno de los más potentes y específicos.

En el Hospital Clínic de Barcelona existe una gran experiencia en el tratamiento quirúrgico de pacientes con cáncer gástrico, ya que ha sido pionero en la utilización de técnicas quirúrgicas agresivas siguiendo los estudios y resultados de los autores japoneses y también en la utilización de protocolos de quimioterapia adyuvante con mitomicina C y derivados del fluorouracilo. A pesar de conseguirse unas tasas de supervivencia superiores a las de muchas de las series publicadas, debemos intentar mejorar los resultados para lo cual necesitamos comprender mejor los mecanismos biológicos que regulan la extensión tumoral.

La confirmación de que algunos pacientes presentan una sobreexpresión de la p53 y del VEGF, así como una más cuantiosa angiogénesis tumoral, y de que estos parámetros se correlacionan con un mayor riesgo de recidiva local o a distancia, justificaría la incorporación sistemática de algunos de estos parámetros biológicos en la evaluación postoperatoria de los pacientes intervenidos por cáncer gástrico. Estos datos permitirían modificar las actuales pautas de quimioterapia adyuvante y planificar un seguimiento exhaustivo.

Nuestra hipótesis establece que el grado de angiogénesis valorado directamente mediante la densidad microvascular e indirectamente a través de la sobreexpresión de p53 y VEGF (ambos actuando como factores promotores de dicha angiogénesis), ejerce una influencia significativa sobre la agresividad clínica del cáncer gástrico. En este sentido, cabe pensar que el análisis de estos tres parámetros biológicos y sus posibles interrelaciones podría aportar información predictiva sobre la distinta respuesta clínica de los pacientes con cáncer gástrico

sometidos a una gastrectomía que son candidatos a ser tratados posteriormente con quimioterapia adyuvante. De confirmarse esta hipótesis sería posible desarrollar estrategias terapéuticas específicamente dirigidas a aquellos pacientes con un riesgo elevado de desarrollar recidivas.

**OBJETIVOS**

---

## OBJETIVOS

### Objetivo general:

El estudio de la angiogénesis y la sobreexpresión de la p53 y del VEGF como factores pronósticos de recidiva y supervivencia en pacientes con cáncer gástrico, y su influencia en la respuesta a la quimioterapia adyuvante.

### Objetivos concretos:

1. Analizar la posible correlación entre la densidad microvascular (angiogénesis) y la expresión de la p53 y del VEGF en pacientes con cáncer gástrico.

2. Evaluar la posible correlación entre la densidad microvascular, la expresión de la p53 y del VEGF con distintos parámetros clinicopatológicos de los pacientes con cáncer gástrico.

3. Analizar la influencia que el grado de angiogénesis y la expresión de la p53 y del VEGF tienen sobre el pronóstico de los pacientes intervenidos quirúrgicamente de un cáncer gástrico.

4. Valorar la influencia de los tres parámetros estudiados sobre el efecto terapéutico de la quimioterapia adyuvante en este grupo de pacientes.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **1. ESTUDIO CLÍNICO.**

#### **1.1. Pacientes.**

Se han considerado para su inclusión en el estudio los pacientes con diagnóstico histológico de adenocarcinoma gástrico a los que se practicó una resección quirúrgica de la neoplasia, con intención curativa o paliativa, en el Servicio de Cirugía General y Digestiva (Institut de Malalties Digestives) del Hospital Clínic de Barcelona. Las intervenciones fueron realizadas por cirujanos con experiencia en cirugía gastrointestinal, especializados en el área de cirugía esofagogástrica. El 84% de los pacientes fueron intervenidos durante el periodo comprendido entre 1990 y 1999.

Se han revisado de forma retrospectiva las muestras histológicas de las piezas operatorias del archivo del Departamento de Anatomía Patológica para seleccionar aquellas que fueran aptas para la realización del estudio inmunohistoquímico. De todos los pacientes se conserva una muestra de tejido tumoral fijada en formol al 10 % e incluida en parafina. Los cortes histológicos seleccionados debían presentar suficiente masa tumoral y permitir evaluar la zona más externa de crecimiento del tumor adyacente a tejido sano, para poder determinar de forma más acertada el grado de angiogénesis.

Tras la revisión de los cortes histológicos procesados, se seleccionaron 218 pacientes que habían sido sometidos a una resección gástrica por adenocarcinoma. Una vez realizadas las tinciones inmunohistoquímicas, 206 pacientes fueron válidos para ser incluidos en el estudio.

De todos los pacientes se recogieron variables demográficas y clínicas, variables relacionadas con la técnica quirúrgica y tratamiento complementario administrado y variables relacionadas con el estadio tumoral definitivo y el seguimiento. Además, en muestras de tejido tumoral de todos los pacientes se realizó la evaluación de la expresión de la p53, el VEGF y la densidad microvascular.

## **1.2. Criterios de inclusión.**

Pacientes afectos de adenocarcinoma gástrico sometidos a resección quirúrgica de los que exista una muestra de tejido tumoral que permita realizar las tinciones inmunohistoquímicas de forma adecuada .

## **1.3. Criterios de exclusión.**

1.- Pacientes diagnosticados de adenocarcinoma gástrico a los que no se puede realizar exéresis de la tumoración.

2.- Pacientes a los que se ha practicado resección quirúrgica pero cuya muestra de tejido tumoral no es válida para realizar el estudio por:

- Tejido mal preservado.
- Insuficiente cantidad para realizar todos los cortes.
- Poca cantidad de tejido tumoral en la muestra examinada.
- Dudosa evaluación inmunohistoquímica por inadecuada captación de los anticuerpos.

#### **1.4. Técnica quirúrgica y tratamiento adyuvante.**

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron sometidos a una gastrectomía subtotal o total con una linfadenectomía D1 ó D2, siguiendo los mismos criterios oncológicos de resecabilidad.

La extensión de la gastrectomía se decidió según la localización y el tipo histológico el tumor. En el carcinoma de tipo intestinal del antro gástrico se realizó una gastrectomía subtotal, excepto cuando el tumor invadía la serosa (T3) o cuando se trataba de un tumor de tipo difuso. En estos casos se practicó una gastrectomía total. En los carcinomas localizados en cuerpo o fundus gástrico, bien fuesen de tipo intestinal o difuso, se realizó habitualmente una gastrectomía total. En sentido distal, la exéresis gástrica se prolongaba hasta 2 centímetros del píloro para conseguir la máxima distancia entre el margen de resección y el tumor.

En todos los casos se realizó una omentectomía y, dependiendo de la decisión del cirujano, una linfadenectomía tipo D1, es decir, la exéresis junto con el estómago de las cadenas ganglionares del primer nivel (paracardiales derechas e izquierdas, curvaturas mayor y menor, suprapilóricos e infrapilóricos) o D2, en la que además se añade la exéresis de las cadenas ganglionares del segundo nivel (cadenas de art. gástrica izquierda, hepática común, tronco celíaco, hilio esplénico y arteria esplénica). En ocasiones, se practicaron intervenciones ampliadas que incluían la realización de una esplenectomía o una pancreatometomía, cuando ambos órganos estaban infiltrados por la neoplasia o existían mazacotes adenopáticos en el hilio esplénico. En muchos casos se solicitó un estudio histológico peroperatorio de los márgenes de resección, con el objeto de ampliar dicho margen hacia el estómago o duodeno en los casos en los que existiera afectación neoplásica.

En aquellos pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante se siguió una de las siguientes pautas:

1. Mitomicina C (MMC) 10-20 mg/m<sup>2</sup> endovenosa cada 6 semanas.
2. MMC 10-20 mg/m<sup>2</sup> endovenosa el primer día asociado a ftorafur (FT) 500 mg/m<sup>2</sup>/día durante 6 semanas

Todos los ciclos se repitieron cuatro veces. Ningún paciente había recibido tratamiento quimioterápico o radioterápico antes de la cirugía.

### **1.5. Estadificación y gradación de los pacientes.**

Se ha realizado una reevaluación del estudio microscópico de los tumores para adecuarlo al protocolo del Comité de Cáncer del Colegio Americano de Patólogos<sup>325</sup> que utiliza el sistema de estadificación definido por la AJCC en 1997 (Tabla 2) y la UICC<sup>326</sup>.

El estudio histopatológico completo de la pieza de resección incluye tejido tumoral y tejido adyacente sano no tumoral. Se evalúa el tipo histológico de tumor según la clasificación de la OMS y la de Lauren, el grado de diferenciación tumoral, la presencia de invasión vascular, linfática o perineural o la existencia de metástasis ganglionares (número total de ganglios afectados y el porcentaje sobre el total de los extirpados). También se confirma, si las hubiera, la existencia de metástasis a distancia. Mediante todos estos datos se establece el estadio TNM definitivo.

Además, se debe tener en cuenta la evaluación del material citológico del lavado de la cavidad abdominal, el tamaño y localización del tumor y la presencia de afectación de los márgenes proximal, distal y radial de la pieza quirúrgica.

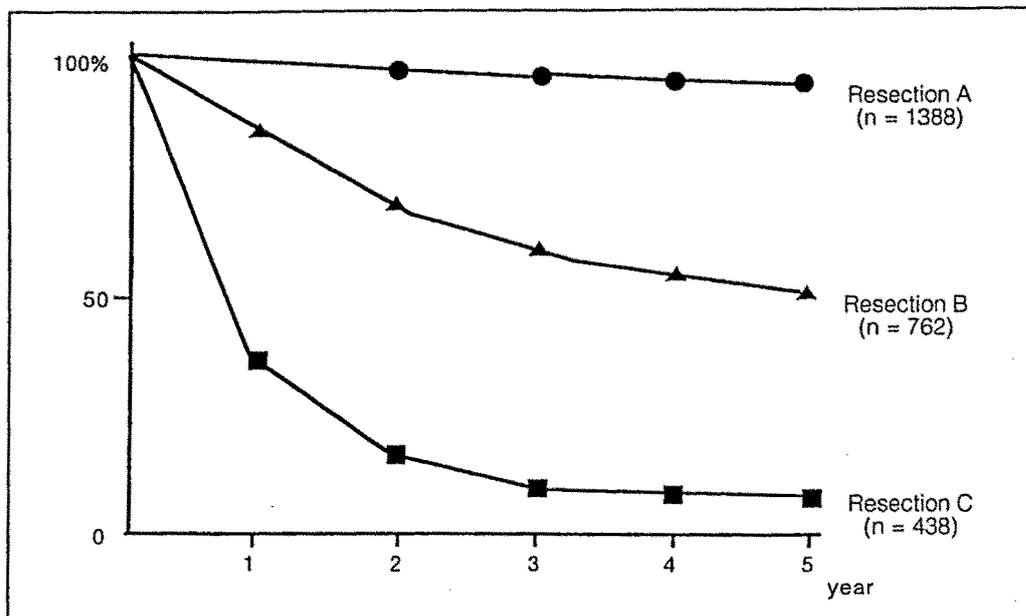
Con todos estos parámetros, se selecciona el subgrupo de **pacientes intervenidos con intención curativa**, es decir, aquellos en los que se extirpa todo el tumor visible, con confirmación posterior de la existencia de márgenes quirúrgicos libres de neoplasia (resecciones tipo R0 según la UICC). Asimismo, se han determinado las categorías del grado de curabilidad de la resección gástrica que se establecen según los criterios de la Asociación Japonesa del Cáncer Gástrico (AJCG) del año 1998 <sup>327</sup>, los cuales subdividen los pacientes intervenidos con intención curativa en los grupos A y B de la tabla 10.

Tabla 10. Grados de Curabilidad de la resección gástrica según los criterios de la Asociación Japonesa del Cáncer Gástrico (AJCG).

Grado Curabilidad	Características
A	No evidencia de enfermedad residual con alta probabilidad de curación: Tumores T1, T2; N0 tratados con linfadenectomía D1 ó D2; N1 tratados con linfadenectomía D2; M0; Citología peritoneal negativa; Márgenes proximal y distal > 1 cm.
B	No evidencia de enfermedad residual pero no se cumplen los criterios anteriores.
C	Existencia de enfermedad residual.

La utilidad de la clasificación japonesa de los grados de curabilidad es que combina datos del tratamiento quirúrgico e histopatológicos y los grupos que determina, tienen importantes diferencias en cuanto al pronóstico de la enfermedad (Figura 12).

Figura 12. Supervivencia acumulada en función del grado de curabilidad de la AJCG (serie de Maruyama, 1996)



### 1.6. Seguimiento.

El seguimiento de los pacientes ha sido realizado por cirujanos del Servicio de Cirugía Gastrointestinal del Hospital Clínic de Barcelona. Todos los pacientes fueron visitados periódicamente tras el alta hospitalaria y asimismo fueron remitidos al servicio de Oncología para valorar la administración de quimioterapia adyuvante.

Durante los dos primeros años de seguimiento los controles se han realizado cada tres meses, realizándose analíticas sanguíneas con marcadores tumorales (CEA, Ca-19.9, TAG-72), ecografías de control y, al menos, una tomografía axial computerizada anual. Cuando se consideró oportuno se practicó una fibrogastroscofia de control. Posteriormente los controles se han realizado cada seis meses. En aquellos pacientes en los que se sospechó la aparición de

una recidiva, se practicaron las exploraciones necesarias para confirmar la localización y extensión de la misma.

La **recidiva** la definimos como la primera evidencia documentada mediante la realización de pruebas de diagnóstico por la imagen de una nueva manifestación de la enfermedad bien sea local, a distancia o una combinación de ambas.

Se ha considerado como tiempo de **supervivencia libre de recidiva** al periodo comprendido entre la cirugía del tumor primario, realizada con intención curativa y la demostración de la recidiva tumoral durante el seguimiento.

La supervivencia se ha calculado para la serie completa de pacientes y también para el subgrupo de pacientes intervenidos con intención curativa, a los dos y cinco años de la intervención quirúrgica. Se ha calculado la **supervivencia global** considerando todos los pacientes que fallecen durante el seguimiento, independientemente de la causa y la **supervivencia relacionada con la enfermedad** considerando como fallecidos únicamente a los pacientes cuya causa de muerte está directamente relacionada con el cáncer gástrico y "censurando" en el análisis estadístico aquellos pacientes que fallecen durante el seguimiento por causas diferentes. Para realizar el análisis de los factores pronósticos de supervivencia por cáncer gástrico se han utilizado las tasas de supervivencia relacionadas con la enfermedad.

## 2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.

### 2.1. Procedimiento técnico.

El presente estudio se ha realizado en la sección de Inmunohistopatología del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínic de Barcelona en colaboración con el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Brest (Francia). El procedimiento técnico se describe brevemente a continuación.

En primer lugar, se realizó la selección de las muestras de tejido más representativas de cada caso mediante la revisión de las láminas de tejido teñidas con hematoxilina-eosina. Posteriormente, se obtuvieron cortes histológicos de 4 micras de espesor a partir de material fijado en formol al 10% e incluido en parafina. Dichas muestras fueron desparafinadas con xileno a temperatura ambiente durante 15 minutos y posteriormente rehidratadas con soluciones de concentración decreciente de etanol hasta llegar al agua destilada. Los cortes histológicos se sometieron seguidamente a un proceso de recuperación antigénica inducida por calor en olla a presión durante 2 minutos. Para la p53 los cortes histológicos se colocaron en una solución tampón citrato 10 mM con pH 6,0 y para el VEGF en una solución EDTA 1 mM con pH 8,0 (Tabla 11).

El procedimiento continuó con la aplicación del anticuerpo primario específico (fase1) y después el tejido fue sometido a tratamiento con una solución al 3% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante 10 minutos para bloquear la peroxidasa endógena. Entonces se aplicó el sistema de visualización EnVision™ Detection Kit Peroxidase/DAB automatizado (TechMate 500 DAKO). Este procedimiento se caracteriza por utilizar un polímero que lleva adheridos el anticuerpo secundario así como la enzima (fase 2). En nuestro caso, la enzima utilizada fue la peroxidasa de rábano, la cual se revela posteriormente con diaminobencidina (DAB) para poder

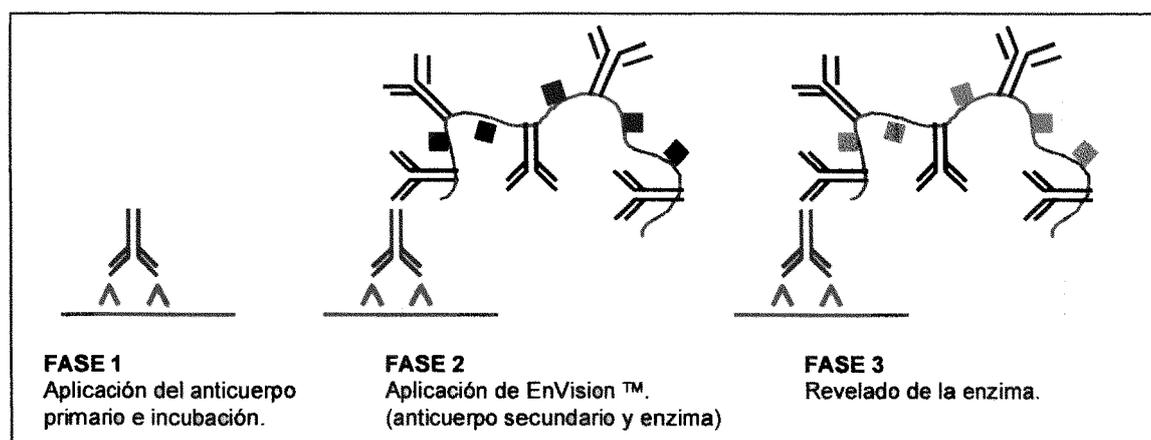
identificar la localización del antígeno (fase3) (Figura 13). Por último, se realizó una tinción nuclear de contraste con hematoxilina.

Tabla 11. Tipos de anticuerpos utilizados en el estudio.

Anticuerpo	Clonalidad	Dilución	Recuperación antigénica	Laboratorio*
P 53	Monoclonal BP53-12	1:50	Citrato/olla	Novocastra
VEGF	Policlonal A-20	1:300	EDTA/olla	Santa Cruz
CD 34	Monoclonal QBEnd/10	1:200	Sin tratamiento	Novocastra

\*Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA.

Figura 13. Procedimiento inmunohistoquímico utilizado en el estudio.



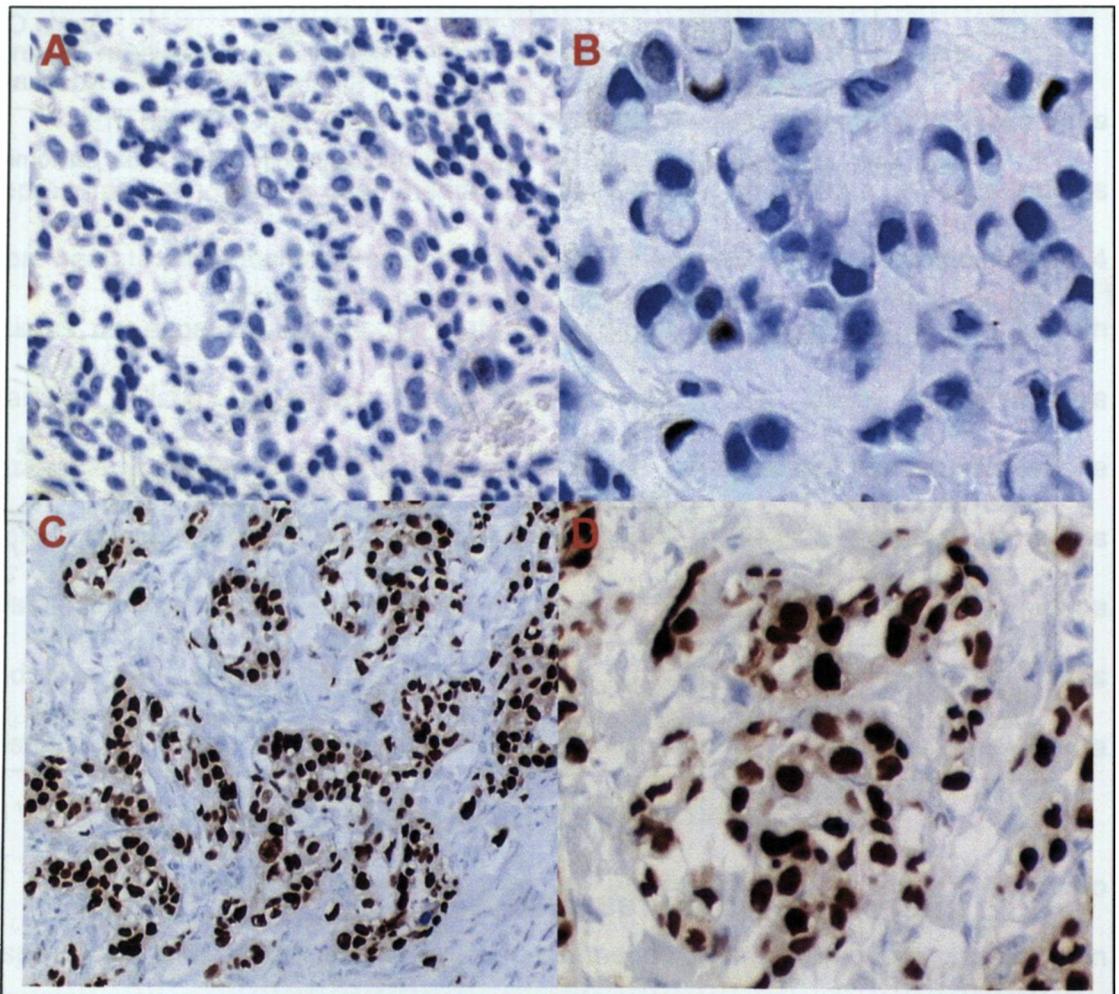
## 2.2. Interpretación de resultados.

### 2.2.1. p53.

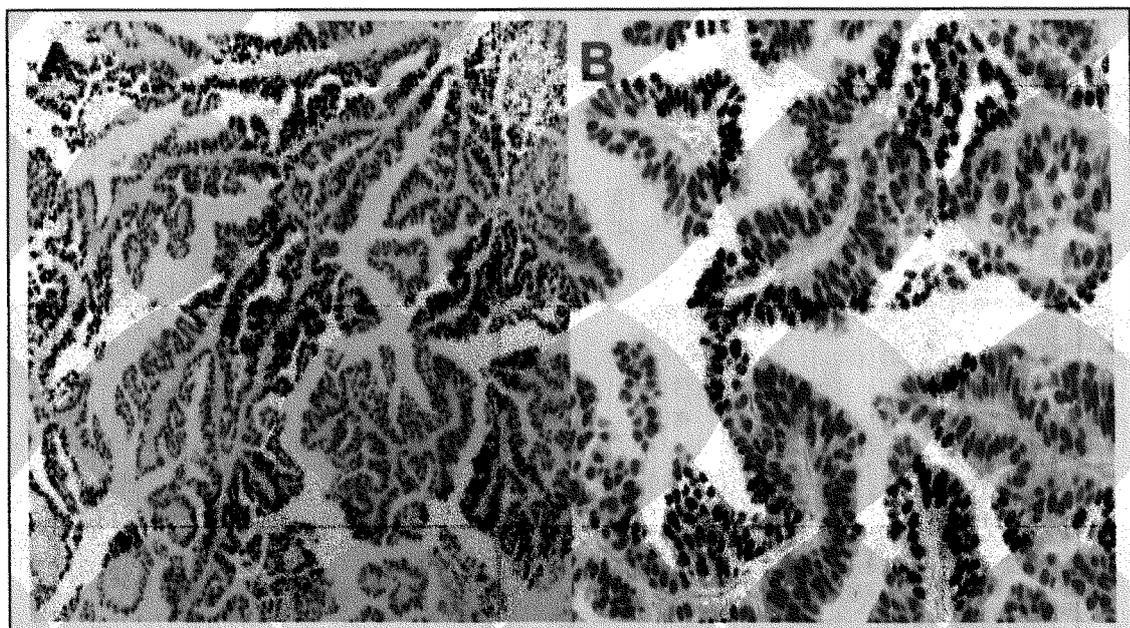
Su valoración se llevó a cabo cuantificando el porcentaje de células positivas. El inmunomarcaje es esencialmente nuclear, más raramente citoplasmático y excepcionalmente mixto.

La inmunoreactividad de la p53 en las células tumorales fue valorada como positiva cuando aparecía un patrón de tinción nuclear completa, bien fuera difuso o

granular y también se tuvo en cuenta el número de células con tinción positiva. Cuando el número de células positivas fue mayor al 10% se consideró el tumor como positivo, de acuerdo a la metodología generalmente utilizada por otros autores que han estudiado este parámetro en pacientes con cáncer gástrico<sup>328 329</sup>.



**Figura 14.** A, B: adenocarcinoma gástrico con células en anillo de sello que no expresan la p53. C, D: adenocarcinoma gástrico tipo difuso (nidos tumorales). Las células tumorales presentan núcleos irregulares con marcada expresión de la p53.

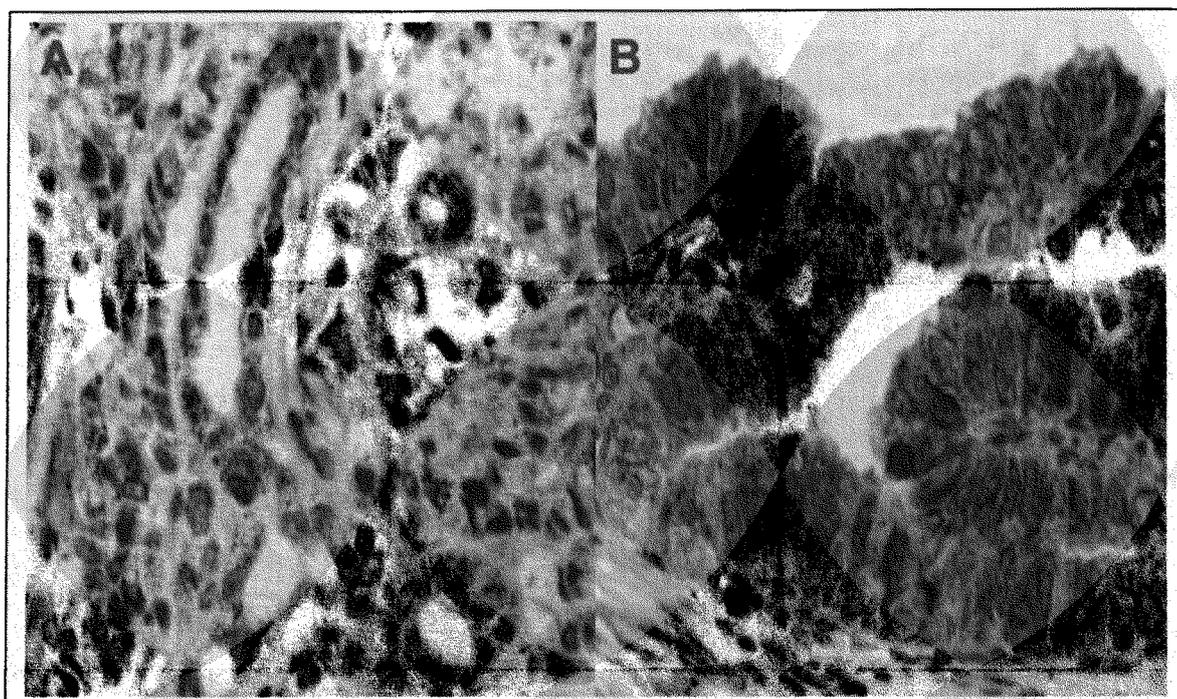


**Figura 15.** Adenocarcinoma tipo intestinal. A 100 aumentos (A), ya se visualiza el inmunomarcaje de la p53.

### 2.2.2. VEGF.

Su valoración se realizó de una manera semicuantitativa, en función de la positividad de la reacción. Los resultados se registraron de la siguiente manera: 0 (ausencia de positividad para las células tumorales); + (positivo débil); ++ (positivo fuerte).

El grado de tinción de las células para el VEGF fue considerado positivo cuando existía inequívocamente una tinción del citoplasma de las células tumorales y se evaluó sobre todo en los márgenes tumorales, lejos del centro tumoral, que podía ser necrótico, puesto que la hipoxia puede inducir la expresión del VEGF.



**Figura 16.** Distinto grado de tinción del citoplasma de células tumorales que expresan el VEGF: A (+), B (++).

### **2.2.3. Angiogenesis.**

La evaluación de la angiogenesis se ha realizado siguiendo las directrices del "Tumor Angiogenesis and Stroma Research Group" <sup>282</sup>.

Todas las preparaciones se examinaron en su totalidad a 100 aumentos para localizar las regiones yuxtatumorales e intratumorales que presentaban un marcaje intenso de las células endoteliales con el anticuerpo CD34. De este modo, las regiones que presentaron una fuerte densidad vascular fueron seleccionadas como "hot spots".

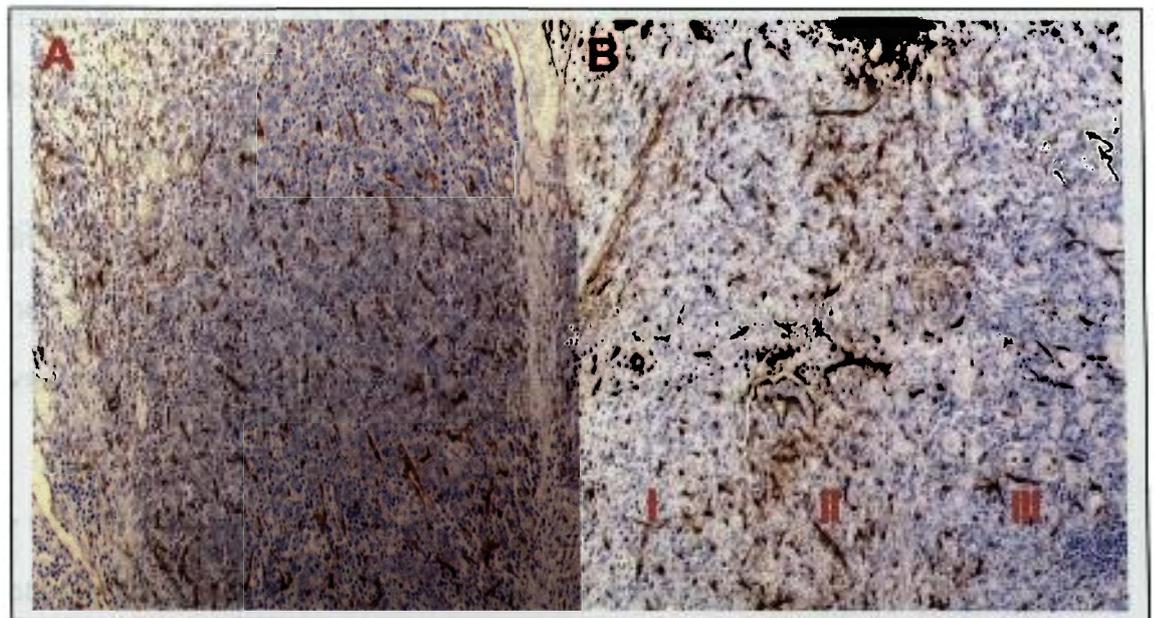
Cada "hot spot" volvió a ser examinado a 250 aumentos para realizar la cuantificación (objetivo de 25 aumentos y ocular de 10 aumentos). Todos los capilares, pero también cada célula endotelial aislada o grupo de células endoteliales, fueron consideradas como microvaso; es decir, la presencia de luz

capilar no fue indispensable para definir un microvaso. Las células inflamatorias positivas fácilmente reconocibles por su morfología fueron descartadas del recuento.

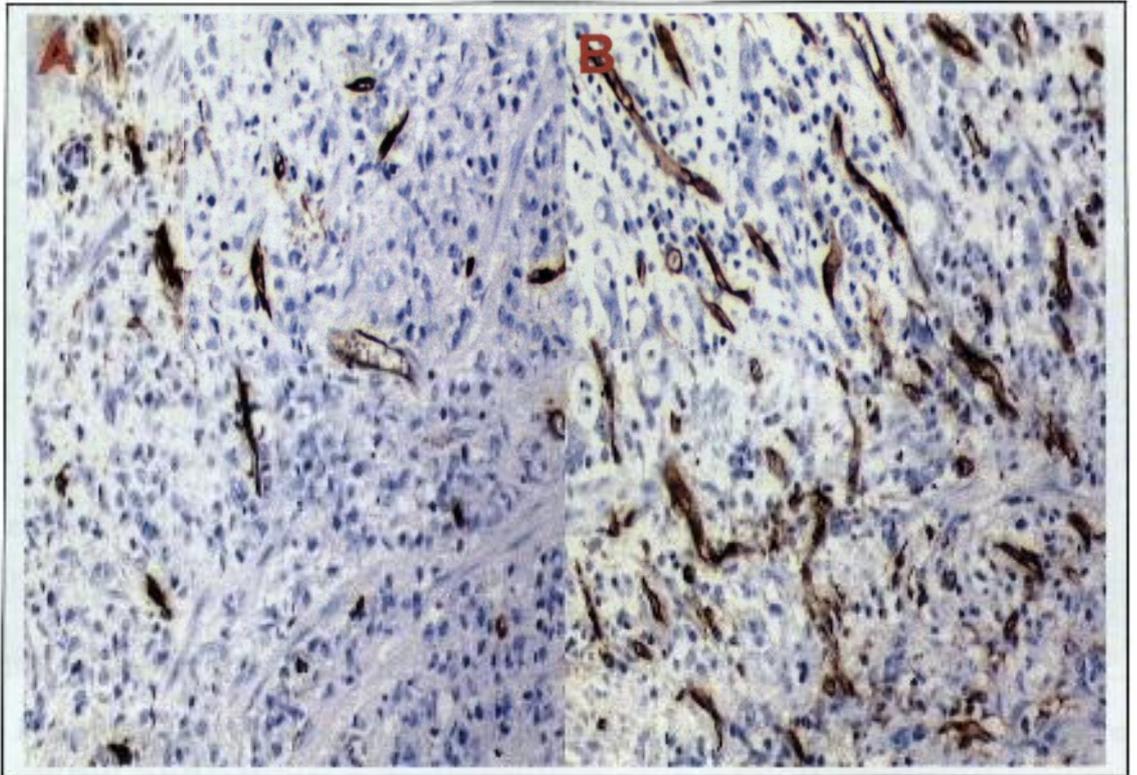
El resultado de la cuantificación de la angiogénesis para cada tumor fue expresado de la siguiente forma:

1. Densidad microvascular tumoral máxima: se definió por el número de vasos más elevado encontrado en uno de los "hot spots"
2. Densidad microvascular tumoral media: se estableció por el cálculo de la media aritmética de los valores obtenidos en cada uno de los "hot spots".

Todas las preparaciones se evaluaron por dos examinadores sin conocer los datos clinicopatológicos de los pacientes. Cuando existían discrepancias en la cuantificación con diferencias superiores al 10%, los casos fueron reevaluados de nuevo.



**Figura 17.** Identificación de borde externo de crecimiento tumoral a 40 (A) y 100 aumentos (B): I (estroma desmoplásico), II (zona de infiltración), III tumor.



**Figura 18.** Angiogénesis tumoral evaluada a 250 aumentos. Se aprecia que el grado de densidad microvascular (DMV) en el caso B es muy superior al A.

### 3. ESTUDIO ESTADÍSTICO.

Se han realizado análisis descriptivos de todas las variables en términos de media e intervalo de confianza del 95% de la media en las variables continuas. Para las variables categóricas se han utilizado número total de casos observados y porcentajes.

La relación entre p53 (definida como positiva cuando exista tinción en más del 10 % de las células tumorales), VEGF (definida como positiva cuando exista tinción, independientemente del grado de la misma) y angiogénesis (tratada como continua según número de vasos, y como categórica binaria cortando a 80 y a 100

microvasos) se ha evaluado mediante la prueba de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher cuando se han comparado proporciones; y se ha utilizado el test de Student cuando se han comparado las medias (la U de Mann-Whitney en caso de que la distribución no fuera normal). Además se ha realizado un análisis mediante el modelo de regresión logística binaria para estimar los riesgos de cada asociación, así como los intervalos de confianza (IC) al 95%.

El análisis de los factores asociados a la supervivencia (serie completa y serie de pacientes tratados con intención curativa) se ha realizado mediante la estimación de la función de supervivencia propuesta por Kaplan y Meier. Para comparar las funciones (curvas) de supervivencia se ha utilizado la prueba de "Log-Rank".

El riesgo de muerte según cada una de las variables consideradas en el estudio, así como los respectivos intervalos de confianza (IC) al 95%, se han estimado según el modelo de regresión de Cox univariante y multivariante, utilizando el método de "forward stepwise". El nivel de significación exigido para todas las comparaciones ha sido del 5%.

Todos los cálculos estadísticos se han realizado usando un sistema de software SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL).