UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación de la clasificación molecular del cáncer gástrico por inmunohistoquímica e hibridación in situ y su relación con la expresión de PD-L1 en pacientes del Hospital Universitario Nacional entre el 2016 - 2021

Yeinson Nabor Gallo Gomez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Patología

Bogotá D.C, Colombia

2021

Evaluación de la clasificación molecular del cáncer gástrico por inmunohistoquímica e hibridación in situ y su relación con la expresión de PD-L1 en pacientes del Hospital Universitario Nacional entre el 2016 - 2021

Yeinson Nabor Gallo Gomez

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Especialista en Patología Anatómica y Clínica

Director:

Doctor Oscar Andrés Franco Tavera

Línea de Investigación:

Tumores Sólidos

Grupo de Investigación:

Anatomopatología

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Patología

Bogotá D.C, Colombia

2021

A mi esposa, padres, hermanos y felinos que me acompañan en mi corta aventura.

"…. y en mi mente dije: la vida humana es corta y heme aquí sentado en lo alto mientras la luz se filtra suavemente por el vitral del techo revelando lo que debió y no debió ser. Suspiré profundo mientras se me escapaba un murmullo: Todo es culpa mía…"

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Yeinson Nabor Gallo Gomez

Fecha :

Agradecimientos

Inicialmente quiero agradecer a mi director de trabajo de grado, al Doctor Oscar Andrés Franco Tavera por su apoyo, colaboración y paciencia. A mi compañera la Dra. Vanessa Parra por sus aportes al análisis de los datos que dieron estructura básica a este trabajo. A Jenny Alexandra Pinilla por su excelente técnica histológica para la obtención de las muestras y a Dra. Jeny Amaya por su impecable y esmerada labor que permitió la interpretación de las muestras. A los integrantes del departamento de patología, por las correcciones e ideas brindadas, pues estos aportaron a la calidad de este trabajo. A mi esposa Salome Hinojosa Millán por su compañía y apoyo para poder lograr esta meta. A mis padres y hermanos que han alentado mi evolución académica. Por último, agradezco a todas las personas que me acompañaron durante este proceso directa o indirectamente y que estuvieron dispuestas a apoyarme cuando lo necesité.

Contenido

1. Justificación 3

2. Marco teórico 5
Epidemiología 5
Etiopatogenia 8
Factores de riesgo demográficos y ambientales 8
Factores de riesgo genético 14
Modelo histopatológico de la carcinogénesis gástrica 15
Mecanismos moleculares implicados en la carcinogénesis gástrica 17
Cáncer gástrico y clasificación molecular 18

3. Objetivos 23
Pregunta problema 23
Generales 23
Específicos 23

4. Metodología 24
Tipo de investigación 24
Población estudio 24
Criterios de inclusión 24
Criterios de exclusión 24
Manejo de variables 25
Selección y datos de pacientes 28
Dinámica de búsqueda 28
Obtención de datos sociodemográficos y clínicos 28
Técnicas y procedimientos 28
Análisis de muestras 28
Construcción de microarreglos de tejidos 29
Protocolo de inmunohistoquímica 31
Protocolo hibridización in situ 31
Evaluación de tinciones 32
Protocolo de evaluación de tinción PD L1 35
Procesamiento de datos 37

5. Consideraciones éticas 39

6. Resultados 40
Características clínicas e histopatológicas de los pacientes 40
Expresión de marcadores 48
Clasificaciones moleculares 53

7. Discusión 59

8. Conclusiones 64

9. Bibliografía 67

Resumen

Evaluación de la clasificación molecular del cáncer gástrico por inmunohistoquímica e hibridación in situ y su relación con la expresión de PD-L1 en pacientes del Hospital Universitario Nacional entre el 2016 – 2021

Introducción:

El cáncer gástrico sigue siendo una de las neoplasias malignas más comunes y letales en todo el mundo. Una mejor comprensión de los diferentes mecanismos moleculares del cáncer gástrico podría llevar a la individualización de blancos terapéuticos y garantizar su eficacia. De ahí la necesidad de uso de métodos simplificados para la subtipificación de este cáncer extrapolando la clasificación del AGC y el GAIC.

Objetivo:

Evaluar los subgrupos moleculares del carcinoma gástrico usando métodos de IHQ e HIS, basados en un panel de 4 marcadores (MLH1, E-cadherina, P53 y ARNm del virus de Epstein-Barr) y su relación con la expresión de PD L1 en una población colombiana.

Metodología:

Uso de microarreglos de tejido para la evaluación mediante IHQ e HIS en un grupo de muestras embebidas en parafina y clasificar estos según la clasificación del AGC, el GAIC y la clasificación integrada.

Resultados:

Se encontraron un total de 25 pacientes, que se distribuyeron según cada clasificación de la siguiente manera: clasificación integral: G1: 8 %, G2: 12 %, G3: 20 %, G4: 36 % y G5: 24 %; clasificación AGC: EBV: 8 %, MSI: 12 %, GS: 20 % y CIN 60 %; y clasificación GAIC: MSI: 12 %, MSS / EMT: 20 %, MSS/TP53-: 36 % y MSS/TP53+: 32 %. Se identifico 8 % de los casos tenían un puntaje PPC≥1 para PD-L1.

Conclusión:

Los algoritmos de subtipificación de cáncer gástrico son reproducibles y asequibles, permitiendo reproducir las clasificaciones AGC, GAIC e integradas de cáncer gástrico, utilizando técnicas disponibles en el diagnóstico de rutina.

Palabras clave: Neoplasias Gástricas, Patología Molecular, Inmunohistoquímica, Hibridación Fluorescente in Situ.

Abstract

Evaluation of the molecular classification of gastric cancer by immunohistochemistry and in situ hybridization and its relationship with the expression of PD-L1 and patients of the Hospital Universitario Nacional between 2016 and 2021

Introduction:

Gastric cancer remains one of the most common and lethal malignancies worldwide. A better understanding of the different molecular mechanisms of gastric cancer could help identify therapeutic targets and guarantee their efficacy. Hence the need to use simplified methods for the subtyping of this cancer, extrapolating the AGC and GAIC classification.

Objective:

The molecular subgroups of gastric carcinoma will be evaluated using IHC and HIS methods, based on a panel of 4 markers (MLH1, E-cadherin, P53 and Epstein-Barr virus mRNA) and their relationship with PD L1 expression. in a Colombian population.

Methodology:

Use of tissue microarrays for evaluation by means of IHC and HIS in a group of samples embedded in paraffin and classifying these according to the AGC, GAIC and integrated classifications.

Results:

A total of 25 patients were found, who were distributed according to each classification as follows: comprehensive classification: G1: 8 %, G2: 12 %, G3: 20 %, G4: 36 % and G5: 24 %; AGC classification: EBV: 8 %, MSI: 12 %, GS: 20 % and CIN 60 %; and GAIC classification: MSI: 12 %, MSS/EMT: 20 %, MSS/TP53-: 36 % and MSS/TP53+: 32 %. 8 % of cases having a PPC score≥1 for PD-L1 are identified.

Conclusion:

Gastric cancer subtyping algorithms are reproducible and affordable, reproducing AGC, GAIC, and integrated classifications of gastric cancer, using techniques available in routine diagnosis.

Keywords: Stomach Neoplasms, Molecular Pathology, Immunohistochemistry, In Situ Hybridization, Fluorescence.

Lista de figuras

Pág.

Figura 1 Interacción entre las respuestas del huésped, cambios en la mucosa gástrica y el medio ambiente durante la carcinogénesis gástrica..... 158
Figura 2 Mecanismo del eje PD-1/PD-L1 y tolerancia inmune en tumores …… 23

Figura 3 Construcción de microarreglos de tejido. 30
Figura 4 Corte de los microarreglos de tejido..... 31
Figura 5 Laminas obtenidas posterior a tinción de hematoxilina-eosina (a), inmunohistoquimica (b) e hibridizacion in situ (c). 32
Figura 6. Expresión de TP53: a) p53 mutado negativo. b) p53 mutado positivo. c) p53 silvestre débil..... 33
Figura 7 a) EBER negativo. b) EBER positivo..... 33
Figura 8.a) MLH1 mutado. b) MLH1 silvestre..... 34
Figura 9 a) E-cadherina positivo. b) E-cadherina negativo..... 34
Figura 10. Algoritmo diagnóstico según tinción de inmunohistoquímica. Clasificación integrada, AGC y GAIC..... 35
Figura 11 Gráfica de calor de patrones de distribución de sexo, tipo de tumor (clasificación de Lauren) y expresión de marcadores según la clasificación integrada, AGC y GAIC.... 40
Figura 12 Ubicación del tumor en el estómago 42
Figura 13 Clasificación Borrmann 42
Figura 14 Clasificación de Lauren..... 43
Figura 15 Clasificación de la WHO 43

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1 Factores de riesgo prominentes para los cánceres gástricos cardiales y no cardiales 11
Tabla 2 Principales clasificaciones moleculares del cáncer gástrico. 19
Tabla 3 Tabulación de variables 27
Tabla 4 Criterios de inclusión / exclusión del numerador de PPC 36
Tabla 5 Ubicación del tumor y tipo de procedimiento 41
Tabla 6 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con clasificación de macroscópica (clasificación de Borrman 44
Tabla 7 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con ubicación en estómago 44
Tabla 8 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con grado de diferenciación..... 45
Tabla 9 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con grado de la WHO. 45
Tabla 10 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con estado tumoral, ganglionar y metástasis (TNM). 46
Tabla 11. Conteo de ganglios (≥ 16 o <16) y su relación con el compromiso ganglionar (N). 47
Tabla 12 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con estadiaje AJCC 8. 47
Tabla 13 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) y patrones de expresión de inmunohistoquímica e hibridización in situ. 48
Tabla 14 Patrones de expresión de inmunohistoquímica e hibridización in situ, en relación con estadío tumoral AJCC 8. 51
Tabla 15 Distribución de los diferentes subtipos según la clasificación integrada en relación con los diferentes parámetros clinicopatológicos. 61
Tabla 16 Distribución de los diferentes subtipos según la clasificación AGC en relación con los diferentes parámetros clinicopatológicos. 56
Tabla 17 Distribución de los diferentes subtipos según la clasificación GAIC en relación con los diferentes parámetros clinicopatológicos..... 63
Tabla 18. Estudios que aplican la clasificación molecular del cáncer gástrico.....68

Lista de Símbolos y abreviaturas

AGC: Atlas del Genoma del cáncer.
AJCC: American Joint Committee on Cancer
ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero
Cag A: Gen A Asociado a la Citotoxina.
CCND1: Gen de la Ciclina D1
CDH1: Gen de la E-cadherin
CDK6: Ciclina dependiente de quinasa 6
CDKN2a: Inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 2A
CGHD: cáncer gástrico hereditario difuso
CIOMS: Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas
CTLA 4: Antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos
CTNNA1: Catenin alpha-1
EBER: ARN pequeños codificados por el Epstein Barr virus
ERGE: Reflujo gastroesofágico
FNT: Factor de necrosis tumoral
GAIC: Grupo Asiático de Investigación del cáncer
HER2: Receptor tirosina-proteína quinasa erbB-2
HIS:Hibridizacion in situ
IHQ: Inmunohistoquímica
MSI: Inestabilidad de microsatelites
LGALS4: Galectina- 4
LKB1: quinasa hepática B1 también conocida serina/treonina quinasa 11 (STK11)
MICs: Células inflamatorias mononucleares
MLH1: mutL Homology 1
MSH2: MutS, homolog 2
MSH6: MutS, homolog 6
MSS / TP53−: Estabilidad se microsatellites/p53 mutado
Myc: Familia de genes reguladores y protooncogenes, Myelocytomatosis
p53: Proteína supresora de tumores de 53 kilodalton
PAF: Poliposis adenomatosa familiar
PD-L1: Ligando 1 de muerte programada
PMS2: Post-Meiotic Segregation Increased 2
PNU: Polimorfismo de nucleótido único
PPC: Puntaje positivo combinado
RAS: Virus del sarcoma de rata
RTK: Receptor de tirosina quinasa
SIRT1: Sirtuína-1 desacetilasa dependiente de NAD
SETD2: Dominio que contiene SET 2
SPJ: Síndrome de Peutz-Jeghers

SWI/SNF: Switch/Sacarosa No Fermentable
TBS: Solución salina tamponada con Tris
TNM: sistema de estadificación tumor, ganglio linfático, metástasis
vacA: Citotoxina A vacuolizante
VEB: Virus Epstein Barr
VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular
WCRF/AICR: Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer y el Instituto Americano para la Investigación del Cáncer
WHO: Organización Mundial de la Salud

Introducción

Aunque la incidencia y la mortalidad han disminuido en las últimas décadas, el cáncer gástrico sigue siendo una de las neoplasias malignas más comunes y letales en todo el mundo. La resección quirúrgica es la única terapia posiblemente curativa, pero a la mayoría de los pacientes se les diagnostica una enfermedad avanzada por falta de síntomas específicos en la etapa temprana y pierden la oportunidad de ser llevados a manejo quirúrgico, lo que resulta en un mal pronóstico. Además, la quimioterapia es muy limitada y los blancos moleculares usados son escasos con pobre prolongación de la sobrevida. Una mejor comprensión de los diferentes mecanismos moleculares del cáncer gástrico podría llevar a la individualización de blancos terapéuticos y garantizar su eficacia (1-4).

El proyecto AGC y el GAIC han publicado sus emblemáticos sistemas de clasificación molecular para descubrir posibles objetivos terapéuticos del cáncer gástrico. Pero el alto costo y la complicada demanda técnica de la secuenciación del genoma es el cuello de botella para su uso generalizado en la clínica (5,6), y su uso se restringe a centros que cuenten con estas tecnologías, la mayoría destinados a la investigación y no a la aplicación rutinaria en la atención médica.

Por lo tanto, utilizar metodologías de menor complejidad, fácil acceso y menor costo que permitan evaluar perfiles de expresión de proteínas y ARNm para lograr la subtipificación

del cáncer gástrico, son necesaria para aproximarse a clasificaciones como las del AGC y el GAIC (7).

En los últimos años ha surgido una propuesta que se ha ejecutado en diferentes estudios a nivel del mundo, generando información descriptiva y valor pronóstico sobre perfiles de expresión de proteínas y ARNm en estos tumores de una manera más asequible, menos compleja y de uso habitual en los laboratorios de patología. De ahí la necesidad de replicar estas metodologías en distintas poblaciones, con el fin de validar su utilización de rutina en esta patología (7).

Estos datos de las clasificaciones moleculares son poderosos y prometedores. Toda esta nueva información ayuda en el diseño de futuros ensayos clínicos y en el desarrollo de nuevos medicamentos para terapias personalizadas en el cáncer gástrico, mejorando los desenlaces en los pacientes. Además, también debería ayudar a redefinir los biomarcadores para distinguir aquellos que se beneficiarían de tratamientos específicos de los que no lo harían. Esto aumentaría la rentabilidad de los medicamentos recientemente desarrollados y evitaría toxicidades innecesarias (7).

1. Justificación

El cáncer gástrico es una de las principales causas de muerte relacionada con el cáncer en todo el mundo (1). Debido a la falta de síntomas y signos específicos en la etapa temprana, la mayoría de los pacientes son diagnosticados en etapas avanzadas, lo que afecta severamente el pronóstico de los pacientes (2). Aunque ha habido avances considerables en la terapéutica diversificada en las últimas décadas, la tasa de supervivencia a 5 años después del tratamiento con intención curativa todavía es inferior al 40 % (3). Este resultado decepcionante generalmente es causado por la capacidad limitada para definir subpoblaciones en una cohorte heterogénea de pacientes con cáncer gástrico para terapia individualizada diferencial. Los adenocarcinomas gástricos se han dividido tradicionalmente en subtipos intestinales y difusos según la clasificación de Lauren con base en las características histológicas de los tumores (4), pero esta clasificación está lejos de revelar las alteraciones moleculares que definen la biología compleja y diversa del cáncer gástrico.

A pesar de la importante carga de enfermedad, en Colombia no existe ningún programa de control y prevención del cáncer gástrico, ni tampoco es priorizado como un problema de salud pública. Los trabajos de investigación existentes demuestran que la mayoría de los pacientes con cáncer gástrico presentan estadios avanzados cuando se diagnostica y esto se traduce en cifras muy bajas de supervivencia (8). Por lo cual pruebas complementarias de bajo costo, rápida ejecución y fácil interpretación, permitirían ampliar un poco las opciones terapéuticas para el paciente.

Recientemente, el AGC ha propuesto una subtipificación molecular de los adenocarcinomas gástricos basado en la presencia del virus de Epstein-Barr (VEB), inestabilidad de microsatélites (MSI), estabilidad genómica (GS) e inestabilidad cromosómica (CIN) (5). La mayoría de los tumores con GS tienen histología difusa, mientras que los otros subgrupos contienen predominantemente tumores de tipo intestinal. Una clasificación alternativa ha sido propuesta por el GAIC, la cual discrimina los adenocarcinomas gástricos en tumores con MSI, tumores con estabilidad de microsatélites que muestran transición epitelio mesenquimal (MSS / EMT), tumores con MSS con actividad intacta de TP53 (MSS / TP53 +) y tumores con MSS con pérdida funcional de TP53 (MSS / TP53−) (6). Estos sistemas de clasificación han proporcionado información valiosa sobre la variabilidad en las características biológicas entre los adenocarcinomas gástricos. En lugar de considerar el cáncer gástrico como una enfermedad única, también ha quedado claro que, al explorar nuevas terapias contra el cáncer, se deben realizar estudios entre grupos definidos de pacientes cuyos tumores tienen anomalías genómicas específicas. Hasta la fecha en la

práctica clínica, el HER2 es el único biomarcador predictivo para la terapia dirigida utilizada actualmente para la selección de pacientes en cáncer gástrico (7).

A pesar de que dichas clasificaciones pueden ampliar en gran medida nuestros conocimientos sobre la naturaleza molecular oculta del cáncer gástrico, la demanda de tecnologías de análisis de alto rendimiento costosas y sofisticadas obviamente no son aplicables para el diagnóstico clínico de rutina. Para superar esto, se han propuesto algunos métodos más directos logrando clasificar a la enfermedad en los 5 subgrupos usando métodos de IHQ e HIS, basados en un panel de 7 marcadores (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, E-cadherina, P53 y ARNm del virus de Epstein-Barr) (3, 7, 9-14). Sin embargo, estos marcadores se han ajustado a tan solo 4, específicamente reduciendo el número de moléculas evaluadas para inestabilidad microsatelital, ya que en el carcinoma gástrico, la hipermetilación del promotor MLH1 se encuentra hasta en el 90 % de estos tumores, mientras que la ausencia de las otras proteínas del sistema MMR son menos frecuentes (3, 7, 9-14).

Aunque los marcadores y los estándares de evaluación adoptados por los estudios que ejecutaron estas metodologías son casi uniformes (3, 7, 9-14), la utilidad clínica mediante esta metodología de detección proteína y expresión de ARNm (3), justifica un mayor desarrollo del modelo, el cual se nutre de los datos descriptivos y las validaciones hechas en otras poblaciones. Por lo cual, la realización de un estudio en nuestro medio es necesario, considerando las limitaciones técnicas para acceder a recursos como la secuenciación del ADN, ARN y exoma completo, el análisis de la variación del número de copias y matrices de metilación del ADN, pero donde hay un acceso a métodos como la IHQ y el HIS en gran parte de los laboratorios de patología.

Además, académicamente un estudio de este tipo realizado en conjunto el Hospital Universitario Nacional y la Universidad Nacional de Colombia, permite visibilizar ante la comunidad médica y científica colombiana, la gravedad de esta enfermedad en la población. Además del aporte que puede dar la institución en el uso de metodologías que procuren por buscar un mejor tratamiento de nuestros pacientes.

2. Marco teórico

Epidemiología

A pesar de que la incidencia y la mortalidad por cáncer gástrico han disminuido en los últimos 50 años en la mayoría de los países occidentales, sigue siendo según las estadísticas del GLOBOCAN 2020 el quinto cáncer más común, con 1’089.103 casos nuevos y la cuarta causa principal de muerte relacionada con el cáncer en ambos sexos en todo el mundo después del cáncer de pulmón, colorrectal e hígado, con un total de 768.793 muertes, representando un 7,7 % del total de muertes por cáncer en 2021 (1); a diferencia de los datos del 2008 donde fue el cuarto más común con 989.000 nuevos casos y la segunda causa de muerte con un total de 738.000 muertes, 9,7 % del total de muertes (16). La incidencia del cáncer gástrico varía sustancialmente en todo el mundo, siendo la más alta observada (más de dos tercios) en Asia oriental, Europa oriental y la región andina de América del Sur, mientras que América del Norte, Europa del Norte y África del Norte y del Este muestran las tasas más bajas registradas (1,17). Por ejemplo, las tasas anuales de incidencia de cáncer gástrico estandarizadas por edad por 100.000 habitantes en hombres pueden llegar a ser de tan altas como del 57,8 en Corea y tan bajas del 3,1 en Egipto(18). Se ha dicho que más del 70 % de los casos se producen en países en desarrollo, y la mitad de los casos en todo el mundo se producen en Asia oriental, en particular China con 456.124 de los casos (19). En Colombia la tasa anual de incidencia estandarizada por edad por 100.000 habitantes, en hombres es de 15,8 y en mujeres de 7 (1).

Las tasas de mortalidad estimadas más altas se encuentran en Asia oriental (21,1 por 100.000 en hombres, 8,8 por 100.000 en mujeres), las más bajas en América del Norte (2.3 y 1.3, respectivamente) (1). Los países Latinoamericanos, las naciones de Europa Central y Oriental y Asia Oriental muestran algunas de las tasas de mortalidad más altas en ambos sexos en todo el mundo (1,19), la tasa más alta se encuentra en Mongolia (36,5 por 100,000 en hombres y 15,2 por 100,000 en mujeres) (1,16). Las mayores tasas de mortalidad en estas regiones geográficas son el reflejo de una mayor carga de enfermedad debido a las mayores tasas de incidencia (19). Cabe destacar que, aunque los hombres coreanos y japoneses se clasifican como los que tienen las tasas de incidencia más altas (la tercera y la segunda respectivamente para el cáncer gástrico a nivel mundial), ocupan los lugares 13 y 33, respectivamente, en términos de tasas de mortalidad. Una tendencia similar se puede ver para las mujeres en estos dos países (1). En países como Colombia la tasa de mortalidad anual en hombres es de 11 y en mujeres 4,9 por 100 000 habitantes (1).

El cáncer gástrico fue la causa más común de mortalidad relacionada con el cáncer en todo el mundo hasta mediados de los años noventa (20). La disminución temporal en las tasas de incidencia de cáncer gástrico en los últimos 50 años en el mundo se ha atribuido a la reducción de la infección por H. pylori en las nuevas cohortes, que está relacionada con el cambio en el entorno infantil, prácticas mejoradas de conservación de alimentos como el uso de la refrigeración en lugar de la sal y una mejor nutrición debido a que frutas y verduras están cada vez más disponibles, lo que disminuye el uso de alimentos salados y ahumados (4, 21). La incidencia de cáncer disminuye en todo el mundo a una tasa de 2 % a 3 % por año (4). Las tasas de incidencia de cáncer están disminuyendo en Asia oriental debido a una reducción de las infecciones por H. pylori. Sin embargo, en Latinoamérica esta campaña no es igualmente de efectiva, y es probable que la incidencia del cáncer gástrico no disminuya considerablemente en el futuro inmediato (21). Por otro lado, a pesar de que se espera una disminución en la tasa de cáncer gástrico, la predicción del GLOBOCAN 2020 asegura para el 2040 que la incidencia estimada será de 1’810.870 casos a nivel mundial, y en países como Colombia la expectativa es que los casos casi se duplique para esa fecha (8.214 a 14.834 casos) (1).

Debido a que la enfermedad se vuelve sintomática en una etapa avanzada, hace que el diagnostico sea tardío y las opciones de tratamiento sean limitadas (2). Actualmente las tasas de supervivencia del cáncer gástrico han mejorado de manera constante en los últimos 40 años gracias a una detección más temprana y a la introducción de nuevos enfoques de tratamiento, incluida la inmunoterapia, sin embargo, esta última ha tenido un efecto limitado en el pronóstico de la mayoría de los pacientes con cáncer gástrico, y la tasa de supervivencia a 5 años del cáncer gástrico fluctúa entre un 10 a 30 % (2,16,20).

Cuando se revisa sobre el manejo de esta patología, la resección endoscópica es un método crítico en el tratamiento del cáncer gástrico temprano. Mientras que, en el cáncer gástrico avanzado, generalmente se basa en la cirugía y se complementa con quimioterapia (22). La quimioterapia combinada es el tratamiento de primera línea para pacientes con cáncer gástrico avanzado, y tienen efectos curativos sobre el cáncer gástrico. Aunque se han hecho enormes progresos en la quimioterapia, el pronóstico general sigue siendo pobre (23). Además, un número cada vez mayor de pacientes que inicialmente eran sensibles a la quimioterapia adquirieren gradualmente resistencia a los medicamentos durante el tratamiento, lo que limita la aplicación adicional de quimioterapia. Reciente, se ha aprobado terapias dirigidas contra HER2 y VEGFR para el tratamiento del cáncer gástrico avanzado, cuyos resultados son una supervivencia general a 5 años del 20 % al 30 % (24), sin alcanzar un gran impacto debido a que la mayoría de casos no son candidatos a esta terapia.

Así que la detección temprana del cáncer es importante, se ha visto que la tasa de supervivencia a 5 años para el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico premetastásico es del 67 %. Por esto, países que realizan la vigilancia del cáncer gástrico, como Japón y Corea, tienen tasas de mortalidad más bajas, lo que refleja tasas más altas de detección

del cáncer gástrico temprano. Por ejemplo, la tasa de supervivencia a cinco años es relativamente buena en Japón, donde alcanza el 90 % en estadios I y II, probablemente debido al diagnóstico temprano mediante exámenes endoscópicos y la resección temprana consecutiva del tumor (2, 18). Hallazgos similares se observan en las estadísticas nacionales de Estados Unidos, donde las tasas de supervivencia a 5 años para los tumores en estadio IA y IB tratados con cirugía son del 94 % y 88 %, respectivamente, por otro lado, los tumores en estadio IIIC tratados con cirugía tuvieron una tasa de supervivencia a 5 años del 18 % (20). En Colombia, la supervivencia neta a cinco años es inferior al 15 % (25).

Otro punto que es importante mencionar, es la relevancia en la distinción entre los adenocarcinomas que surgen en el cardias y otras partes del estómago, ya que tienen diferentes patrones y causas epidemiológicas (18). Ha habido informes que indican que la incidencia de cánceres gástricos del cardias está en aumento o ha permanecido invariable. Esto contrasta con la tendencia observada en la incidencia general de cáncer gástrico, se dice que hasta el 90 % de los casos de cáncer gástrico distal son atribuibles a H. pylori, lo que explica por qué la incidencia de ese subtipo de cáncer gástrico ha disminuido a medida que bajan las tasas de infección, pero se ha observado que los cánceres gástricos del cardias se han multiplicado hasta siete veces, especialmente en el mundo desarrollado (20). La tendencia al alza de los cánceres gástricos del cardias se ha informado en poblaciones de países con tasas generales altas de cáncer gástrico (como Japón y China), así como en poblaciones donde tienen tasas generales bajas de cáncer gástrico (como Dinamarca y los Estados Unidos). Un factor de riesgo importante para el cáncer del cardias es la obesidad, y la mayor tasa de prevalencia de la obesidad, especialmente en los países desarrollados, podría ser un factor contribuyente para este aumento en la tasa de incidencia (18, 21). Finalmente, las mejoras en la clasificación de los tumores del estómago podrían haber contribuido a un aumento aparente de la tasa de adenocarcinoma gástrico del cardias (18).

En cuanto a la histología, el uso de la clasificación de Lauren que subdivide el cáncer gástrico en difuso (no diferenciado) o intestinal, permite no solo diferenciarlos histomorfológicamente, sino además agruparlos clínicamente. Por ejemplo, el tipo difuso ocurre en todos los grupos de edad con igual distribución de género, a diferencia del tipo intestinal, que predomina en hombres (proporción 2: 1) (4) y personas mayores. El tipo difuso involucra el cuerpo o todo el estómago, mientras que el tipo intestinal se presenta predominantemente en el antro y la incisura. Además, el tipo difuso tiene una mayor tendencia a presentar un patrón de invasión tipo linitis plástica y a metastatizarse, con una progresión más rápida de la enfermedad y un pronóstico peor. Aunque ambos subtipos están relacionados con infección H. pylori, el de tipo intestinal se asocia con una cascada de eventos que inicia con la gastritis atrófica / metaplasia intestinal hasta la displasia y luego el adenocarcinoma, mientras que el tipo difuso surge sin seguir dicha cascada.

Se ha observado que, en consonancia con la disminución general de la incidencia del cáncer gástrico en las últimas décadas, ha habido una disminución global en la incidencia del cáncer gástrico de tipo intestinal. Sin embargo, la disminución en el tipo difuso ha sido más gradual. En algunas series, aunque el cáncer gástrico de tipo intestinal se mantiene como el subtipo predominante, la proporción relativa de cáncer de tipo difuso ha aumentado

en el transcurso de tiempo (26-30), por ejemplo, en Estados Unidos, las cifras para el tipo intestinal han disminuido en un 2,4 % al año; pero para la variante difusa, han aumentado un 3,6 % al año (30), sin embargo, esto no se observado en todos los estudios (31, 32). Las razones de este aumento relativo en la proporción de cáncer de tipo difuso son especulativas. Dadas las diferencias en el proceso de carcinogénesis, se había postulado que el cambio podría ser el resultado de una disminución en la tasa de gastritis crónica severa o debido a cambios en los factores carcinogénicos ambientales en algunas poblaciones (21).

Etiopatogenia

El 95 % de los cánceres de estómago son adenocarcinomas, seguidos de linfoma gástrico primario. Estos adenocarcinomas se dividen en los que se originan en el cardias y los distales (no cardiales) según su sitio anatómico. Los cánceres distales son asociados a gastritis crónica, inflamación del revestimiento del estómago que puede ser causada por una variedad de factores ambientales. La patogenia del cáncer del cardias no está clara, aunque se han propuesto dos etiologías distintas: una está asociada con la enfermedad por reflujo gastroesofágico y se asemeja al adenocarcinoma esofágico, y la otra se asocia con la gastritis atrófica por H. pylori y se parece al cáncer distal (20).

Estos cánceres se dividen histológicamente en la categoría intestinal o difusa. El tipo intestinal es el más común, con la mayor incidencia entre los hombres mayores, pero también tiene un mejor pronóstico, mientras que el tipo difuso afecta a las personas más jóvenes y con frecuencia a las mujeres (20).

Los factores de riesgo asociados exclusivamente con el cáncer gástrico del cardias incluyen la obesidad y el reflujo gastroesofágico, mientras que la infección por H. pylori, el bajo nivel socioeconómico y los factores dietéticos son factores de riesgo exclusivos del cáncer gástrico distal (20). Por lo tanto, el cáncer gástrico se presume, surge como consecuencia de una interacción compleja entre los factores del huésped, los factores ambientales y la infección H. pylori (21).

Factores de riesgo demográficos y ambientales

El cáncer gástrico es una enfermedad multifactorial, y tanto los factores ambientales como los genéticos tienen un papel en su etiología. Algunos de estos factores de riesgo, como la edad y el sexo, no son modificables, mientras que otros como el tabaquismo y la infección por H. pylori pueden serlo (18). Las variaciones geográficas en la incidencia y la mortalidad de cáncer gástrico pueden estar relacionadas con diferencias en los factores de riesgo, como por ejemplo la tasa de prevalencia de la infección por H. pylori. Los estudios de

migración han demostrado que los migrantes de primera generación de países con una alta incidencia de infección por H. pylori cuando se reubican en países con tasas de incidencia bajas tienen riesgos similares a los del país de origen, pero la tasa de incidencia tendió hacia la del país receptor en las generaciones posteriores, lo que sugiere el importante papel de los factores de riesgo ambientales (1,21).

Los factores de riesgo para los cánceres que surgen del cardias y los distales del estómago pueden ser diferentes (Ver tabla 1). Los factores de riesgo comunes a ambos tipos de cáncer gástrico incluyen la edad avanzada, el sexo masculino, el tabaquismo, la radiación y los antecedentes familiares. La ingesta de aspirina y estatinas puede prevenir contra estos dos tipos de cáncer. Si bien la raza es un factor de riesgo para cada uno, esta puede variar según el sitio, por ejemplo, en los Estados Unidos es más probable que la población blanca presente cáncer gástrico cardial, mientras que en hispanos es más frecuente la presentación distal. Los factores asociados con los canceres gástricos cardiales, incluyen la obesidad y la enfermedad por reflujo gastroesofágico. Por otro lado, los factores de riesgo para los no cardiales incluyen la infección por H. pylori (al menos en los países occidentales), el bajo nivel socioeconómico (23), y quizás factores dietéticos como el bajo consumo de frutas y verduras y el alto consumo de alimentos salados y ahumados (Ver Tabla 1).

Tabla 1 Factores de riesgo destacados para los cánceres gástricos cardiales y no cardiales (1, 18, 21, 23)

Factores de riesgo para el cáncer gástrico	
Cardial	**No cardial**
Edad	Edad
Sexo masculino	Sexo masculino
Fumar tabaco	Fumar tabaco
Raza	Raza
Historia familiar	Historia familiar
Actividad física	Actividad física
Ingesta de fibra	Ingesta de fibra
Radiación	Radiación
-	*H. pylori*
-	Bajo estatus socioeconómico
-	Alta ingesta de alimentos salados y ahumados.
-	Bajo consumo de frutas y verduras.
Obesidad	**-**
Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE)	**-**

Edad

El riesgo de cáncer gástrico es muy bajo en la edad temprana y aumenta gradualmente con el tiempo, alcanzando una meseta entre 55 y 80 años (según la interacción variable de diferentes factores de riesgo) (4,18,33). Aproximadamente 6 de cada 10 personas diagnosticadas con cáncer de estómago cada año tienen 65 años o más. Pero se ha observado en algunas poblaciones como en China y algunos países africanos edades de presentación más tempranas (4).

Sexo

Los hombres tienen un mayor riesgo de cáncer gástrico del cardias (5 veces) y distal (2 veces) (18). Las razones de tales diferencias no están claras, y tal vez las exposiciones ambientales u ocupacionales pueden jugar un papel. Alternativamente, diferencias fisiológicas por sexo, como los estrógenos, que pueden proteger contra el desarrollo de cáncer gástrico (18,20). Estas hormonas pueden proporcionar protección contra el cáncer gástrico durante los años fértiles de las mujeres, pero su efecto disminuye después de la menopausia (34,35). Entre los hombres, es el cáncer más comúnmente diagnosticado y la principal causa de muerte por cáncer en varios países de Asia occidental, incluidos Irán, Turkmenistán y Kirguistán (1).

Raza

Comparando a los blancos con otros grupos raciales, el cáncer gástrico del cardias es aproximadamente dos veces más común mientras que el distal es aproximadamente la mitad (18). En los Estados Unidos, la incidencia es relativamente baja, particularmente en la raza blanca, con una tasa de incidencia estimada por 100.000 habitantes de 7,8 y 3,5 en hombres y mujeres blancos no hispanos, respectivamente; pero se puede observar tasas más altas en otras razas en el mismo país, como por ejemplo en la población de latinos (13,9 por 100.000 en hombres y 8,2 por 100.000 en mujeres) (18). El riesgo de cáncer gástrico distal en los Estados Unidos es más alto entre los asiáticos / isleños del Pacífico, la población negra, seguido por los hispanos, y es menos común en los blancos (1,18,36). Sin embargo, estas variaciones no pueden considerarse simplemente como relacionadas con la etnicidad, debido a las disparidades superpuestas en el estado socioeconómico, que también está inversamente relacionada con la prevalencia de H. pylori y el riesgo de cáncer gástrico. Por lo tanto, la asociación de la raza con la incidencia de cáncer gástrico parece estar mediada principalmente a través de efectos ambientales, en lugar de variaciones genéticas (18).

Estatus socioeconómico

El bajo estatus socioeconómico es per se una variable adversa que aumenta el riesgo de malignidad gástrica (37,39). El cáncer gástrico y sus lesiones precursoras se han asociado con marcadores de bajo estatus socioeconómico, que incluyen educación baja y bajos ingresos. Las tasas más altas de infección por H. pylori, una mayor ingesta de alimentos

ricos en almidón o un menor acceso a alimentos frescos y vegetales pueden ser responsables de la asociación entre un bajo estatus socioeconómico y un mayor riesgo de cáncer gástrico. La prevalencia de H. pylori, particularmente las cepas CagA-positivas, es sustancialmente mayor en los grupos de bajos ingresos y puede contribuir a un mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico (18).

Sin embargo, hay regiones geográficas, como África, países de Asia (por ejemplo, India) y Latinoamérica (Colombia y Costa Rica), donde a pesar del estatus socioeconómico bajo y tasas de seroprevalencia para la infección por H. pylori altas, las tasas de incidencia de cáncer gástrico son bajas. Este fenómeno que inicialmente se observó en África y que se conoce como el “enigma africano”, refleja la interacción de varias fuerzas etiológicas principales: el potencial oncogénico de las cepas específicas de H. pylori, la modulación por coinfecciones de la respuesta inmune hacia un tipo Th 2 (respuesta que se asocia a menor grado de atrofia), la abundancia de micronutrientes antioxidantes en la dieta y polimorfismos genéticos en citoquinas proinflamatorias. La modulación inmune por coinfección, probablemente helmintos, juega un papel prominente en África y en América Latina. La abundancia de micronutrientes antioxidantes parece ser un factor dominante en la India. El efecto combinado de estos factores es claro en América Latina, pero lo más probable es que ocurra en otras poblaciones (39).

Consumo de cigarrillo

Si bien los estudios varían, en general, los datos acumulados sugieren que fumar es un factor de riesgo tanto para el cáncer gástrico del cardias como para el distal (18). Se ha demostrado que el riesgo de cáncer gástrico aumenta en un 60 % en hombres y en un 20 % en mujeres fumadoras en comparación con no fumadores (40). Se estima que el 11 % de los cánceres gástricos globales y el 17 % de los casos en Europa son atribuibles al hábito de fumar (20,41).

Helicobacter Pylori

Esta bacteria fue descubierta en 1983 por Warren y Marshall (Premio Nobel en 2005) y no fue hasta 1994 cuando se clasificó como carcinógeno de grado I. La evidencia epidemiológica actual sugiere que la infección generalmente se adquiere durante la infancia (4). Investigaciones significativas en las siguientes dos décadas establecieron a H. pylori como una causa incontrovertible de cáncer gástrico, con un riesgo relativo de aproximadamente 6 veces para carcinoma gástrico distal. Ciertos tipos de H. pylori, particularmente aquellos positivos para Cag +, Vac + tipo s1 y m1 son más agresivos y cancerígenos que los otros tipos y la asociación es más fuerte con cáncer gástrico (4,18). VacA es una proteína citotóxica, codificada por el gen vacA, que induce a formación de vacuolas en células epiteliales que dañan dichas células. Todas las cepas de H. pylori producen dicha proteína, pero su expresión varía con base en polimorfismos existentes en sitios específicos de la secuencia del gen. Por su parte, las cepas CagA positivas producen una proteína codificada por el gen cagA, localizado en una región del genoma bacteriano conocida como la isla de patogenicidad (PAI). Las cepas portadoras de PAI poseen un sistema de secreción tipo IV que funciona como aguja y permite "inyectar" la proteína CagA

en el citoplasma de las células epiteliales del estómago. Una vez translocada al citoplasma, CagA es fosforilada y, en ese estado, desencadena una serie de eventos celulares como, por ejemplo, rearreglos del citoesqueleto celular, inducción de la expresión de citoquinas proinflamatorias, inducción de la proliferación celular y activación de oncogenes entre otros. Aunque los genes vacA y cagA no guardan relación entre sí, a menudo son coexpresados. El riesgo de desarrollar ciertas lesiones gástricas precancerosas y cáncer gástrico es aún mayor en personas infectadas con cepas que coexpresan genotipos específicos de ambos genes (42).

Se ha demostrado claramente que la prevalencia de la infección por Helicobacter pylori varía entre los países desarrollados (menos del 40 %) y los países en desarrollo (80 % - 90 %) probablemente debido a las condiciones socioeconómicas y la higiene (4). La infección por esta bacteria esta implicada en el desarrollo de cáncer gástrico especialmente por dos vías:

1) la acción indirecta de H. pylori en las células epiteliales gástricas al causar inflamación y la acción directa de las bacterias en las células epiteliales.

2) El Helicobacter pylori también podría modular directamente la función de las células epiteliales a través de agentes bacterianos, como el CagA.

Aunque la relación entre las dos vías no está clara, ambas vías parecen trabajar juntas para promover el desarrollo de cáncer gástrico (18). Por esta razón, se ha estimado como la causa del 65 % al 80 % de todos los casos de cáncer gástrico. Estos números pueden ser subestimados, ya que la mayoría de los estudios epidemiológicos han usado ELISA para evaluar la infección por H. pylori, un método que no es lo suficientemente sensible para este propósito. Es importante decir que, en los países occidentales el Helicobacter pylori es un factor de riesgo importante solo para el no cardial, pero no para los de ubicación cardial (18), y la disminución de la prevalencia de H. pylori, debido a un mejor saneamiento y al uso extensivo de antibióticos, puede ser una de las principales razones del rápido descenso en la incidencia de cáncer gástrico no cardial en estas áreas.

Dietarios

El WCRF/AICR ha concluido que "La sal, y también los alimentos conservados en sal, son probablemente las causas de cáncer gástrico". Los estudios epidemiológicos y experimentales han apoyado esta hipótesis (18,43,44). La sal puede aumentar el riesgo de cáncer gástrico por daño directo a la mucosa que resulta en gastritis u otros mecanismos (18).

El papel de los alimentos ahumados en la carcinogénesis gástrica se sugirió a principios de 1960. Esto debido al contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos que se han

asociado a carcinogénesis gástrica, especialmente en países con alto consumo de productos de este tipo (18). Además, ciertas prácticas de cocción como asar en la parrilla, hornear y freír carnes, secar al sol, curar y conservar en vinagre, debido al aumento de compuestos N-nitroso (4,18).

Se ha demostrado que el consumo de alcohol aumenta el riesgo de cáncer gástrico, pero el efecto de la cantidad de alcohol consumido y el riesgo de cáncer gástrico ha sido controvertido. Sin embargo, hay una asociación positiva de cáncer gástrico con el consumo excesivo de alcohol (4).

El WCRF / AICR en 2007 comentó que "Las verduras sin almidón, incluidas específicamente las verduras allium (cebollas, puerros, ajos), así como las frutas, probablemente protegen contra el cáncer gástrico", ya que son fuentes ricas en vitamina A, C y E, ácido fólico, carotenoides y fitoquímicos, que pueden inhibir la carcinogénesis al modular las enzimas metabolizadoras de xenobióticos (4,18). Por otro lado, la ingesta de vitaminas y antioxidantes para prevenir cáncer, en los ensayos aleatorizados bien realizados generalmente han demostrado muy poco o ningún beneficio en su uso para prevenir el cáncer gástrico. Sin embargo, la suplementación dietética puede desempeñar un papel preventivo en poblaciones con altas tasas de cáncer gástrico y baja ingesta de micronutrientes (18).

Obesidad

La obesidad es un problema creciente en las sociedades modernas y se ha asociado con una gama de enfermedades, incluido el riesgo de cáncer gástrico, especialmente en hombres y en poblaciones no asiáticas, en particular con cáncer del cardias (4). Se han propuesto varios mecanismos, como que la grasa abdominal puede causar directamente reflujo gastroesofágico. Además, la grasa es metabólicamente activa y produce numerosos productos, como la adiponectina y leptina, factor de crecimiento similar a la insulina, esteroides sexuales y glucocorticoides, marcadores inflamatorios relacionados con la obesidad y estrés oxidativo, que se han asociado con tumores malignos, posiblemente a través de la inducción de cambios pro-crecimiento en el ciclo celular, disminución de la muerte celular y cambios celulares pro-neoplásicos (18,20,21).

Actividad física

Un metaanálisis recientemente publicado mostró una reducción del 21 % en el riesgo de cáncer gástrico, comparando a los individuos más activos con los menos activos. Esta reducción de riesgo se observó tanto para el carcinoma del cardias (20 % de reducción de riesgo) como para el distal (37 % de reducción de riesgo), dado que todos los estudios incluidos fueron observacionales, se debe considerar el potencial de confusión a la hora de interpretar los resultados (18).

Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE)

Varios estudios han informado asociaciones estadísticamente significativas entre la ERGE y el cáncer gástrico del cardias, con un aumento de los riesgos de 2 a 4 veces en la mayoría

de los estudios (18,20). Mientras tanto, para el cáncer gástrico de ubicación no cardial, se ha informado una asociación nula o inversa para ERGE (18).

Infección por virus de Epstein Barr (VEB)

Se ha sugerido un papel causal en la carcinogénesis gástrica (2). La asociación entre el VEB y la carcinogénesis varía desde el 4 % en China, el 7,7 % en Francia, el 8,1 % en Rusia, el 12,5 % en Polonia y el 17,9 % en Alemania (2). Un metaanálisis de 70 estudios mostró que el cáncer gástrico asociado al VEB es dos veces más común en hombres que en mujeres (2,20). Estudios recientes han sugerido que el VEB y la coinfección con H. pylori aumentan la aparición de carcinoma gástrico. El papel exacto del VEB en el carcinoma gástrico aún no está claro (20).

Factores de riesgo genético

El 10 % de todos los cánceres gástricos muestran agregación familiar y el 1-3 % son hereditarios (45). El resto son casos de cánceres gástricos esporádicos, para los cuales no se han descubierto genes importantes de alta penetrancia. La investigación de los factores de riesgo genéticos para casos esporádicos se basa en los múltiples polimorfismos que posiblemente tenga asociación con la génesis y progresión de la enfermedad (18).

Síndromes hereditarios

Estos síndromes incluyen cáncer gástrico difuso hereditario (CGHD), poliposis adenomatosa familiar (PAF) y síndrome de Peutz-Jeghers (SPJ). El CGHD es una forma hereditaria rara y autosómica dominante, generalmente con un tumor de tipo difuso altamente invasivo, una presentación tardía y un pronóstico desfavorable. Estos cánceres muestran una anomalía molecular prominente: adherencias intercelulares defectuosas, que podrían ser el resultado de la pérdida de expresión de la proteína de adhesión celular E-cadherina. Aproximadamente el 25 % de las familias con CGHD inactivan las mutaciones de la línea germinal CDH1 (18).

La PAF es un síndrome de cáncer colorrectal autosómico dominante, causado por una mutación en el gen de la poliposis adenomatosa. Los pacientes con PAF tienen un riesgo del 100 % de cáncer colorrectal entre los 35 y 40 años, así como un alto riesgo de otras neoplasias malignas, incluido el cáncer gástrico (18).

SPJ es una condición hereditaria autosómica dominante rara, caracterizada por poliposis gastrointestinal hamartomatosa y manchas hiperpigmentadas en los labios y la mucosa bucal. La mutación de la línea germinal del gen LKB1, que codifica una serina / treonina quinasa que actúa como un supresor de tumores, es la causa de SPJ y el implicado en el desarrollo de lesiones malignas en estos pacientes (18).

Polimorfismos genéticos

Los polimorfismos genéticos del hospedador pueden tener un impacto en las respuestas del hospedador a la inflamación gástrica y la secreción de ácido, interactuando así con la infección por H. pylori en la carcinogénesis gástrica. Se ha implicado una serie de polimorfismos de nucleótido único (PNU) de genes de susceptibilidad (21).

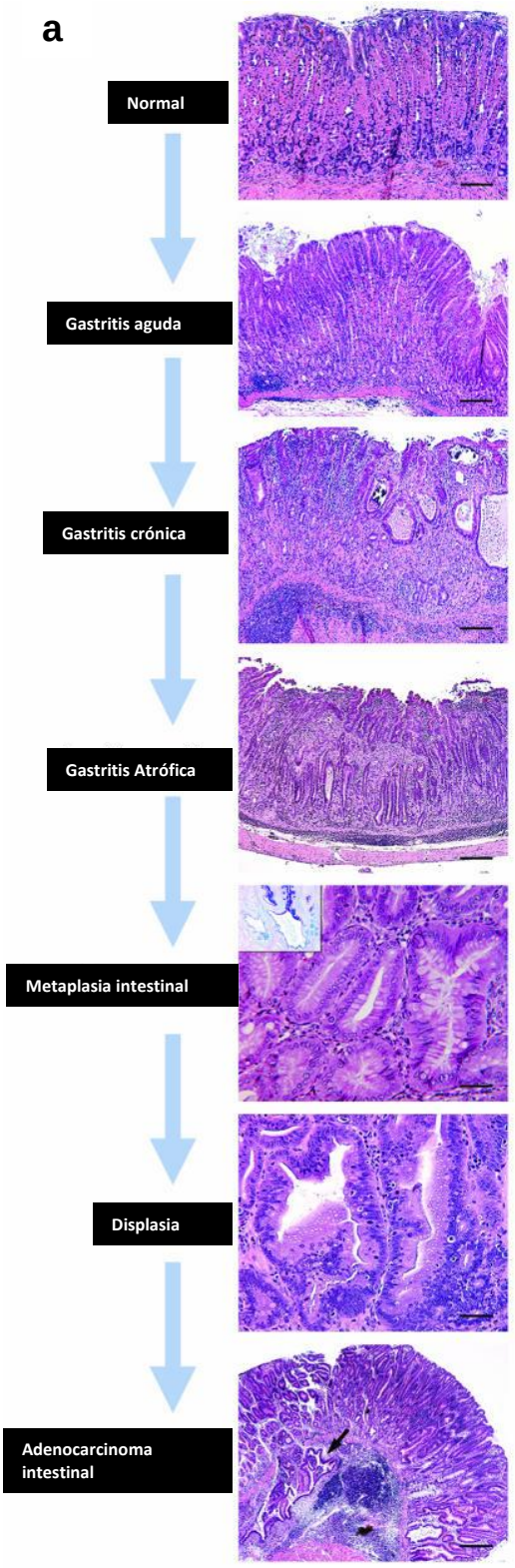
Los polimorfismos de grupo de genes de interleucina-1 (IL1β), fueron de los primeros descritos y se han asociado con un mayor riesgo infección por H. pylori y desarrollo de cáncer gástrico inducido por hipoclorhidria. Los genes relacionados con la respuesta inflamatoria que se han estudiado con mayor frecuencia son los genes de interleucina IL1β, IL1RN, IL8 e IL10 y el factor de necrosis tumoral alfa (FNT-α), que codifica las proteínas IL-1β, IL-1ra, IL-8, IL-10 y FNT-α, respectivamente (21). En términos generales, las cepas de H. pylori más virulentas y los polimorfismos de genes asociados con una reacción inflamatoria intensificada conllevan un mayor riesgo desarrollar cáncer gástrico.

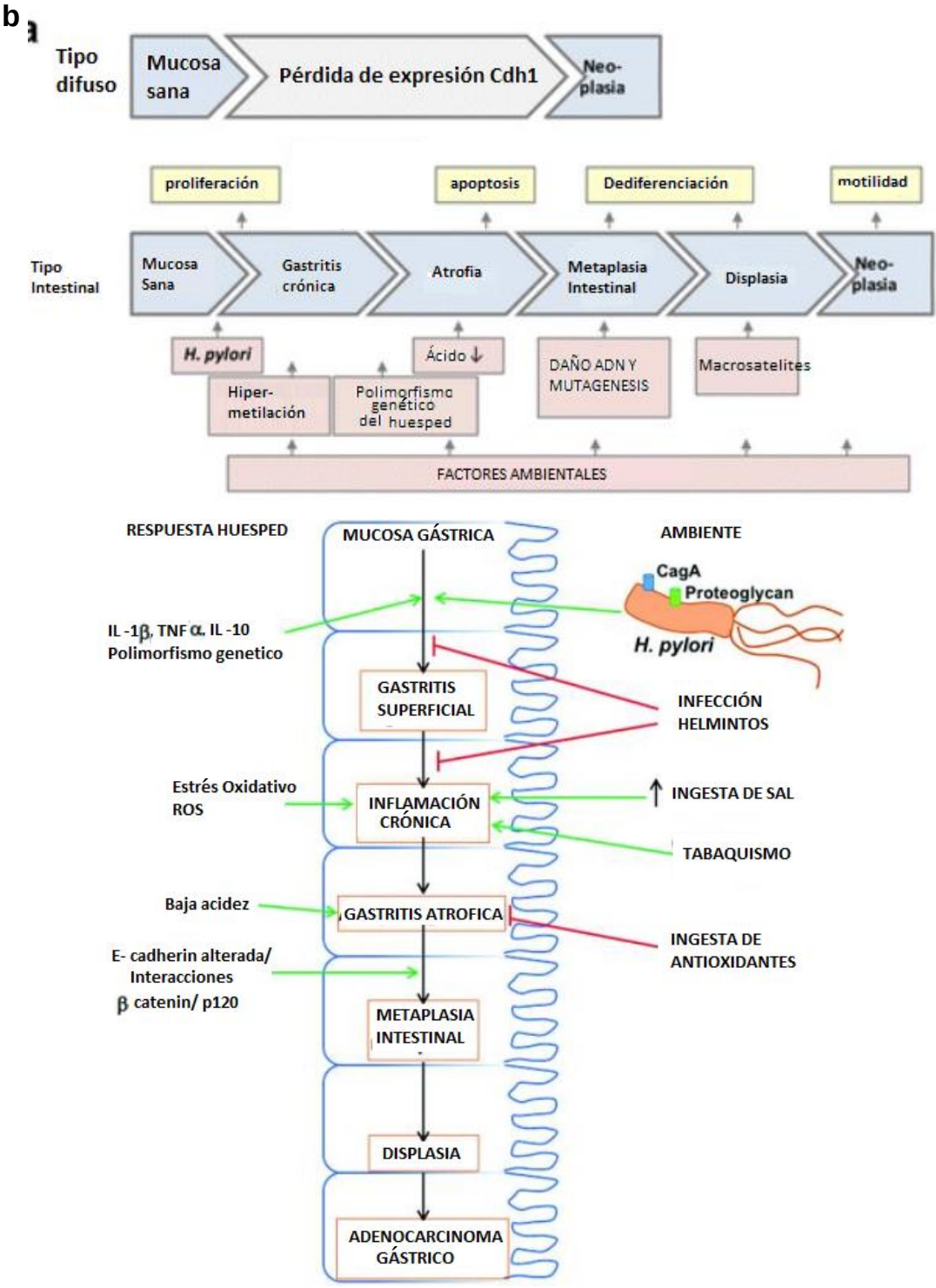
Modelo histopatológico de la carcinogénesis gástrica

El cáncer gástrico puede diferenciarse histológicamente entre tipos difusos o intestinales, este último se ha relacionado con mayor frecuencia a infecciones crónicas por H. pylori en humanos. El cáncer gástrico del tipo intestinal típicamente involucra una serie de procesos secuenciales, que están fuertemente vinculados a una combinación de varias respuestas del huésped, eventos mediados por patógenos bacterianos y factores ambientales contribuyen a la cascada precancerosa que culmina en un adenocarcinoma gástrico. En el epitelio gástrico se conoce un modelo claro histopatológico que conduce al desarrollo de un adenocarcinoma de tipo intestinal, siendo el evento primario la transición de la mucosa normal a la gastritis crónica, posteriormente se produce gastritis atrófica seguida de metaplasia intestinal, que conduce a displasia y adenocarcinoma (46). (Figura 1a, 1b)

La patogenia del carcinoma de tipo difuso es menos conocida, pero se ha asociado frecuentemente con la pérdida de expresión de la molécula de adhesión celular E-cadherina codificada por el gen CDH1. La pérdida de la función de la E-cadherina es a menudo la consecuencia de mutaciones en la línea germinal CDH1 y también podría estar vinculada a mutaciones esporádicas o hipermetilación del promotor. Las células tumorales que presentan una disfunción de CDH1 y, posteriormente, la pérdida de adherencias intercelulares tiende a invadir los tejidos adyacentes y se consideran más agresivas en comparación con las células tumorales de tipo intestinal. (Figura 1b).

Figura 1 Interacción entre las respuestas del huésped, cambios en la mucosa gástrica y el medio ambiente durante la carcinogénesis gástrica.(46)


a
Normal
Gastritis aguda
Gastritis crónica
Gastritis Atrófica
Metaplasia intestinal
Displasia
Adenocarcinoma intestinal


b
Tipo difuso
Mucosa sana
Pérdida de expresión Cdh1
Neo-plasia
proliferación
apoptosis
Dediferenciación
motilidad
Tipo Intestinal
Mucosa Sana
Gastritis crónica
Atrofia
Metaplasia Intestinal
Displasia
Neo-plasia
H. pylori
Ácido ↓
Hiper-metilación
Polimorfismo genético del huesped
DAÑO ADN Y MUTAGENESIS
Macrosatelites
FACTORES AMBIENTALES
RESPUESTA HUESPED
MUCOSA GÁSTRICA
AMBIENTE
CagA
Proteoglycan
H. pylori
IL -1β, TNF α, IL -10
Polimorfismo genetico
GASTRITIS SUPERFICIAL
INFECCIÓN HELMINTOS
Estrés Oxidativo
ROS
INFLAMACIÓN CRÓNICA
INGESTA DE SAL
TABAQUISMO
Baja acidez
GASTRITIS ATROFICA
INGESTA DE ANTIOXIDANTES
E- cadherin alterada/
Interacciones
β catenin/ p120
METAPLASIA INTESTINAL
DISPLASIA
ADENOCARCINOMA GÁSTRICO

Mecanismos moleculares implicados en la carcinogénesis gástrica

El desarrollo de la carcinogénesis gástrica es un proceso de múltiples etapas y multifactorial, resultado de la interacción entre la regulación anormal de múltiples genes, factores ambientales y múltiples células (estromales e inflamatorias) que generan cambios en la expresión de mediadores y proteínas que están implicados en el control y preservación de la integridad celular (47,48). Con respecto a las alteraciones carcinogénicas aisladas, se han identificado mutaciones, aberraciones en el número de copias, genes de fusión y mecanismos epigenéticos (28). Varios estudios han descrito la mutación de genes supresores de tumores (TP53, proteínas de reparación de desajuste, BRCA2) (17 , 29 , 30), genes implicados en la adhesión celular (FAT4, CDH1, CTNNA1, RHOA) (31-33), complejos para la remodelación de la cromatina (complejos SWI-SNF, MLL, ISW1, NuRD) (34-36) o proteínas modificadoras de histonas (SIRT1, SETD2) (37 , 38). También otras vías como WNT (CTNNB1, APC, RNF43) (38) y RTK (PI3K, ERBB3-4, PTEN) (40, 41) están relacionadas con la carcinogénesis del carcinoma gástrico, y el papel de los inhibidores específicos se está evaluando en varios ensayos (41-43). Las principales alteraciones del número de copias identificadas son la amplificación de los genes de la vía RTK / RAS / MAPK (44 , 45), PD-L1 o PD-L2 (46 , 47), genes relacionados con el ciclo celular (CCND1, CCNE1, CDK6) (48,49) y factores de transcripción (KLF5, GATA4, GATA6) (50-52). También se han identificado deleciones genéticas, pérdida de heterocigosidad y genes de fusión (28). Se ha demostrado que algunos genes se alteran con mayor frecuencia por mecanismos epigenéticos que genéticos, como CDH1 o CDKN2a (53, 54). También muestra hipermetilación de MLH1 y se ha descrito un fenotipo metilador (55). Se han desarrollado varias firmas de expresión génica para el diagnóstico, pronóstico, clasificación y manejo (56-58). La mayoría de estas firmas muestran significación pronóstica y, por lo tanto, podrían ser útiles como un complemento de la estadificación.

Por ejemplo, las moléculas de adhesión desarrollan un papel relevante en la integridad y la carcinogénesis del epitelio y entre todas las moléculas de adhesión, la E-cadherina es un componente importante de unión (47,48). La pérdida o disfunción de la E-cadherina se asocia con un fenotipo invasivo y metastásico en numerosos cánceres, como los tumores de colon, pulmón y próstata (48,49), debido a su relación con la transición epitelio mesenquimal al cambiar los componentes de la adhesión intercelular y regular diversas vías de señalización (47). Este marcador es detectable por tinción de inmunohistoquímica y existe en el tejido gástrico normal (48,49).

La expresión anormal de E-cadherina, sugiere que la pérdida de la unión de E-cadherina puede causar una redistribución de β-catenina desde la membrana celular hasta el citoplasma que luego se transloca al núcleo y modula transcripcionalmente la expresión de varias proteínas, incluida la ciclina D1, CD44, c-Myc y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que promueven la iniciación y progresión tumoral. La baja expresión de E-cadherina, y la expresión nuclear de β-catenina se asocian con una mayor invasión tumoral, estadio TNM y metástasis en los ganglios linfáticos (47,50). Se ha demostrado que

la expresión aberrante de E-cadherina y / o la β-catenina es un marcador pronóstico independiente para la supervivencia corta en pacientes con cáncer gástrico (50). En particular, la activación de la señalización de Wnt / β-catenina se encuentra en alrededor del 30 % al 50 % de los tejidos cancerosos gástricos y en muchos tipos de líneas celulares de cáncer gástrico, lo que resulta en un aumento de la producción de citoquinas inflamatorias, apoptosis anormal, proliferación/diferenciación de las células epiteliales y transformación epitelio-mesenquimal (51-54).

Otro mecanismo de la carcinogénesis gástrica inducida por la inflamación y el H. pylori es la alteración genómica y la mutación genética. Por ejemplo, la prevalencia de la mutación TP53 en el cáncer gástrico es, aproximadamente del 40 %. La infección con H. pylori positivo para CagA PAI induce la expresión alta de citidina-desaminasa a través de la activación de NF-kB en células epiteliales gástricas humanas, lo que lleva a múltiples mutaciones en el genoma del hospedador, como las que se encuentran en TP53 (55), el cual es uno de los genes implicados en la transformación gradual a carcinoma gástrico. Este gen cumple en su estado silvestre la función de gen supresor a través de la expresión de la proteína p53, activándose cuando el ADN está dañado. El p53, conduce a la detención del ciclo celular en la fase G1 y repara el ADN dañado o lleva a la apoptosis celular. Si el gen TP53 está dañado, puede permitir que una célula pase a un crecimiento incontrolado, lo que conduce a carcinogenicidad (56). Ahora se ha establecido que esta mutación ocurre temprano en la progresión gradual hacia el carcinoma gástrico, especialmente el de tipo intestinal. La tinción inmunohistoquímica p53 por lo general no está presente en el epitelio gástrico normal, esto se debe a que la proteína silvestre tiene una vida media corta, contrario a la contraparte mutante que tiene una vida media más estable y detectable a la inmunohistoquímica. Sin embargo, procesos reactivos pueden llevar a un aumento en la expresión y acumulación de p53 silvestre que puede ser detectada por inmunohistoquímica, de ahí que no sea confiable para distinguir entre displasia y atipia reactiva. Pero estudios indican que proteína p53 es inmunohistoquímicamente detectable incluso antes de que se produzcan cambios metaplásicos o displásicos gástricos (56,57), incluso en asociación con el gen de la E-cadherina puede representar dos vías importantes e independientes hacia la etiología del cáncer gástrico (48,52).

Cáncer gástrico y clasificación molecular

Se han publicado seis clasificaciones moleculares principales. Shah y col. definieron tres tipos clinicopatológicos con firmas distintivas de expresión génica (proximal no difusa, difusa y distal no difusa) (58). Tan y col. desarrolló una clasificación parcialmente relacionada con la clasificación de Laurén (tipos G-INT y G-DIF) con importancia pronóstica y terapéutica, y describió los marcadores sustitutos para su aplicación por IHQ (LGALS4 y CDH17) (59). Lei y col. dividió GC en tres grandes grupos: tumores proliferativos, metabólicos y mesenquimales (60). Wang y col. aplicaron una clasificación similar (tumores microsatélites estables, VEB-positivos estables y VEB-negativos estables) y describió en

detalle los patrones de metilación de subtipos moleculares y mutaciones RHOA (61). El AGC estudió 295 tumores de pacientes sin terapia adyuvante y dividió el cáncer gástrico en tipos positivos para VEB (9 %), inestabilidad de microsatélites (22 %), genómicamente estable (20 %) e inestabilidad cromosómica (50 %), que se ha encontrado que se asocian con características clinicopatológicas específica (5) (Tabla 2).

Finalmente, el GAIC definió cuatro tipos: inestabilidad de microsatélites (IMS, 22.6 %), transición epitelial-mesenquimal (EMT, 15.3 %), TP53 mutado (26.3 %) y TP53 no mutado (35,6 %) (6). Estos subgrupos mostraron una correlación variable con los descritos por AGC (inestabilidad de microsatélites, genómicamente estable, inestabilidad cromosómica y VEB-positivo, respectivamente) y también se correlacionaron con las características clinicopatológicas y el pronóstico del paciente. Los tumores IMS son generalmente carcinomas de tipo intestinal que surgen en el antro, y los pacientes muestran menos recurrencias y un mejor pronóstico. Los tumores EMT se presentan en pacientes más jóvenes, muestran una morfología difusa y se asocian a un peor pronóstico. Se ha descrito que los tumores TP53 mutados y no mutados tienen un pronóstico intermedio (6) (Tabla 2).

Recientemente, el AGC (TCGA en inglés) ha propuesto una subtipificación molecular de los adenocarcinomas gástricos basado en la presencia del virus de Epstein-Barr (VEB), inestabilidad de microsatélites (IMS), estabilidad genómica (ES) e inestabilidad cromosómica (IMS) (5). La mayoría de los tumores EG tienen histología difusa, mientras que los otros subgrupos contienen predominantemente tumores de tipo intestinal. Una clasificación alternativa ha sido propuesta por el GAIC (ACRG en inglés). Esta propuesta estratifica los adenocarcinomas gástricos en tumores con IMS, tumores con estabilidad microsatélites que muestran transición epitelio mesenquimal (EMS / EMT), tumores EMS con actividad intacta de TP53 (EMS / TP53 +) y tumores EMS con pérdida funcional de TP53 (EMS / TP53−) (6) (Tabla 2).

Tabla 2 Principales clasificaciones moleculares del cáncer gástrico. (5, 6, 58, 59, 60, 61)

Autores, Revista, Año	Subtipos moleculares	Hallazgos principales
Shah et al. Clin Cancer Res, 2011	Proximal no difuso	Diferentes perfiles de expresión génica
	Difuso	
	Distal no difuso	
Tan et al. Gastroenterology , 2011.	G-INT	Diferentes perfiles de expresión génica
	G-DIF	Correlación con el pronóstico y la respuesta al tratamiento.
	IHC sustitutos: LGALS4 y CDH17	
Lei et al. Gastroenterology , 2013.	Proliferativa: genómicamente inestable, hipometilación y mutación TP53	Correlación con las características clinicopatológicas y la respuesta al tratamiento.
	Metabólico: vía SPEM	
	Mesenquimales: pérdida de CDH1	
Wang et al. Nat Gen, 2014	Microsatélite estable EBV-positivo	Descripción de los patrones de metilación.
	Microsatélite estable sin EBV positivo	Mutaciones RHOA
	Inestabilidad de microsatélites	
TCGA, Nature , 2014	EBV positivo	Correlación con características clinicopatológicas.
	Inestabilidad de microsatélites	
	Genómicamente estable	
	Inestabilidad cromosómica	
ACRG, Nat Med , 2015	Inestabilidad de microsatélites	Correlación con las características clinicopatológicas y el pronóstico.
	Transición epitelial-mesenquimal	
	TP53 + (actividad intacta de TP53)	
	TP53 - (pérdida funcional TP53)	

Estos sistemas de clasificación han proporcionado información valiosa sobre la variabilidad en las características biológicas entre los adenocarcinomas gástricos. En lugar de considerar el cáncer gástrico como una enfermedad única, también ha quedado claro que, al explorar nuevas terapias contra el cáncer, se deben realizar estudios futuros entre grupos definidos de pacientes cuyos tumores tienen anomalías genómicas específicas. Hasta la fecha en la práctica clínica, el HER2 es el único biomarcador predictivo para la terapia dirigida utilizada actualmente para la selección de pacientes en cáncer gástrico (7). Por ejemplo, los análisis de supervivencia general indican que el subgrupo con expresión normal de P53 mostró una tendencia a un mejor resultado que los otros tipos y el subgrupo con expresión aberrante de E-cadherina predijo el peor pronóstico en pacientes con cáncer gástrico (15).

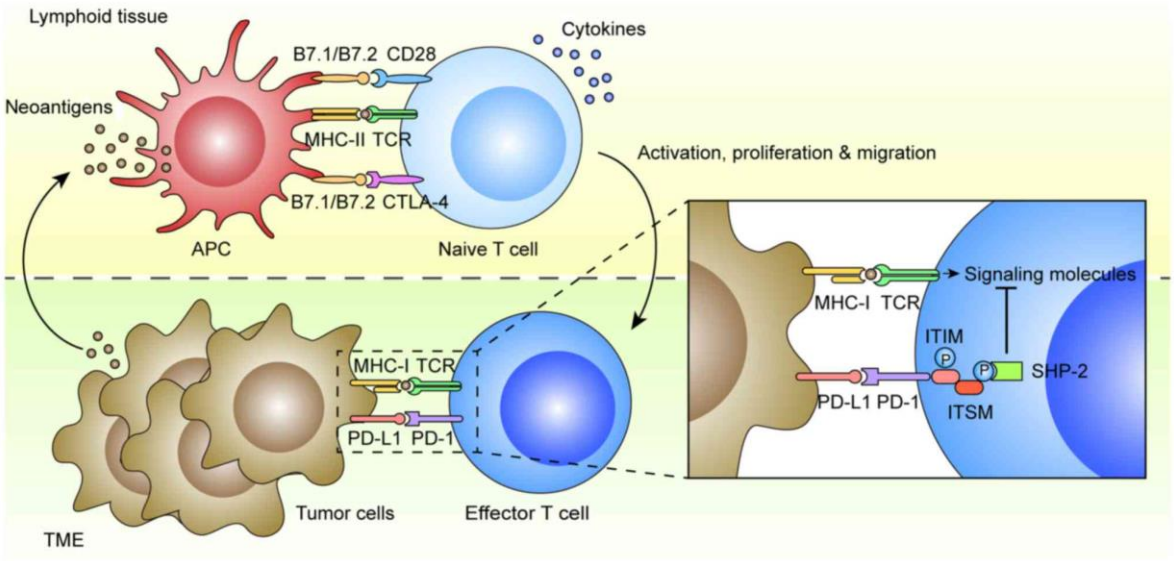
Recientemente, la inmunoterapia contra el cáncer, especialmente con antagonistas de los puntos de control, como el PD-1 y el CTLA-4 ha transformado todo el campo del tratamiento del cáncer y ha generado expectativa en el manejo de tumores sólidos como el melanoma, el cáncer de pulmón y el cáncer urotelial. En comparación con los inhibidores de CTLA-4, los bloqueos de puntos de control dirigidos al eje PD-1 / PD-L1 tienen más ventajas en eficacia y menos efectos secundarios, lo que permite a los antagonistas de PD-1 / PD-L1 un enfoque más prometedor y eficiente para la terapia contra el cáncer (63).

Para explicar los inhibidores de punto de control dirigidos al eje PD-1 / PD-L1 hay que entender que el PD1 es una proteína de punto de control perteneciente a la familia CD28, un grupo de receptores de linfocitos T supresores, que son regulados al alza por estimulación de antígenos y citoquinas. El PD1 también se expresa en células B, monocitos y células dendríticas y regula varios aspectos de su función inmunológica. PDL1 es una glicoproteína transmembrana tipo 1 de la familia de ligandos B7. El cual no solo se expresa en células T y células B activadas sino también en algunas células no hematopoyéticas. Se encuentra en una posición favorable para regular la función de las células T a través de las células dendríticas y otras células presentadoras de antígenos. Las células T reconocen las células tumorales en el cuerpo humano y las matan, pero cuando las células tumorales reconocen la proteína PD1 en las células T, las células tumorales regularán al alza la proteína PDL1, y PD1 se unirá a PDL1, lo que provocará la apoptosis de las células T (63, 64).

Además, El interferón gamma (IFN-γ) producido por las células T activadas puede aumentar la PDL1 en la superficie de las células tumorales. La vía de transducción de señales PD1/PDL1 es un componente vital de la inmunosupresión tumoral, que puede inhibir la excitación de los linfocitos T y fortalecer la tolerancia inmunitaria celular del tumor, a fin de lograr el escape inmunitario del tumor. En resumen, PD1 se une a PDL1 y puede disminuir la vigilancia inmunológica mediada por células T, lo que resulta en una ausencia de inmunorreacción e incluso en la apoptosis de las células T. También inhibe las células T CD4+/CD8+ infiltrantes de tumores (TIL CD4+/CD8+) y conduce a una disminución de las

citocinas, incluido el factor de necrosis tumoral (TNF), IFN-γ e interleucina-2, para proporcionar una manera de que las células cancerosas escapen de la inmunorreacción. Los inhibidores de PD1/PDL1 desbloquean la supresión inmunitaria de las células T antitumorales (Figura 2), lo que da como resultado la multiplicación y penetración de células T en el microambiente tumoral e induce una respuesta antitumoral. La terapia anti-PD1/PDL1 existente impide la combinación entre PD1 y PDL1 y activa eficazmente las células inmunitarias agotadas y desencadena una respuesta inmunitaria antitumoral (63, 64).

Figura 2. Mecanismo del eje PD-1/PD-L1 y tolerancia inmune en tumores. (64)



Los datos de la Reunión Anual de PubMed y la Sociedad Americana de Oncología Clínica sugieren que los inhibidores PD-1 / PD-L1 pueden llevarnos a una nueva era para el tratamiento del cáncer gástrico (24). Algunos ensayos clínicos con inhibidores de PD-1 para tumores sólidos descubrieron que los pacientes con deficiencia en los mecanismos de reparación mismatch (d-MMR) tienen un mejor pronóstico que aquellos que tienen presente los mecanismos de reparación mismatch (p-MMR) (64-66). Por lo tanto, es racional especular que el cáncer gástrico con d-MMR y expresión de PD-L1 puede ser una opción para dicha terapia.

Además, hallazgos han sugerido que los cánceres gástricos EBV positivos están asociados con expresión de PD-L1, promoviendo la progresión del cáncer (67). Un estudio original de Japón mostró que las células de cáncer gástrico positivas para VEB que expresan altos niveles de PD-L1 inhibieron la proliferación de células T, y la vía de señalización de IFN-γ desempeñó un papel importante en la expresión de PD-L1 (68). Por lo cual, la identificación de estos subtipos ofrece una ruta para la estratificación del paciente, y los ensayos de terapias dirigidas también proporcionan las herramientas moleculares necesarias para realizar un tratamiento individualizado en el cáncer (63).

Por ejemplo, en un metaanálisis donde se seleccionaron un total de 15 estudios elegibles con 3291 pacientes (69), mostró que la expresión de PD-L1 se asoció con sobrevida general en el cáncer gástrico (HR = 1,46; IC del 95 %: 1,08 ± 1,98; P = 0,01). Los autores también encontraron que los tumores positivos para infección por VEB y MSI tienen más probabilidades de expresar PD-L1 que los otros tipos de tumores de cáncer gástrico, lo que es consistente con los resultados de informes anteriores (67, 70-72). Este resultado puede proporcionar evidencia de que los pacientes con cáncer gástrico, especialmente aquellos con los subtipos de tumores VEB positivos y con IMS, pueden ser candidatos principales para la terapia de bloqueo de PD-1 (63). A pesar de que es muy atractivo identificar la relación entre la expresión de PD-L1 y los resultados clínicos, su relevancia pronóstica en cáncer gástrico sigue siendo un tema controvertido (72-79). Mientras tanto, dado que el anticuerpo anti-Her2 trastuzumab actualmente es el único tratamiento dirigido de primera línea aprobado demostrado por el ensayo ToGA (para pacientes con cáncer gástrico Her2-positivo) (3), se necesitan más estudios que al igual que este, refuercen la importancia del PD-L1 como herramienta pronostica y de tratamiento.

Recientemente se han publicado algunos artículos que describen diferentes algoritmos que implementan el sistema de clasificación molecular propuesto por AGC, GAIC e incluso se ha propuesto una clasificación integrada para su uso en la práctica clínica empleando metodologías directas de menor complejidad y costo, logrando clasificar el adenocarcinoma gástrico en los diferentes subgrupos moleculares de interés (3, 9-15). La realización de estudios que evalúen la población colombiana es necesaria, en especial si se utilizan estas metodologías más asequibles, considerando las limitaciones técnicas para acceder a recursos de mayor complejidad en nuestro medio, pero con disposición de laboratorios de patología que cuentan con protocolos para realización de pruebas de IHQ e ISH en tejido parafinado.

3. Objetivos

Pregunta problema

¿Cuáles son los patrones de expresión de proteínas y ARN usando los métodos de IHC e ISH para la identificación de los subgrupos moleculares del carcinoma gástrico en una población colombiana y su relación con la expresión de PD L1?

Generales

Evaluar los subgrupos moleculares del carcinoma gástrico usando métodos de IHQ e HIS, basados en un panel de 4 marcadores (MLH1, E-cadherina, P53 y ARNm del virus de Epstein-Barr) y su relación con la expresión de PD L1 en una población colombiana.

Específicos

- Caracterizar demográfica y anatomopatológicamente la población a estudio.
- Identificar los grupos moleculares de carcinoma gástrico mediante IHQ e HIS y su relación con las variables a estudio.
- Explorar las diferencias de expresión de PD L1 en los grupos moleculares del carcinoma gástrico.

4. Metodología

Tipo de investigación

Investigación observacional descriptiva de corte transversal.

Población estudio

La población de estudio consiste en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico de los cuales se tengan muestras en bloques en parafina como resultado de gastrectomía total o subtotal en el Hospital Universitario Nacional entre el 2016 y 2021.

Criterios de inclusión

Hombres y mujeres a los que se les haya realizado gastrectomía total o subtotal por diagnóstico previo de cáncer gástrico y que su procesamiento se haya realizado en el laboratorio de patología del Hospital Universitario Nacional entre el 2016 y 2021.

Criterios de exclusión

- Carcinoma in situ: tumor intraepitelial sin invasión de la lámina propia, displasia de alto grado
- Material de muestra insuficiente
- Histología indeterminada del tumor
- Histología neuroendocrina
- Adenocarcinoma metastásico a estómago

Manejo de variables

Las variables a considerar se presentan en la siguiente tabla:

CATEGORÍA		ABREVIATURA	NOMBRE Y DEFINICIÓN	TIPO	ESCALA Y OPERATIVIZACIÓN
1	IDENTIFICACIÓN				
	1.1	ID	Código asignado al participante en la base de datos	Cuantitativa. Independiente. Discreta	Números enteros desde 1.
	1.2	HC	Número de Historia Clínica	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	Números enteros y/o letras.
2	DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS				
		Edad	Edad en años en el momento del diagnóstico	Cuantitativa. Independiente. Discreta.	Números enteros
		Sexo	Sexo	Cualitativa. Independiente. Dicotómica.	0 = Mujer 1 = Hombre
3	ANTECEDENTES				
		AP	Antecedentes Patológicos del paciente	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Si 2 = No 3 = Sin dato
		AF	Antecedentes familiares del paciente relacionadas con cáncer	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Si 2 = No 3 = Sin dato
		AT	Antecedentes tóxicos	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0 = No 1 = Tabaco 2 = Alcohol 3 = Sin dato
4	DATOS CLÍNICOS				
		SD	Síntomas al diagnostico	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Si 2 = No 3 = Sin dato
		UT	Ubicación del tumor	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0=Unión gastroesofágica/cardias 1 = Cuerpo 2 = Cuerpo/Cardias 3 = Cuerpo/Antro 4 = Antro/Píloro

					5 = Todo 6 = Sin dato
		CB	Clasificación Bormann	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0= Sin dato 1 = I 2 = II 3 = III 4 = IV 5 = V
		PQ	Procedimiento quirúrgico	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Gastrectomía total 2 = Gastrectomía subtotal
5	INFORMACIÓN REPORTE DE PATOLOGÍA				
		CL	Clasificación de Lauren	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Intestinal 2 = Difuso 3 = Mixto
		CW	Clasificación de la WHO	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Papilar 2 = Tubular 3 = Mucinoso 4 = Pobremente cohesivo 5 = Anillo de sello 6 = Medular 7 = Mixto
		GD	Grado de diferenciación	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Bien Diferenciado 2 = Moderadamente diferenciado 3 = Pobremente diferenciado
		GT	Grado tumoral	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Bajo grado 2 = Alto grado
		T	Clasificación según tamaño tumoral	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0 = pT0 1 = pTis 2 = pT1 3 = pT1a 4 = pT1b 5 = pT2 6 = pT3 7 = pT4 8 = pT4a 9 = pT4b
		N	Clasificación según metástasis ganglionar	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0 = pN0 1 = pN1 2 = pN2 3 = pN3

					4 = pN3a 5 = pN3b
		M	Clasificación según metástasis a distancia	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0 = M0 1 = M1 2 = Mx
		Estadio	Estadio tumoral	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	0 = 0 1 = IA 2 = IB 3 = IIA 4 = IIB 5 = IIIA 6 = IIIB 7 = IV
6	Resultado de inmunohistoquímica E ISH				
		EBER	Virus de Epstein Barr	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Positivo 2 = Negativo
		MMR	Mutación MMR: MLH1	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Conservada 2 = Perdido
		CDH1	E-cadherina	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Normal 2 = Aberrante
		P53	Mutación del P53	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Silvestre 2 = Mutado
		PD L1	Expresión de PD L1	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = PPC <1 2 = PPC ≥ 1
		CI	Clasificación integrada	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = Grupo 1/G1 2 = Grupo 2/G2 3 = Grupo 3/G3 4 = Grupo 4/G4 5 = Grupo 5/G5
		C-AGC	Clasificación AGC	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = EBV 2 = MSI 3 = GS 4 = CIN
		C-GAIC	Clasificación GAIC	Cuantitativa. Independiente. Nominal.	1 = MSI 2 = MSS / EMT 3 = MSS / TP53- 4 = MSS / TP53+

Tabla 3 Tabulación de variables

Selección y datos de pacientes

Dinámica de búsqueda

Los pacientes fueron seleccionados de los archivos digitales producto de los informes de patología en PDFs que reposa en el servidor del servicio, mediante el buscador de palabras de Adobe Acrobat Reader que permite buscar palabras especificas dentro de un texto PDF. La búsqueda se restringió a documentos que contenían las palabras: “Carcinoma gástrico” y “adenocarcinoma gástrico” para disminuir el número de reportes por leer, posteriormente se revisaron uno por uno de los informes en busca de cuales cumplían los criterios de inclusión. Luego se solicitaron los bloques de parafina y los cortes histológicos al archivo de patología, posteriormente se evaluaron si las muestras eran adecuadas, si cuenta con el suficiente material para no agotarlo. Nuevamente los bloques seleccionados, eran analizados por un patólogo independiente que garantizó que al tomar la muestra de los especímenes, no se alterara la integridad y se aseguró la reserva del tejido remanente.

Obtención de datos sociodemográficos y clínicos

Los datos sociodemográficos y clínicos se obtuvieron únicamente de la historia clínica. Una vez seleccionados los pacientes con muestras aptas para el estudio, se realizó la búsqueda con el documento de identidad obtenido de los informes de patología en el sistema de historias clínicas HOSVITAL de Hospital Universitario Nacional de Colombia, del cual se obtuvieron los datos necesarios y si cumple con los criterios de inclusión dados.

Técnicas y procedimientos

Análisis de muestras

Las muestras provienen de especímenes de gastrectomía total o subtotal fijadas en formalina al 10 %, las cuales fueron incluidas en parafina y se obtuvieron láminas de secciones secuenciales de 4-5 µm y teñidas con hematoxilina-eosina (H&E) para la evaluación histológica. Se revisaron todas las láminas de H&E correspondientes para confirmar el diagnóstico y la adecuación del material. La lectura de las láminas histopatológicas se hizo con el microscopio óptico Nikon E 200. El microscopio está equipado con un ocular 10X, lentes de objetivo 4X, 10X, y 40X, dotado de cámara de video con capacidad de zoom digital que permite exportar imágenes a dispositivos de

almacenamiento externo donde se guardaron las imágenes de interés. La evaluación de las muestras histopatológicas fue realizada por dos patólogos. En el caso de diagnósticos discordantes entre patólogos, los diagnósticos finales se hizo mediante discusión conjunta. La clasificación patológica del adenocarcinoma gástrico se hizo según la clasificación de Lauren de 1965 en tipo intestinal y tipo difuso, y la clasificación de la WHO.

Construcción de microarreglos de tejidos

El análisis de IHQ e HIS, se realizó mediante microarreglos de tejidos de forma manual, donde cada tumor se seleccionó de las láminas de H&E áreas que tuvieran carcinoma invasivo. Los cilindros de tejido correspondientes se transfirieron a los bloques del microarreglo de tejido. Los bloques de microarreglos de tejidos construidos fueron seccionados, teñidos y revelados de forma manual para IHQ e HIS.

La construcción de los microarreglos se hizo, usando como aditivo agarosa mediante la metodología propuesta por Kim KH et al (80), ya que esta no se funde en la etapa de calentamiento durante el proceso de inclusión y es transparente en una fase sólida. La agarosa está gelificada a aproximadamente 35ºC y se funde a aproximadamente 90° C y tiene flexibilidad en una fase sólida, en comparación con la parafina que se derrite de 45 Cº a 65 Cº. Por lo cual la agarosa da una matriz estable para los microarreglos de tejido en el proceso de inclusión del bloque de parafina (80). La preparación de estos se hizo de la siguiente manera:

- Preparación de bloques receptores de gel de agarosa parafinado

Se utilizó Agarosa Fundida en agua destilada al 2 % (p / v), esta se vertió en moldes de parafina y se dejó enfriar lentamente a temperatura ambiente para hacer geles de agarosa de 4 mm de espesor. Los geles de agarosa se retirarán de los moldes y los bordes de gel redundantes se cortaron para encajar en el casete de tejido de plástico convencional. Se colocan varios geles de agarosa en el procesador automático de tejidos y se procesó de forma convencional: fijando los geles y las muestras de tejido con formol al 10 %, deshidratado a través de alcohol etílico de grado ascendente de concentración, aclarando con xileno e impregnando en parafina. Los geles de agarosa parafinada se funden en parafina convencional para hacer bloques de agarosa-parafina.

- Construcción de matriz

Los bloques de agarosa-parafina se recortaron utilizando un micrótomo para exponer la superficie y prepararlos para su uso como bloques receptores. Para la construcción de los microarreglos con un diámetro central de 3 mm, se perforó una serie de orificios en el bloque receptor utilizando un punch de piel, que se guio con una hoja de papel cuadriculado unida a la superficie del bloque receptor. Posteriormente, se utilizó un punch de biopsia de piel

desechable de 3 mm de diámetro para extraer núcleos de tejido del bloque donante e implantarlos en los orificios prefabricados en el bloque de receptor (Figura 3).

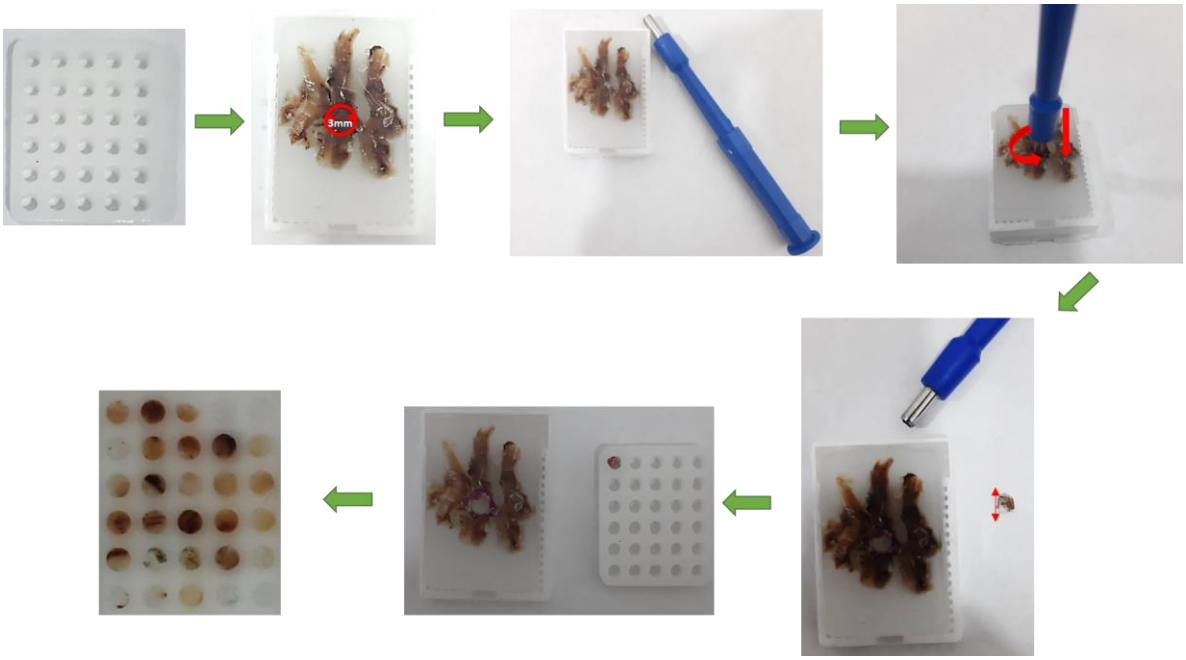


Figura 3. Construcción de microarreglos de tejido.

Luego, los bloques son llevados a los moldes para ser embebidos en parafina y se dejan incubando a una temperatura de 70°C por 30 a 70 minutos. seguidamente se dejó solidificar el bloque y se extrajo del molde de inclusión para ser llevado al microtomo. Luego se realizó un pequeño desbaste y se obtienen los cortes necesarios que deben pasar al baño de flotación (Figura 4).

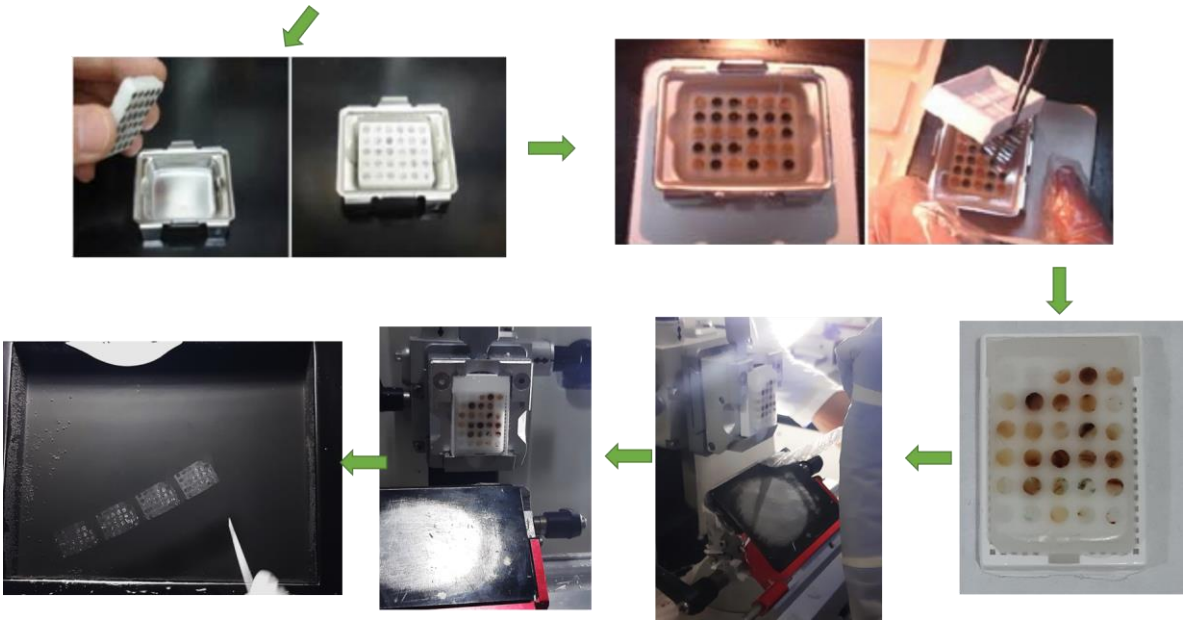


Figura 4. Corte de los microarreglos de tejido.

Por último, se transfieren los cortes obtenidos a láminas convencionales (técnica de H&E) o láminas cargadas para la realización de la IHQ o la HIS. (Figura 5).

Protocolo de inmunohistoquímica

Las secciones se procesaron usando el protocolo de tinción adaptado de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos. El lavado se hizo en solución salina tamponada con tris (TBS) y se bloqueó la peroxidasa endógena utilizando el reactivo suministrado por el kit. Se lavaron de nuevo en TBS y se incubaron durante 60 minutos con los anticuerpos específicos a usar según dilución requerida. Las secciones se lavaron de nuevo en TBS y se incubaron con reactivo de marcaje durante 30 minutos. Se realizó un nuevo lavado con TBS y se aplicó la peroxidasa de rábano picante con diaminobencidina reconstituida durante 2 a 5 minutos. Luego, las secciones se lavaron con agua y se colorearon ligeramente con hematoxilina. Y como paso final el lavado, deshidratación y montaje de las muestras. El control negativo se obtuvo mediante la incubación de portaobjetos en solución salina tamponada con Tris (TBS) y omitiendo los anticuerpos primarios. La recuperación de antígenos de todos los tejidos se realizó en el horno de microondas (Figura 5).

Protocolo hibridización in situ

Las muestras se montaron en láminas cargadas, en las que se realizó el proceso de hibridización in situ. Se siguieron las instrucciones del fabricante para procesar biopsias embebidas en parafina al utilizar el kit Epstein Barr Virus (EBER) y la sonda complementaria a los transcritos ARN de EBER . Previamente los tejidos se desparafinaron, posteriormente se hidrataron y se sometieron a un pretratamiento con proteinasa K por 1 min a temperatura ambiente. Se adicionó suficiente cantidad de sonda para cubrir el tejido e incubó 1 hora a

55 °C en cámara húmeda y luego se agregó el cromógeno durante 15 min. La contratinción se realizó con eosina (Figura 5).

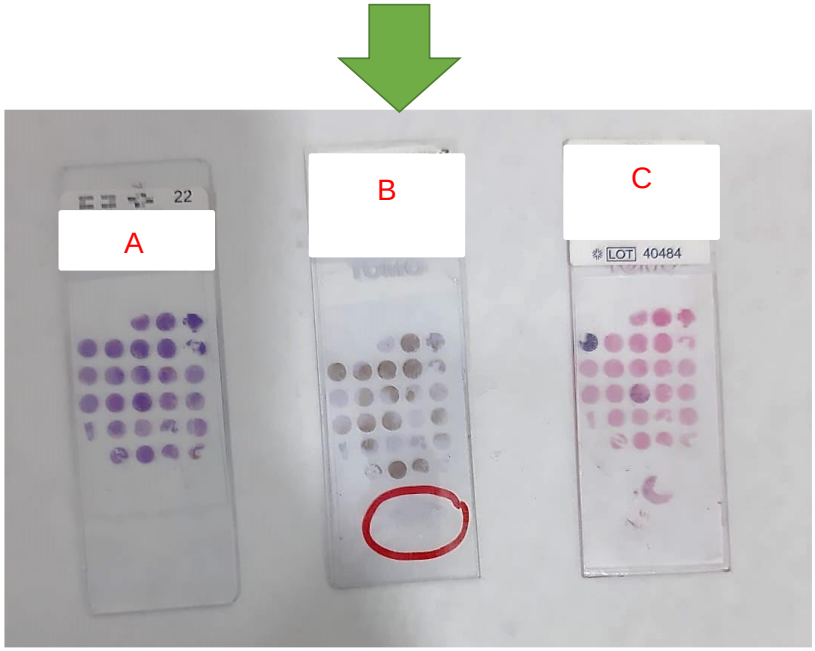


Figura 5. Laminas obtenidas posterior a tinción de hematoxilina-eosina (a), inmunohistoquímica (b) e hibridización in situ (c).

Evaluación de tinciones

La evaluación de las tinciones se realizó de la siguiente manera:

- Para TP53 la pérdida completa o la positividad fuerte difusa nuclear se clasificó como expresión aberrante (Figura 6).
- El EBER ISH se calificó como positivo o negativo de acuerdo con la reacción nuclear mayor del 1 % (Figura 7).
- Un tumor se clasificó como MSI, si el marcador MLH1 muestra una pérdida completa de reactividad nuclear junto con una reacción de fondo positiva en el epitelio benigno, células de músculo liso y linfocitos (Figura 8). La ausencia de reactividad nuclear con fondo negativo se consideró controvertida y no se usó para la clasificación.
- La expresión aberrante de E-cadherina se consideró como pérdida completa de reactividad o la tinción membranosas inferior al 70 % se consideraron,

independientemente de si se acompañaban o no de expresión citoplasmática o nuclear (Figura 9) (3) (7) (11) (81).

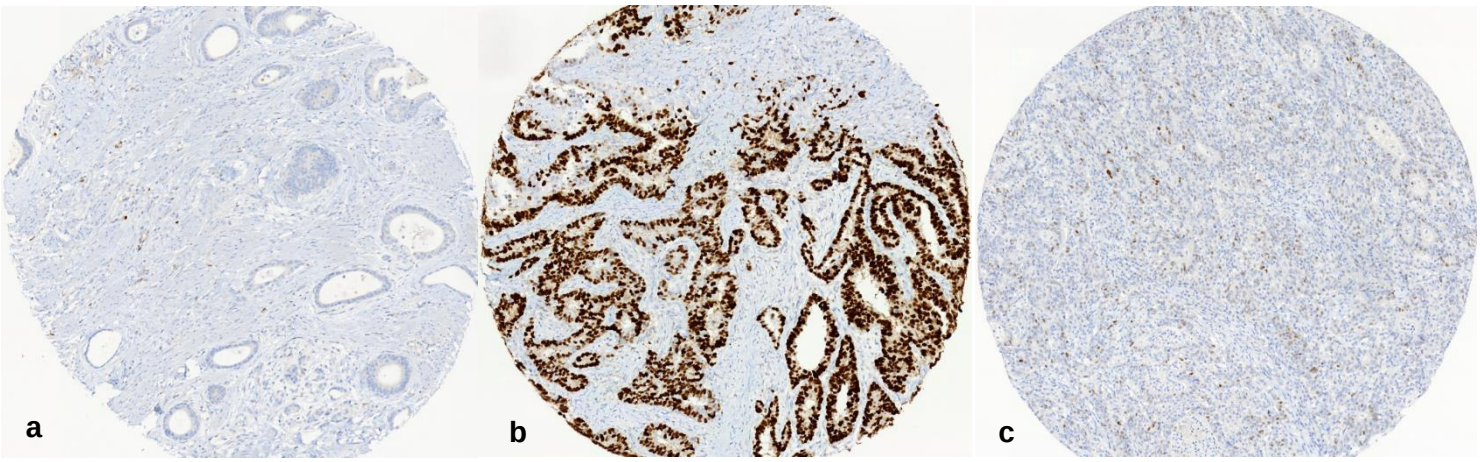


Figura 6. Expresión de TP53: a) p53 mutado negativo. b) p53 mutado positivo. c) p53 silvestre débil. (7) 4X

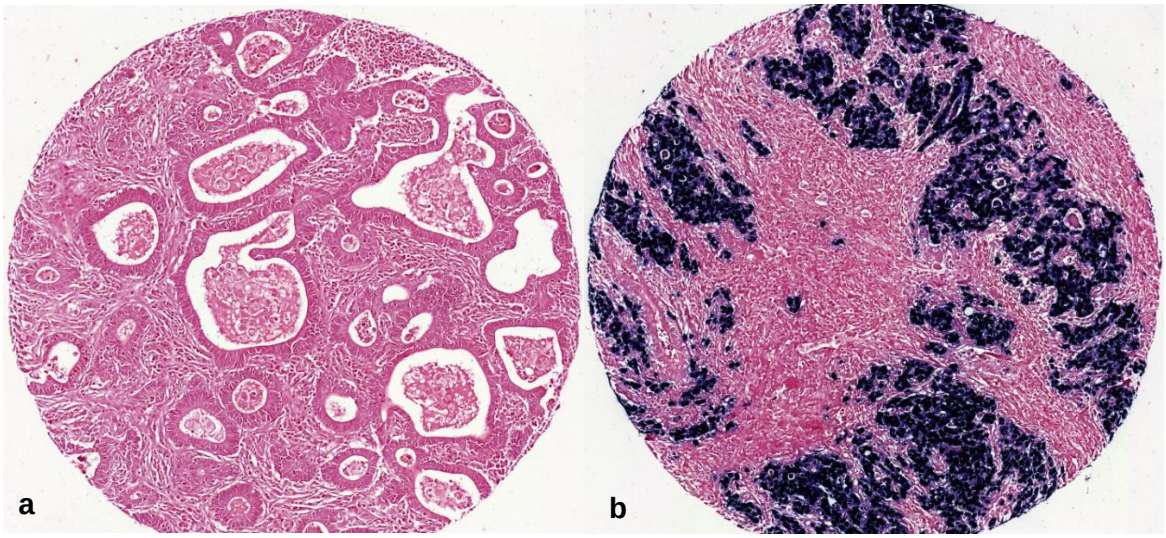


Figura 7. a) EBER negativo. b) EBER positivo. (7). 4X

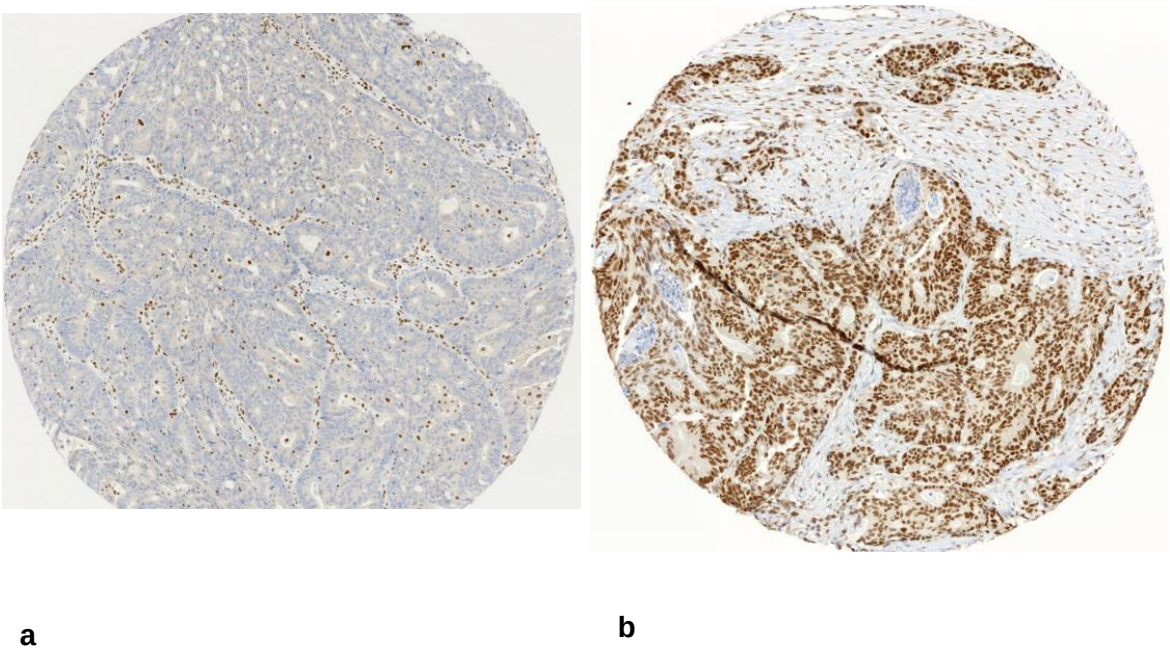


Figura 8. a) MLH1 mutado. b) MLH1 silvestre. (7) 4X

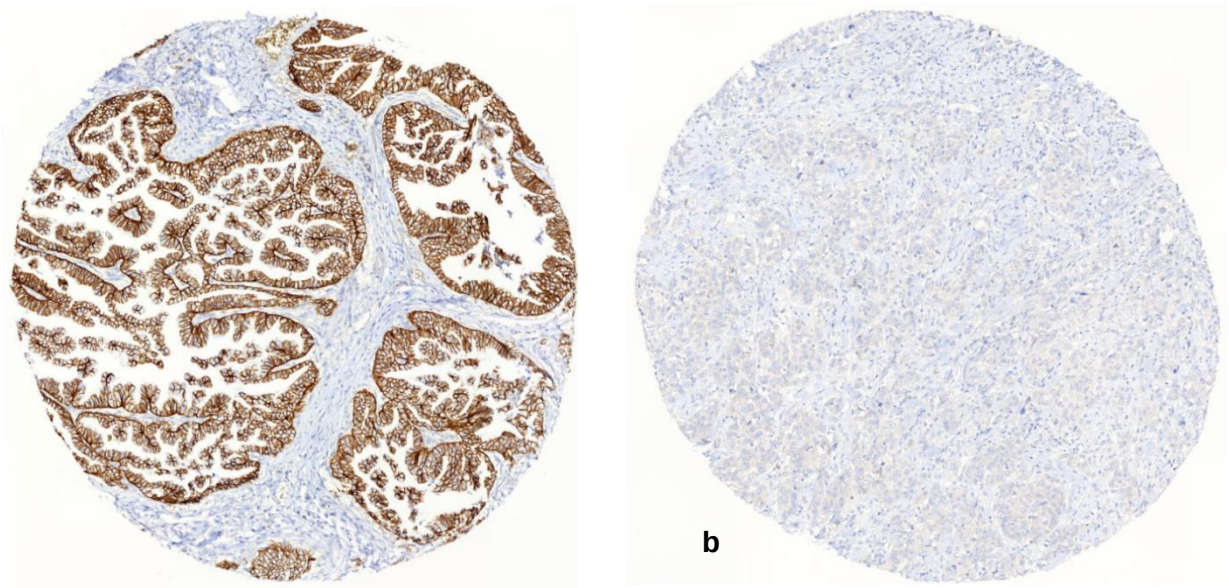


Figura 9. a) E-cadherina positivo. b) E-cadherina negativo. (7) 4X

Cada microarreglo de tejido individual fue valorado por dos patólogos. Según la tinción de inmunohistoquímica se hizo una clasificación integrada en cinco subgrupos (Algoritmo A), de la siguiente manera: Grupo 1 (EBER positivo); Grupo 2 (MSI); Grupo 3 (expresión

aberrante de E-cadherina); Grupo 4 (expresión aberrante de P53); y Grupo 5 (expresión normal de P53), además los datos se extrapolaron para la clasificación según el AGC (Algoritmo B) y el GAIC (Algoritmo C) (11) (12) (15) (82). Es importante recalcar, específicamente para clasificar los tumores como Grupo 3, GS y MSS/P53+, estos deben tener características morfológicas de tipo mesenquimatosa, que incluye: (A) células tumorales que se infiltran en el tejido del estroma como células individuales o (B) células tumorales alargadas que se asemejan a histiocitos o células del estroma como los miofibroblastos; asociado a expresión aberrante de E-cadherina (81). Los resultados de inmunohistoquímica se combinaron con los datos clínicos para el análisis estadístico.

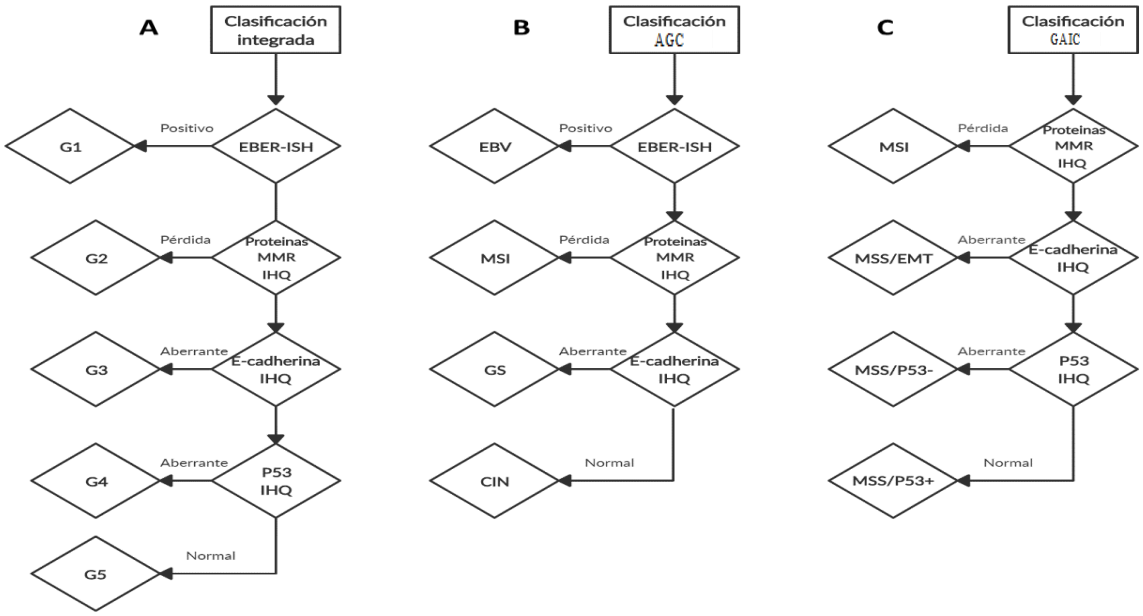


Figura 10. Algoritmo diagnostico según tinción de inmunohistoquímica. Clasificación integrada, AGC y GAIC. (11) (12) (15) (82)

Protocolo de evaluación de tinción PD L1

- Definición de puntaje positivo combinado (PPC)

La expresión de PD-L1 en el adenocarcinoma gástrico o GEJ se determina utilizando la PPC, que es el número de células de tinción de PD-L1 (células tumorales, linfocitos, macrófagos*) dividido por el total de células tumorales viables, multiplicado por 100 Aunque el resultado del cálculo puede exceder 100, la puntuación máxima se define como CPS 100.

$$PPC = \frac{\#\ Células\ con\ tinción\ PD-L1\ (células\ tumorales, linfocitos, macrófagos)}{\#\ Total\ de\ células\ tumorales\ viables} \times 100$$

Criterios de inclusión y exclusión del numerador de PPC

Cualquier tinción de membrana lineal parcial o completa convincente (≥ 1+) de células tumorales viables que se perciba como distinta de la tinción citoplásmica se considera tinción PD-L1 y debe incluirse en la puntuación.

Cualquier membrana convincente y / o tinción citoplásmica (≥ 1+) de linfocitos y macrófagos (células inflamatorias mononucleares, MIC) dentro de los nidos tumorales y / o estroma de soporte adyacente se considera tinción PD-L1 y debe incluirse en la puntuación. Solo se puntúan las MIC directamente asociadas con la respuesta contra el tumor. (Tabla 4).

Tabla 4 Criterios de inclusión / exclusión del numerador de PPC

Elementos del tejido	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	Tinción lineal completa o parcial convincente de la membrana (a cualquier intensidad) de tejido gástrico invasivo viable o células tumorales de adenocarcinoma GEJ	- Células tumorales que no tiñen - Células tumorales con solo tinción citoplásmica - Adenoma, displasia y carcinoma in situ
Células inmunes	Tinción de membrana y / o citoplasma (a cualquier intensidad) de células inflamatorias mononucleares (MIC) dentro de los nidos tumorales y el estroma de soporte adyacente: - Linfocitos (incluidos los agregados de linfocitos) - Macrófagos Solo se puntúan las MICs directamente asociadas con la respuesta al tumor.	- MICs que no tiñen - MICs asociadas con adenoma, displasia y carcinoma in situ - MICs (incluidos los agregados linfoides) asociados con úlceras, gastritis crónica y otros procesos no asociados con el tumor - MICs asociados a estructuras normales - Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas
Otras Células	No incluido	- Células normales - Células estromales (incluidos fibroblastos) - Células necróticas y / o restos celulares

Determinación de la puntuación positiva combinada

- Con aumentos bajos (4x, 10x), examine todas las áreas tumorales bien conservadas. Evalúe las áreas generales de las células tumorales que se tiñen con PD-L1 y las que no se tiñen, teniendo en cuenta que la tinción parcial de la membrana o la tinción de la membrana 1+ pueden ser difíciles de ver con aumentos bajos. Asegúrese de que haya al menos 100 células tumorales viables en la muestra

° Debe haber un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 (biopsia y resección) para que la muestra se considere adecuada para la evaluación.

- Si las muestras de pacientes incluyen más de una biopsia (es decir, 3-5 biopsias endoscópicas) en un portaobjetos, es necesario evaluar todo el tejido del portaobjetos para generar una única CPS para determinar el nivel de expresión de PD-L1. Cada biopsia no debe informarse de forma independiente

- Para muestras con menos de 100 células tumorales viables, el tejido de un nivel más profundo del bloque o potencialmente de otro bloque podría tener una cantidad suficiente de células tumorales para evaluar la expresión de PD-L1

- A mayor aumento (20x), evalúe la expresión de PD-L1 y calcule PPC:

° Determinar el número total de células tumorales viables, tanto con tinción PD-L1 como sin tinción (denominador PPC)

° Determine el número de células de tinción de PD-L1 (células tumorales, linfocitos, macrófagos) (numerador de PPC; consulte la Tabla 4 para conocer los criterios adicionales de inclusión / exclusión del numerador de PPC)

° Calcular PPC

- Se recomienda la evaluación de la tinción de la membrana con un aumento de 20x

El denominador de PPC incluye todas las células tumorales invasivas viables (tinción PD-L1 y sin tinción). Se excluyen la displasia, el carcinoma in situ y todas las demás células.

Procesamiento de datos

Tabulación de los datos

Se diligenció el formato electrónico en el que consignaron los datos sociodemográficos, clínicos e histopatológicos, requeridos para este estudio, por cada caso utilizando el software REDCap® con el fin de cumplir con los protocolos de seguridad informática para el almacenamiento de la información clínica.

Análisis de Resultados

Los datos se colectaron y analizaron usando Excel y con STATA 17. Se establecieron frecuencia y proporciones. Además, se hizo un mapa de calor que ilustró las características clinicopatológicas y el nivel de expresión de biomarcadores en la clasificación integrada, AGC y GAIC.

5. Consideraciones éticas

Declaración de conflictos

La investigación carece de conflictos de intereses desde el punto de vista de patrocinios o remuneración alguna (Art. 51 Res. 8430/2003).

Consideraciones éticas y ambientales

Este proyecto se regirá de acuerdo a las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, del Ministerio de Salud de Colombia Resolución No. 8430 del 4 de octubre de 1993, se ajusta a la normatividad internacional: declaración de Helsinki y a las pautas éticas para la investigación biomédica preparadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas "CIOMS". Se someterá a la aprobación del comité de ética del Hospital Universitario Nacional.

El proyecto se clasifica como investigación sin riesgo ya que no se realizará ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos ni se modificará el curso clínico de la enfermedad por la realización del estudio. No se realizarán acciones que generen impacto sobre el ecosistema (estudio sin impacto ambiental).

Adicionalmente, a las muestras utilizadas del archivo de bloques del laboratorio no se les efectuará consentimiento informado para su uso y este solo se considerará para la toma de información a los pacientes en que se llegara a realizarse un reporte de caso, para lo cual se usará el formato propuesto por el comité de ética del Hospital Universitario Nacional en el siguiente enlace:

https://csun.darumasoftware.com/app.php/staff/document/viewPublic/index/2898.

6. Resultados

Se realizó una evaluación completa de las variables a estudio, las cuales se resumen el siguiente gráfico de calor (Figura 11)

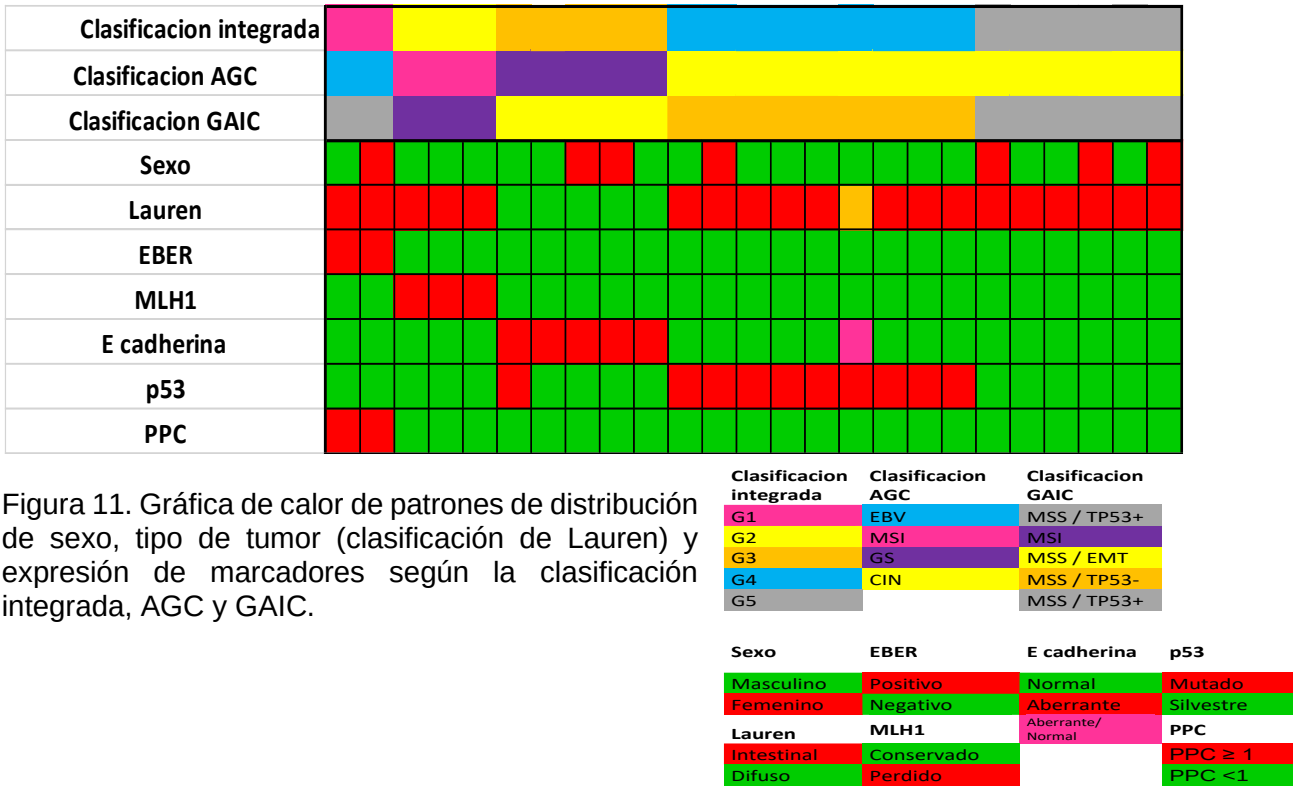


Figura 11. Gráfica de calor de patrones de distribución de sexo, tipo de tumor (clasificación de Lauren) y expresión de marcadores según la clasificación integrada, AGC y GAIC.

Características clínicas e histopatológicas de los pacientes

Para el desarrollo del presente estudio se encontraron entre el 2016 y el 2021 un total de 28 pacientes con adenocarcinoma gástrico que cumplían los criterios para ingresar al estudio. Se excluyeron 3 casos por las siguientes razones: 2 de ellos no se contaban con bloques de parafina y 1 de ellos el material fue solicita por el paciente de forma voluntaria durante la ejecución del estudio. Por lo cual, se analizaron 25 pacientes diagnosticados con dicha patología, y se realizó el análisis de las diferentes variables.

Se encontró que el promedio de edad al momento del diagnóstico fue de 64,4 ± 16,4 años (rango entre los 22 años hasta los 93 años), la edad de mayor frecuencia fue los 71 años, en donde se encontraron 3 pacientes. Respecto al sexo, el grupo más afectado fueron los hombres en un 72 % (18 hombres), mientras las mujeres correspondieron al 28 %(7

mujeres). La mayoría de los pacientes no cursaban con comorbilidades. De los pacientes que sí presentaron comorbilidades, la HTA fue la patología más prevalente, con un 13,5 % (5 pacientes) seguido de la diabetes mellitus 2 con 3 pacientes (8,1 %).

Además, se encontraron 2 pacientes con antecedente de malignidad en tratamiento, una de ellas con carcinoma de mama hace 12 años y el otro con carcinoma de próstata hace 8 años; en ellos se descartó compromiso metastásico a estómago. Por otro lado, se encontró 4 pacientes (16 %) con antecedentes familiares para malignidad en primer grado de consanguinidad (1 para Adenocarcinoma gástrico, 1 para Adenocarcinoma gástrico/Carcinoma de mama, 1 para Adenocarcinoma gástrico/Carcinoma de ovario/carcinoma de próstata y 1 para Carcinoma de mama/Carcinoma de tiroides). En cuanto a los antecedentes tóxicos, el 32 % (8 personas) afirmaban uso de tabaco (10 a 50 años de tabaquismo), solo una persona (4 %) presentaba adicionalmente alcoholismo (15 años de abuso de alcohol) y en su totalidad eran hombres.

En cuanto a los síntomas padecidos al momento del diagnóstico se encontró que los síntomas más prevalentes fueron epigastralgia y melenas (11 pacientes), seguido de la disminución de peso (7 pacientes). El resto de los síntomas se presentó con menos frecuencia.

Respecto al tipo de procedimiento quirúrgico no hubo una diferencia marcada sobre el abordaje quirúrgico de esta entidad (56 % gastrectomía total y 44 % gastrectomía subtotal), se observó un uso preferente de la gastrectomía total en el 76 % en mujeres. Cuando se analizó según la localización del tumor se encontró había una preferencia a realizar gastrectomía subtotal cuando eran de afectación distal (Antro y Antro/Píloro en el 28 % del total de los pacientes), mientras que la gastrectomía total se usó con más frecuencia en afectaciones proximales (44 % del total de pacientes con afectaciones que incluyeran cardias y/o cuerpo) (Tabla 5)

Ubicación del tumor	Gastrectomía subtotal		Gastrectomía total		Total general	
Antro	1	4 %	2	8 %	3	12 %
Antro/Píloro	6	24 %	2	8 %	8	32 %
Cardias	1	4 %	1	4 %	2	8 %
Cuerpo	1	4 %	4	16 %	5	20 %
Cuerpo/Antro	2	8 %	3	12 %	5	20 %
Cuerpo/Cardias			1	4 %	1	4 %
Total			1	4 %	1	4 %
Total general	11	44 %	14	56 %	25	100 %

Tabla 5 Ubicación del tumor y tipo de procedimiento

Cuando se evaluó la ubicación del tumor, el 32 % (8 personas) tenían ubicación en Antro/píloro, seguido del cuerpo con un 20 % (5 personas) y menos frecuente su ubicación en cuerpo/cardias y el compromiso total del estómago (Figura 12 y Tabla 5). En cuanto a la clasificación macroscópica del tumor (Clasificación de Borrmann), el 28 % fueron IV, mientras el I y el V fueron menos frecuentes (8 % cada uno) (Figura 13).

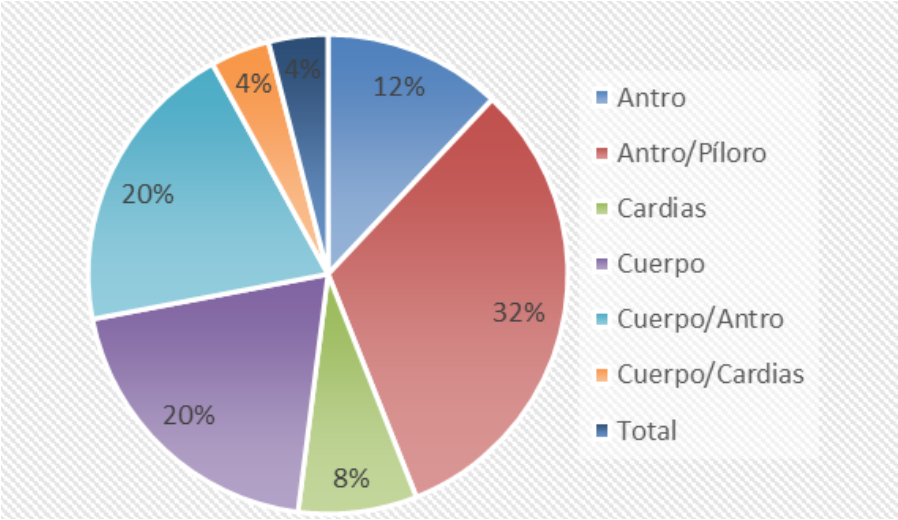


Figura 12 Ubicación del tumor en el estómago

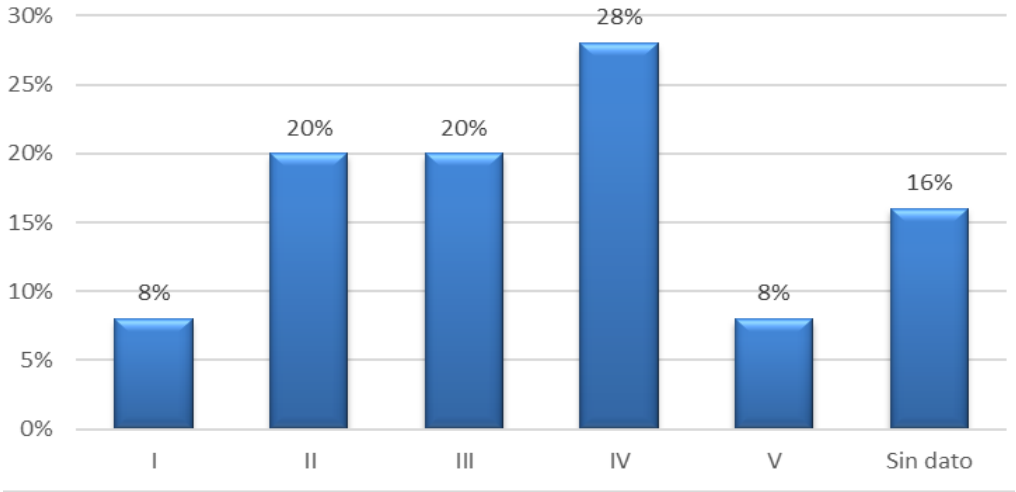


Figura 13 Clasificación Borrmann

A nivel de la evaluación histopatológica, la mayoría de los casos (76 %) eran de histología intestinal según la clasificación de Lauren (Figura 14) con una edad promedio al diagnóstico de 70,2 ± 11,7 años a diferencia del difuso que fue más temprana (44 ± 17,2 años); además se encontró que la mayoría de los subtipos intestinales se presentaban en hombres (74 %, 14 hombres) mientras que en el difuso la diferencia entre sexos no fue marcada (60 % hombres y 40 % mujeres). Cuando se categorizaron según la clasificación de la WHO más

de la mitad (68 %) eran de morfología tubular mientras que los tipos mucinosos, papilar y mixto fueron los menos frecuentes (4 % cada uno) (Figura 15). Adicionalmente, se encontró que los carcinomas de tipo intestinal casi la mitad eran clasificados como Borrmann II y III (21 % y 26 %, respectivamente) y los difusos en su mayoría eran IV (60 %) (Tabla 6). Se encontró que el 37 % de los de tipo intestinal se ubicaban a nivel antro/píloro, mientras el difuso no se observó una ubicación preferencial, pero si fue el único que tenía compromiso pangástrico (Ver Tabla 7)

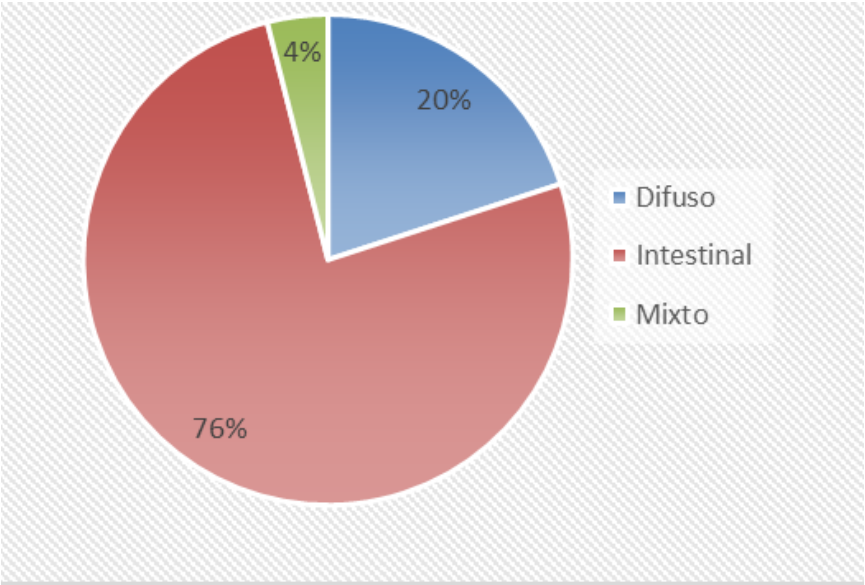


Figura 14 Clasificación de Lauren

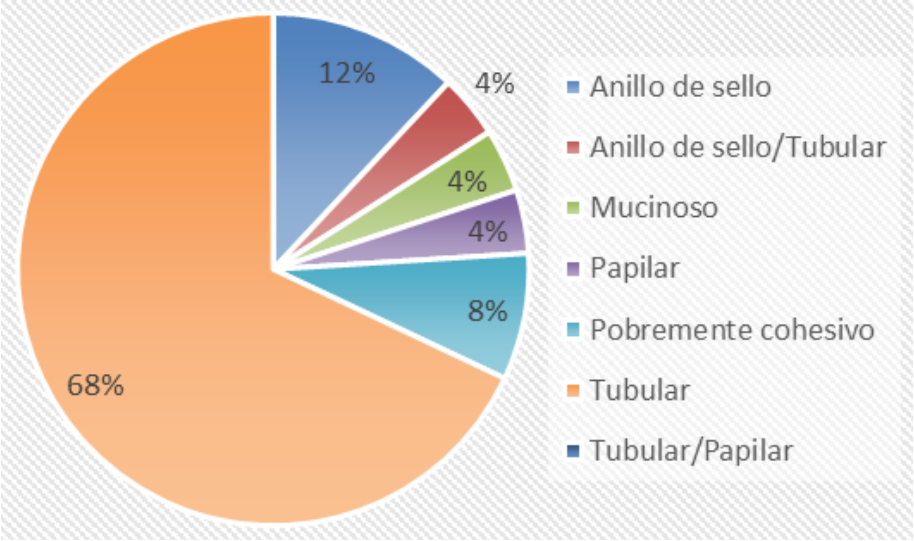


Figura 2 Clasificación de la WHO

Clasificación Borrmann	Lauren							
	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total	%
I			2	11 %			2	8 %
II	1	20 %	4	21 %			5	20 %
III			5	26 %			5	20 %
IV	3	60 %	3	16 %	1	100 %	7	28 %
V			2	11 %			2	8 %
Sin dato	1	20 %	3	16 %			4	16 %
Total general	5	20 %	19	76 %	1	4 %	25	100 %

Tabla 6 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con clasificación de macroscópica (clasificación de Borrman

Ubicación del tumor	Lauren							
	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total	%
Antro	1	20 %	1	5 %	1	100 %	3	12 %
Antro/Píloro	1	20 %	7	37 %			8	32 %
Cardias			2	11 %			2	8 %
Cuerpo	1	20 %	4	21 %			5	20 %
Cuerpo/Antro	1	20 %	4	21 %			5	20 %
Cuerpo/Cardias			1	5 %			1	4 %
Total	1	20 %					1	4 %
Total general	5	20 %	19		1	4 %	25	100 %

Tabla 7 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con ubicación en estómago

Cuando se evaluó el grado de diferenciación, se observó que el 40 % de los tumores eran pobremente diferenciados y en los intestinales con un ligero predominio moderadamente diferenciado (Tabla 8). Por otro lado, en la graduación de la WHO más de la mitad (60 %)

de los carcinomas gástricos eran de bajo grado, y los de morfología intestinal el 79 % eran de bajo grado (Tabla 9).

Grado diferenciación	Lauren							
	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total	%
Bien diferenciado			7	37 %			7	28 %
Moderadamente diferenciado			8	42 %			8	32 %
Pobremente diferenciado	5	100 %	4	21 %	1	100 %	10	40 %
Total general	5	20 %	19	76 %	1	4 %	25	100 %

Tabla 8 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con grado de diferenciación.

Grado de la WHO	Lauren							
	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total general	%
Alto Grado	5	100 %	4	21 %	1	100 %	10	40 %
Bajo Grado			15	79 %			15	60 %
Total general	5	20 %	19	76 %	1	4 %	25	100 %

Tabla 9 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con grado de la WHO.

Se identificó que la mitad de los casos tenían un T 4a o más, mientras que los T tempranos como el 1a y b eran de tan solo el 16 % de los casos, hallazgos que persiste cuando se discriminan por clasificación de Lauren (Tabla 10), adicionalmente no se observó una diferencia importante según el sexo en T4a o más (50 % de los hombres y 57 % de las mujeres), y el promedio de edad de presentación no difieren entre un T4a o mayor o menor a este (64 ± 20,1 años y 64,8 ± 12,0 años, respectivamente). Cuando se evaluó en compromiso ganglionar se observa que el 40 % de los casos no tiene compromiso y menos de un tercio de los casos tiene compromiso más extenso ganglionar (3a o más) (Tabla 10), esto mismo se repite cuando se discriminan por sexo, además, no se observan diferencias importantes entre la presencia o no de compromiso ganglionar según la edad de presentación (62,2 ± 16,6 años y 67,7 ±16,3 años, respectivamente). Ante este hallazgo se decidió adicionalmente revisar si el conteo de ganglios cumplía con el conteo óptimo de ganglios según las recomendaciones de procesamiento (al menos 16 ganglios), el conteo promedio fue de 24,6 ± 12,2 ganglios y se reconoció que el 80 % de las muestras cumplían con una adecuada disección ganglionar y las que no cumplían este requerimiento tan solo 8 % se dio un estadio ganglionar de N0 (2 casos, con un conteo de 3 y 11 ganglios en cada caso) (Tabla 11). Por otro lado, el compromiso metastásico pudo ser evaluado en dos tercios de los pacientes, donde la mitad del total de estos no tenían compromiso metastásico sin diferencias importantes con el sexo ni la edad (M0 63,3 ± 16,5 años y M1 54 ± 19,5 años), y al discriminar por tipo de tumor el 5 % de los subtipos intestinales tenían compromiso metastásico probado, mientras que los difusos el 40 % tenían compromiso a distancia. (Tabla 10)

T	Lauren							
	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total general	%
1a	1	20 %	1	5 %			2	8 %
1b			2	11 %			2	8 %
2			2	11 %			2	8 %
3	1	20 %	5	26 %			6	24 %
4a	3	60 %	8	42 %	1	100 %	12	48 %
4b			1	5 %			1	4 %
N								
0	1	20 %	9	47 %			10	40 %
1	1	20 %	2	11 %			3	12 %
2	1	20 %	3	16 %			4	16 %
3a	2	40 %	3	16 %			5	20 %
3b			2	11 %	1	100 %	3	12 %
M								
0	2	40 %	10	53 %	1	100 %	13	52 %
1	2	40 %	1	5 %			3	12 %
x	1	20 %	8	42 %			9	36 %
Total general	5	20 %	19	76 %	1	4 %	25	100 %

Tabla 10 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con estado tumoral, ganglionar y metástasis (TNM).

Ganglios recomendados	N											
	0	%	1	%	2	%	3a	%	3b	%	Total	%
≥ 16	8	80 %	2	67 %	3	75 %	4	80 %	3	100 %	20	80 %
<16	2	20 %	1	33 %	1	25 %	1	20 %			5	20 %
Total general	10	40 %	3	12 %	4	16 %	5	20 %	3	12 %	25	100 %

Tabla 11. Conteo de ganglios (≥ 16 o <16) y su relación con el compromiso ganglionar (N)

En el estadiaje por AJCC 8, se encontró que el 60 % de los casos de cáncer gástrico eran estadio IIIA o más, y llama la atención que en la mayoría de los tipos difusos (80 %) tenían un estadio IIIA o mayor con la mitad de estos casos en estadio IV. Las mujeres tuvieron representación con un paciente en cada uno de los estadios excepto en el IIA, mientras que los hombres el 61 % estaban en estadios avanzados (IIIA o más). Respecto a la edad no se observó una diferencia clara respecto al promedio de edad de presentación con el estadio en el que se encontraban (estadio IIB o menor 67,2 ± 15,7 vs estadio IIIA o más 62,5± 17,1) (Tabla 12).

Estadio	Lauren							
	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total general	%
IA	1	20 %	2	11 %			3	12 %
IB			2	11 %			2	8 %
IIA			4	21 %			4	16 %
IIB			1	5 %			1	4 %
IIIA	1	20 %	3	16 %			4	16 %
IIIB	1	20 %	4	21 %			5	20 %
IIIC			2	11 %	1	100 %	3	12 %
IV	2	40 %	1	5 %			3	12 %
Total general	5	20 %	19	76 %	1	4 %	25	100 %

Tabla 12 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) en relación con estadiaje AJCC 8.

Expresión de marcadores

Cuando se evaluaron los marcadores, se encontró positividad para EBER en el 8 % de los casos (2 casos, 1 hombre y 1 mujer), los cuales en su totalidad eran de morfología intestinal (Tabla 13). La expresión ausente de MLH1 en el 12 % de los casos (3 casos), en su totalidad eran de morfología intestinal (expresión en el 16 % de los intestinales) (Ver Tabla 13) y hombres. La aberrancia en la proteína E-cadherina se encontró en el 20 % de las muestras, todos de morfología difusa (Ver Tabla 13) y sin un predominio marcado por algún sexo (60 % hombres y 40 % mujeres). Cuando se evaluó la marcación de p53, se encontró que el 40 % eran de patrón mutado, de los cuales el 80 % eran de morfología intestinal, 10 % mixta y 10 % difusa, representando casi la mitad de todos los de tipo intestinal (Ver Tabla 13) y mayoritariamente en hombres (90 % de los p53 mutados). Además, es de destacar que la edad promedio en que se encontró la expresión alterada de estos marcadores era por encima de los 60 años, a excepción de la E-cadherina en donde su expresión aberrante se encontró en paciente con un promedio de edad de 44 ± 17,2 años.

En lo relacionado la evaluación del PPC para el PD-L1, se encontró que 8 % de los casos tenían un puntaje ≥ 1 (2 casos, 1 hombre y 1 mujer), los cuales eran de morfología intestinal y tenían adicionalmente positividad para EBER (Tabla 13, Figura 11).

	Lauren							
EBER	Difuso	%	Intestinal	%	Mixto	%	Total general	%
Negativo	5	100 %	17	89 %	1	100 %	23	92 %
Positivo			2	11 %			2	8 %
MLH1								
Conservado	5	100 %	16	84 %	1	100 %	22	88 %
Perdido			3	16 %			3	12 %
E cadherina								
Aberrante	5	100 %					5	20 %
Aberrante/Normal					1	100 %	1	4 %
Normal			19	100 %			19	76 %
p53								
Mutado	1	20 %	8	42 %	1	100 %	10	40 %
Silvestre	4	80 %	11	58 %			15	60 %
PPC								
PPC <1	5	100 %	17	89 %	1	100 %	23	92 %
PPC ≥ 1			2	11 %			2	8 %
Total general	5	20 %	19	76 %	1	4 %	25	100 %

Tabla 13 Tipo histológico de carcinoma gástrico (Clasificación de Lauren) y patrones de expresión de inmunohistoquímica e hibridización in situ.

Es importante traer en mención, que tan solo dos muestras tienen más de una alteración en las pruebas: una de ellas un tumor de morfología difusa con aberrancia de E-cadherina y patrón mutado de p53 y el otro de tipo mixto con aberrancia de E-cadherina en el componente de anillo de sello y patrón p53 mutado en el de tipo tubular (Figura 11).

Se encontró que en el grupo de los tumores T4a el 17 % de estos tenían positividad para EBER junto con puntaje PPC≥ 1 para PD-L1 (la totalidad de casos para esta marcación), y el 25 % expresión aberrante de E-cadherina. Además, un 30,8 % de los pacientes con un T4a o más mostraron p53 de patrón mutado. Es de destacar que la totalidad de los que tenían perdida del MLH1 fueron T3 correspondiendo a la mitad de los casos de este grupo T3 (Tabla 14).

De los casos que tenían compromiso ganglionar el 33,3 % además mostraron aberrante para E-cadherina (83,3 % del total de casos de este grupo E-cadherina aberrante); un 26,6 % de los de patrón p53 mutado (40 % del total de casos del grupo p53 mutado) y tan solo 6,6 % de los casos con pérdida del MLH1 (1/3 del total de casos del grupo MLH1 perdido). Sin embargo, todos los casos con positividad de EBER que tenían adicionalmente puntaje PPC≥ 1 para PD-L1 tenían compromiso ganglionar (1 caso N2 y 1 caso N3b) (Tabla 14).

En relación con el compromiso metastásico a distancia, se vio que la mitad de los casos EBER positivo (que adicionalmente presentaban PPC≥ 1) y el 33,3 % E-cadherina aberrante estaban en la categoría M1, mientras que MLH1 perdido y p53 mutado no tenían compromiso metastásico a distancia. Lo anterior teniendo en cuenta que el 36 % de los pacientes, el compromiso metastásico no podía ser evaluado (66,6 % con expresión de interés de los marcadores a estudio) (Tabla 14).

Al revisar la relación con el estadío tumoral AJCC 8, se encontró que todas las muestras positivas para EBER que adicionalmente presentaba PPC ≥ 1 para PD-L1 se encontraban en estadios avanzados IIIC y IV (33 % respectivamente). Seguido a que casi todos los que tenían expresión aberrante de E-cadherina (83,3 %) y el 40 % de los que tenían el p53 mutado, se encontraron en estadío IIIA o más. Por otro lado, los que tenían perdida de MLH1, el 66,6 % se encontraban en estadíos menores a IIIA (Tabla 14).

	Estadío																	
EBER	IA	%	IB	%	IIA	%	IIB	%	IIIA	%	IIIB	%	IIIC	%	IV	%	Total general	%
Negativo	3	100 %	2	100 %	4	100 %	1	100 %	4	100 %	5	100 %	2	67 %	2	67 %	23	92 %
Positivo													1	33 %	1	33 %	2	8 %
MLH1																		
Conservado	3	100 %	2	100 %	2	50 %	1	100 %	3	75 %	5	100 %	3	100 %	3	100 %	22	88 %
Perdido					2	50 %			1	25 %							3	12 %
E cadherina																		
Aberrante	1	33 %							1	25 %	1	20 %			2	67 %	5	20 %
Aberrante/Normal													1	33 %			1	4 %
Normal	2	67 %	2	100 %	4	100 %	1	100 %	3	75 %	4	80 %	2	67 %	1	33 %	19	76 %
p53																		
Mutado	2	67 %	2	100 %	2	50 %			1	25 %	1	20 %	2	67 %			10	40 %
Silvestre	1	33 %			2	50 %	1	100 %	3	75 %	4	80 %	1	33 %	3	100 %	15	60 %
PPC																		
PPC <1	3	100 %	2	100 %	4	100 %	1	100 %	4	100 %	5	100 %	2	67 %	2	67 %	23	92 %
PPC ≥ 1													1	33 %	1	33 %	2	8 %
Total general	3	12 %	2	8 %	4	16 %	1	4 %	4	16 %	5	20 %	3	12 %	3	12 %	25	100 %

Tabla 14 Patrones de expresión de inmunohistoquímica e hibridización in situ, en relación con estadío tumoral AJCC 8.

Clasificaciones moleculares

De acuerdo con los algoritmos propuestos en la Figura 9, se procedió a establecer los distintos grupos planteados por estos, en los casos recolectados obteniendo que la mayoría de los casos en la clasificación integrada eran G4 y G5 (36 % y 24 %, respectivamente), en la de la AGC era el grupo CIN (60 % de los casos) y en la GIAC fueron MSS/TP53- y MSS/ TP53+ (36 % y 32 %) (Tablas 15, 16 y 17).

Por otro lado, el grupo más pequeño fue el G1 con el 8 % de los casos similar al grupo EBV; además, en la mayoría de los grupos el promedio de edad estuvo por encima de los 60 años a excepción del grupos G3, GS y MSS/EMT que tenían una edad de presentación menor (44 ± 17,2 años) (Tablas 15, 16 y 17). Por otra parte, según el sexo, se puede identificar que los grupos G1, G3 y G5; EBV y GS; y MSS/EMT y MSS/ TP53+: la distribución por sexos es casi similar, con la excepción de los grupos G2 y los MSI (ACG y GAIC) que en su totalidad eran hombres. En otros como el G4 y MSS/TP53- con solo el 11,1 % y el grupo CIN con el 26,7 %, eran mujeres (Tablas 15, 16 y 17).

Algo llamativo, fue en los grupo G3, GS y MSS/EMT, donde el 40 % tenían antecedente positivo para malignidad en su mayoría de cáncer gástrico y en tan solo un caso de carcinoma de mama (Tablas 15, 16 y 17).

Sobre la ubicación del tumor, es importante destacar que para los grupos los G2 y G5 (66,6 % y 50 %, respectivamente) y los MSI (ACG y GAIC) (66,6 % en cada uno) tiende a ubicarse en regiones distales del estómago. Mientras que los G1 y EBV se ubicaban en áreas proximales en su totalidad; también para el grupo MSS/ TP53+ se vio que el 62,5 % tenían predilección por esta área. El resto de los grupos no se encontró una distribución preferente por alguna zona del estómago (Tablas 15, 16 y 17).

En cuanto a la clasificación macroscópica de Borrmann, se observó que todos los del grupo G1 y EBV tenían patrones no infiltrativos I y II, mientras que el resto de los grupos tenían un porcentaje importante de tumores macroscópicamente infiltrativos en especial el grupo G3, GS y MSS/EMT donde más de la mitad eran de variante infiltrativa difusa (60 % Borrmann IV) (Tabla 15, 16 y 17).

En lo que respecta al patrón microscópico, se evidenció que en los grupos G1, G2 y G5; EBV y MSI; y MSI y MSS/P53+: la totalidad de sus casos eran de patrón intestinal de Lauren y tubular de la WHO. Por otro lado, los grupos G3, GS y MSS/EMT: todos sus casos eran de patrón difuso ya sean anillo de sello o pobremente cohesivo de la WHO. Y los grupos G4, CIN y MSS/P53- tenían representación de varios patrones intestinales de la WHO y uno de componente mixto.

En la graduación tumoral, los G1 y G2; EBV y MSI; y MSI: todos sus casos eran de bajo grado; seguido de los grupos G4 y MSS/P53-: en un 77,8 %; los CIN con un 66,7 % y los MSS/P53+; los grupo G5 hubo representación equitativa y en los G3, GS y MSS/EMT la totalidad fueron de alto grado (Tabla 15, 16 y 17).

Cuando se realizó la evaluación de la infiltración tumoral (T), se encontró que la mayoría de grupos sus pacientes se encontraban en un T4a o más entre un 40 a 100 % de sus casos, con distinción de los grupos G2 y los MSI en donde todos se encontraban en un T3.

En lo que tiene que ver con compromiso ganglionar, destacan los grupos G2 y G4; MSI; MSI y MSS/TP53-: en estos grupos se encontró un mayor porcentaje de ausencia de compromiso ganglionar (entre 55,6 % al 66,7 %). (Tabla 15, 16 y 17).

Aunque en los grupos G4 y MSS/TP53- el 77,8 % y en los CIN el 60 % no tenían compromiso metastásico a distancia. Hay que poner en claro que un porcentaje considerable, especialmente en otros grupos, tenían un M no clasificable (Tabla 15, 16 y 17).

Con el estadiaje AJCC8, se observó que el grupos como el G2 y los MSI; y G4 y MSS/TP53- poseían un 66,7 % y 55,5 %, respectivamente, de casos con un estadio menor a IIIA; el resto de grupos tenían una representación importante en estadios avanzados IIIA o mayores, algunos con la totalidad de sus casos como el grupo G1 y EBV (G3, GS y MSS/EMT el 80 %, MSS/TP53+ el 75 % y G5 66,7 %) (Tabla 15, 16 y 17).

	Clasificación integrada											
	G1		G2		G3		G4		G5		Total general	
%(N)	8 %	2	12 %	3	20 %	5	36 %	9	24 %	6	100 %	25
Edad	69,5 ± 4,9		69 ± 7,8		44 ± 17,2		70 ± 14,5		69 ± 12,6		64,4 ± 16,4	
Sexo												
Mujer	50,0 %	1	0,0 %		40,0 %	2	11,1 %	1	50,0 %	3	28 %	7
Hombre	50,0 %	1	100,0 %	3	60,0 %	3	88,9 %	8	50,0 %	3	72 %	18
Antecedente familiar *												
Positivo	0,0 %		0,0 %		40,0 %*	2	11,1 %	1	16,7 %	1	16 %	4
Negativo	100,0 %	2	100,0 %	3	60,0 %	3	88,9 %	8	83,3 %	5	84 %	21
Ubicación del tumor												
Antro	0,0 %		33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	0,0 %		12 %	3
Antro/Píloro	0,0 %		33,3 %	1	20,0 %	1	33,3 %	3	50,0 %	3	32 %	8
Cardias	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		8 %	2
Cuerpo	50,0 %	1	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	20,0 %	1	20 %	5
Cuerpo/Antro	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	33,3 %	3	16,7 %	1	20 %	5
Cuerpo/Cardias	0,0 %		0,0 %		0,0 %				16,7 %	1	4 %	1
Total					20,0 %	1						
Borrmann												
I	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		8 %	2
II	50,0 %	1	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	16,7 %	1	20 %	5
III	0,0 %		66,7 %	2	0,0 %		0,0 %		50,0 %	3	20 %	5
IV	0,0 %		0,0 %		60,0 %	3	33,3 %	3	16,7 %	1	28 %	7
V	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	16,7 %	1	8 %	2
Sin dato	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	33,3 %	3	0,0 %		16 %	4
Lauren												
Difuso	0,0 %		0,0 %		100,0 %	5	0,0 %		0,0 %		20 %	5
Intestinal	100,0 %	2	100,0 %	3	0,0 %		88,9 %	8	100,0 %	6	76 %	19
Mixto	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
WHO												
Anillo de sello	0,0 %		0,0 %		60,0 %	3	0,0 %		0,0 %		12 %	3
Anillo de sello/Tubular	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
Mucinoso	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
Papilar	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
Pobremente cohesivo	0,0 %		0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		0,0 %		8 %	2
Tubular	100,0 %	2	100,0 %	3	0,0 %		66,7 %	6	100,0 %	6	68 %	17
Grado												
Alto Grado	0,0 %		0,0 %		100,0 %	5	22,2 %	2	50,0 %	3	40 %	10
Bajo Grado	100,0 %	2	100,0 %	3	0,0 %		77,8 %	7	50,0 %	3	60 %	15
T												
1a	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	11,1 %	1	0,0 %		8 %	2
1b	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	16,7 %	1	8 %	2
2	0,0 %		0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		8 %	2
3	0,0 %		100,0 %	3	20,0 %	1	11,1 %	1	16,7 %	1	24 %	6
4a	100,0 %	2	0,0 %		60,0 %	3	33,3 %	3	66,7 %	4	48 %	12
4b	0,0 %		0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
N												
0	0,0 %		66,7 %	2	20,0 %	1	55,6 %	5	33,3 %	2	40 %	10
1	0,0 %		0,0 %		33,3 %	1	0,0 %		33,3 %	2	12 %	3
2	50,0 %	1	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	0,0 %		16 %	4
3a	0,0 %		0,0 %		40,0 %	2	11,1 %	1	33,3 %	2	20 %	5
3b	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		12 %	3
M												
0	50,0 %	1	33,3 %	1	40,0 %	2	77,8 %	7	33,3 %	2	52 %	13
1	50,0 %	1	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		0,0 %		12 %	3
x	0,0 %		66,7 %	2	20,0 %	1	22,2 %	2	66,7 %	4	36 %	9
AJCC8												
IA	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	11,1 %	1	16,7 %	1	12 %	3
IB	0,0 %		0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		8 %	2
IIA	0,0 %		66,7 %	2	0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		16 %	4
IIB	0,0 %		0,0 %		0,0 %		0,0 %		16,7 %	1	4 %	1
IIIA	0,0 %		33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	16,7 %	1	16 %	4
IIIB	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	11,1 %	1	50,0 %	3	20 %	5
IIIC	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		12 %	3
IV	50,0 %	1	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		0,0 %		12 %	3

Tabla 15 Distribución de los diferentes subtipos según la clasificación integrada en relación con los diferentes parámetros clinicopatológicos.

*antecedente familiar de malignidad en primer grado de consanguinidad (encontrados: cáncer gástrico en la mayoría de los casos positivos a excepción de uno que era de mama y tiroides)

Clasificacion AGC										
	EBV		MSI		GS		CIN		Total general	
%(N)	8 %	2	12 %	3	20 %	5	60 %	15	100 %	25
Edad	69,5 ± 4,9		69 ± 7,8		44 ± 17,2		70 ± 14,5		64,4 ± 16,4	
Sexo										
Mujer	50,0 %	1	0,0 %		40,0 %	2	26,7 %	4	28 %	7
Hombre	50,0 %	1	100,0 %	3	60,0 %	3	73,3 %	11	72 %	18
Antecedente familiar *										
Positivo	0,0 %		0,0 %		40,0 %	2	13,3 %	2	16 %	4
Negativo	100,0 %	2	100,0 %	3	60,0 %	3	100,0 %	15	84 %	21
Ubicación del tumor										
Antro	0,0 %		33,3 %	1	20,0 %	1	6,7 %	1	12 %	3
Antro/Píloro	0,0 %		33,3 %	1	20,0 %	1	40,0 %	6	32 %	8
Cardias	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	8 %	2
Cuerpo	50,0 %	1	33,3 %	1	20,0 %	1	13,3 %	2	20 %	5
Cuerpo/Antro	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	26,7 %	4	20 %	5
Cuerpo/Cardias	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
Total					20,0 %	1				
Borrmann										
I	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	8 %	2
II	50,0 %	1	33,3 %	1	20,0 %	1	13,3 %	2	20 %	5
III	0,0 %		66,7 %	2	0,0 %		20,0 %	3	20 %	5
IV	0,0 %		0,0 %		60,0 %	3	26,7 %	4	28 %	7
V	0,0 %		0,0 %		0,0 %		13,3 %	2	8 %	2
Sin dato	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	20,0 %	3	16 %	4
Lauren										
Difuso	0,0 %		0,0 %		100,0 %	5	0,0 %		20 %	5
Intestinal	100,0 %	2	100,0 %	3	0,0 %		93,3 %	14	76 %	19
Mixto	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
WHO										
Anillo de sello	0,0 %		0,0 %		60,0 %	3	0,0 %		12 %	3
Anillo de sello/Tubular	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
Mucinoso	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
Papilar	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
Pobremente cohesivo	0,0 %		0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		8 %	2
Tubular	100,0 %	2	100,0 %	3	0,0 %		80,0 %	12	68 %	17
Grado										
Alto Grado	0,0 %		0,0 %		100,0 %	5	33,3 %	5	40 %	10
Bajo Grado	100,0 %	2	100,0 %	3	0,0 %		66,7 %	10	60 %	15
T										
1a	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	6,7 %	1	8 %	2
1b	0,0 %		0,0 %		0,0 %		13,3 %	2	8 %	2
2	0,0 %		0,0 %		0,0 %		13,3 %	2	8 %	2
3	0,0 %		100,0 %	3	20,0 %	1	13,3 %	2	24 %	6
4a	100,0 %	2	0,0 %		60,0 %	3	46,7 %	7	48 %	12
4b	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
N										
0	0,0 %		66,7 %	2	20,0 %	1	46,7 %	7	40 %	10
1	0,0 %		0,0 %		33,3 %	1	13,3 %	2	12 %	3
2	50,0 %	1	33,3 %	1	20,0 %	1	6,7 %	1	16 %	4
3a	0,0 %		0,0 %		40,0 %	2	20,0 %	3	20 %	5
3b	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		13,3 %	2	12 %	3
M										
0	50,0 %	1	33,3 %	1	40,0 %	2	60,0 %	9	52 %	13
1	50,0 %	1	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		12 %	3
x	0,0 %		66,7 %	2	20,0 %	1	40,0 %	6	36 %	9
AJCC8										
IA	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	13,3 %	2	12 %	3
IB	0,0 %		0,0 %		0,0 %		13,3 %	2	8 %	2
IIA	0,0 %		66,7 %	2	0,0 %		13,3 %	2	16 %	4
IIB	0,0 %		0,0 %		0,0 %		6,7 %	1	4 %	1
IIIA	0,0 %		33,3 %	1	20,0 %	1	13,3 %	2	16 %	4
IIIB	0,0 %		0,0 %		20,0 %	1	26,7 %	4	20 %	5
IIIC	50,0 %	1	0,0 %		0,0 %		13,3 %	2	12 %	3
IV	50,0 %	1	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		12 %	3

Tabla 16 Distribución de los diferentes subtipos según la clasificación AGC en relación con los diferentes parámetros clinicopatológicos.

*antecedente familiar de malignidad en primer grado de consanguinidad (encontrados: cáncer gástrico en la mayoría de los casos positivos a excepción de uno que era de mama y tiroides)

	Clasificacion GIAC									
	MSI		MSS / EMT		MSS / TP53-		MSS / TP53+		Total general	
%(N)	12 %	3	20 %	5	36 %	9	32 %	8	100 %	25
Edad	69 ± 7,8		44 ± 17,2		70 ± 14,5		69,1 ± 10,9		64,4 ± 16,4	
Sexo										
Mujer	0,0 %		40,0 %	2	11,1 %	1	50,0 %	4	28 %	7
Hombre	100,0 %	3	60,0 %	3	88,9 %	8	50,0 %	4	72 %	18
Antecedente familiar *										
Positivo	0,0 %		40,0 %	2	11,1 %	1	12,5 %	1	16 %	4
Negativo	100,0 %	3	60,0 %	3	88,9 %	8	87,5 %	7	84 %	21
Ubicación del tumor										
Antro	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	0,0 %		12 %	3
Antro/Píloro	33,3 %	1	20,0 %	1	33,3 %	3	37,5 %	3	32 %	8
Cardias	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	12,5 %	1	8 %	2
Cuerpo	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	25,0 %	2	20 %	5
Cuerpo/Antro	0,0 %		20,0 %	1	33,3 %	3	12,5 %	1	20 %	5
Cuerpo/Cardias	0,0 %		0,0 %				12,5 %	1	4 %	1
Total			20,0 %	1						
Borrmann										
I	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	12,5 %	1	8 %	2
II	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	25,0 %	2	20 %	5
III	66,7 %	2	0,0 %		0,0 %		37,5 %	3	20 %	5
IV	0,0 %		60,0 %	3	33,3 %	3	12,5 %	1	28 %	7
V	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	12,5 %	1	8 %	2
Sin dato	0,0 %		20,0 %	1	33,3 %	3	0,0 %		16 %	4
Lauren										
Difuso	0,0 %		100,0 %	5	0,0 %		0,0 %		20 %	5
Intestinal	100,0 %	3	0,0 %		88,9 %	8	100,0 %	8	76 %	19
Mixto	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
WHO										
Anillo de sello	0,0 %		60,0 %	3	0,0 %		0,0 %		12 %	3
Anillo de sello/Tubular	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
Mucinoso	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
Papilar	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
Pobremente cohesivo	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		0,0 %		8 %	2
Tubular	100,0 %	3	0,0 %		66,7 %	6	100,0 %	8	68 %	17
Grado										
Alto Grado	0,0 %		100,0 %	5	22,2 %	2	37,5 %	3	40 %	10
Bajo Grado	100,0 %	3	0,0 %		77,8 %	7	62,5 %	5	60 %	15
T										
1a	0,0 %		20,0 %	1	11,1 %	1	0,0 %		8 %	2
1b	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	12,5 %	1	8 %	2
2	0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		8 %	2
3	100,0 %	3	20,0 %	1	11,1 %	1	12,5 %	1	24 %	6
4a	0,0 %		60,0 %	3	33,3 %	3	75,0 %	6	48 %	12
4b	0,0 %		0,0 %		11,1 %	1	0,0 %		4 %	1
N										
0	66,7 %	2	20,0 %	1	55,6 %	5	25,0 %	2	40 %	10
1	0,0 %		33,3 %	1	0,0 %		25,0 %	2	12 %	3
2	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	12,5 %	1	16 %	4
3a	0,0 %		40,0 %	2	11,1 %	1	25,0 %	2	20 %	5
3b	0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	12,5 %	1	12 %	3
M										
0	33,3 %	1	40,0 %	2	77,8 %	7	37,5 %	3	52 %	13
1	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		12,5 %	1	12 %	3
X	66,7 %	2	20,0 %	1	22,2 %	2	50,0 %	4	36 %	9
AJCC8										
IA	0,0 %		20,0 %	1	11,1 %	1	12,5 %	1	12 %	3
IB	0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		8 %	2
IIA	66,7 %	2	0,0 %		22,2 %	2	0,0 %		16 %	4
IIB	0,0 %		0,0 %		0,0 %		12,5 %	1	4 %	1
IIIA	33,3 %	1	20,0 %	1	11,1 %	1	12,5 %	1	16 %	4
IIIB	0,0 %		20,0 %	1	11,1 %	1	37,5 %	3	20 %	5
IIIC	0,0 %		0,0 %		22,2 %	2	12,5 %	1	12 %	3
IV	0,0 %		40,0 %	2	0,0 %		12,5 %	1	12 %	3

Tabla 17 Distribución de los diferentes subtipos según la clasificación GAIC en relación con los diferentes parámetros clinicopatológicos.

*antecedente familiar de malignidad en primer grado de consanguinidad (encontrados: cáncer gástrico en la mayoría de los casos positivos a excepción de uno que era de mama y tiroides

7. Discusión

El adenocarcinoma gástrico es un tumor heterogéneo y se han hecho muchos intentos para clasificar estos tumores para una mejor comprensión de la patogenia y para mejorar el tratamiento y manejo de la enfermedad (85). Dado que la histología sigue siendo el paso básico del diagnóstico primario, las clasificaciones histológicas como la de Lauren o la clasificación de la OMS todavía tienen valor, por ejemplo, para dirigir el procedimiento quirúrgico. Más recientemente, el análisis molecular ha revelado una visión más detallada de la patogenia, así como del tratamiento dirigido del tumor. Los análisis moleculares más completos y detallados han sido realizados por dos grupos, el ACG y el GAIC, utilizando varias plataformas metodológicas (5,6). Sin embargo, estas clasificaciones tienen dos inconvenientes: en primer lugar, el rendimiento técnico de este análisis es muy exigente, complejo, requiere mucho tiempo y es costoso, y se ha desarrollado en tejido fresco congelado. Por lo tanto, sólo son aplicables de manera limitada al tejido tumoral fijado en formalina e incluido en parafina normalmente disponible en la práctica clínica. En segundo lugar, aunque ambas clasificaciones definen cuatro subtipos moleculares, estos subtipos solo muestran una superposición parcial, lo que genera incertidumbre, ya que aún falta una clasificación unificadora (85). Para superar el primero de estos problemas, se han informado varios enfoques simplificados mediante el uso de inmunohistoquímica e hibridación in situ (Tabla 18).

Clasificación					
	EBV	**MSI**	**E-Cadherina/ EMT**	**MSS/P53-**	**MSS/P53+**
Estudio Colombia HUN	8 %	12 %	20 %	36 %	24 %
TCGA, 2014	8,8 %	21,7 %	19,7 %	49,8 %	
ACRG, 2015	-	22,7 %	15,3 %	35,7 %	26,3 %
Sun Y 2019 China	1,2 %	12,7 %	19,4 %	47,9 %	18,8 %
Ahn S 2017 R. Corea	7,4 %	6,9 %	15,2 %	49 %	21,5 %
Diaz C 2018 España	-	23,5 %	6 %	17 %	53,5 %
Birkman EM 2018 Finlandia	7,3 %	7,7 %	11,2 %	43,9 %	29,7 %
Gonzalez RS 2016 USA	7 %	16 %	38 %*	38 %	-
Kim HS 2016 R. Corea	3,3 %	4,8 %	-	59 %	-
Setia N 2016 USA	5 %	16 %	21 %	51 %	7 %
Yoon JY, 2019 Canadá	2,8 %	21,5 %	25,2 %*	21,4 %	31,1 %
Di Pinto F, 2020 Italia	2,9 %	7,2 %	11,4 %	61,49 %	17,1 %
Pinto MP, 2020 Chile	13 %	12 %	29 %	25 %	25 %
Ramos MFKP, 2021 Brasil	10,5 %	20,9 %	9,1 %	36,6 %	31 %
Nshizirungu JP, 2021 Marruecos	6,2 %	13,4 %	28,9 %	31,9 %	19,6 %
Duan T, 2021 Suiza	1,7 %	17,4 %	8,7 %	45,2 %	37,4 %

*Asignado por descarte. TCGA (Atlas del Genoma del cancer, ACG). ACRG (Grupo Asiático de Investigación del Cáncer, GAIC)

Tabla 18. Estudios que aplican la clasificación molecular del cáncer gástrico.

Hoy en día, la detección de EBV por EBER ISH se considera el estándar de oro para la detección de cáncer asociado con EBV y puede usarse de manera fácil y confiable para diagnosticar cualquier tumor asociado (85). A pesar de que los carcinomas gástricos EBV positivos se han asociado más con tumores pobremente diferenciados con abundante infiltrado inflamatorio, denominados carcinomas gástricos con estroma linfoide, anteriormente carcinoma medular, carcinoma gástrico indiferenciado con intenso infiltrado

linfocitario o carcinoma tipo linfoepitelioma (83). Se han informado otras dos variantes histológicas de carcinomas gástricos asociados con EBV, como: Los carcinomas tubulares con desmoplasia limitada, un número menor de linfocitos que de células tumorales y folículos linfoides prominentes con centros germinales activos denominados carcinomas con reacción linfoide similar a la enfermedad de Crohn; y el otro, son adenocarcinomas de tipo intestinal bien diferenciados, con escaso infiltrado linfocitario (84). En nuestro estudio la totalidad de los casos asociados a infección por EBV eran de morfología intestinal bien diferenciada.

La prevalencia de cánceres gástricos positivos para VEB varía ampliamente en todo el mundo (entre 0 % y 23,6 %), con una tasa promedio de aproximadamente 10 % (83). Para Colombia ha habido reportes recientes que informan una tasa de positividad de EBV del 21,4 % (84), diferente a los documentado en este estudio (8 % de los casos). Por otro lado, se ha informado en varios estudios un predominio en hombres del subtipo EBV (83), contrario a lo encontrado en nuestro estudio donde había afectación igual en ambos sexos. Adicionalmente, la localización proximal se ha reportado con mayor frecuencia en estos tipos (83), similar a lo que encontramos en este grupo de pacientes.

Para los tumores MSI, se ha demostrado que la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras de errores de emparejamiento (MMR) por IHC es un marcador sensible, aunque este último puede pasar por alto a un pequeño grupo de pacientes, a saber, aquellos con síndrome de Lynch.

El subtipo MSI se informó en las tres clasificaciones (AGC, GAIC y clasificación integrada). El 12 % de las muestras del estudio tuvieron MSI, una frecuencia esperada dentro del rango publicado en la literatura (8.2-37 %) (65).

Tanto los estudios del AGC como del GAIC informaron de un subtipo distintivo caracterizado por la baja adhesión celular y menor número de mutaciones, denominados GS y MSS/EMT, respectivamente (6)(62) y comparten similitudes con el subtipo de expresión aberrante de E-cadherina de la clasificación integrada. En nuestras muestras, este subtipo se caracterizaba por expresión aberrante de E-cadherina, morfología histológica difusa y presentación a una edad más temprana. Además, es importante la distinción de este grupo debido al alto riesgo y la agresividad informada (83).

Aunque puede haber dificultad para evaluar el grupo anterior usando únicamente la E-cadherina como marcado, la cual no siempre nos da un patrón de ausencia de expresión si no patrones de aberrancia que pueden dificultar su interpretación y hacer clasificar de manera incorrecta este grupo. La distinción debería basarse en lo siguiente: 1) los tumores GS en casi su totalidad son de histología difusa en el estudio AGC, con defectos frecuentes en la adhesión celular; 2) la presencia de HER2 e histología difusa son mutuamente excluyentes; y 3) la adición de otros marcadores implicaría un desafío significativo en la implementación clínica de un algoritmo de subtipificación (85). Por lo anterior, en varios estudios se evitó el uso de la IHQ para E-cadherina y los tumores se asignaron al grupo GS, MSS/EMT o expresión aberrante de E-cadherina, solo por el hecho de tener morfología difusa en la totalidad del tumor (85).

Dentro de los subtipos AGC, el subtipo CIN fue el más grande, con el 60 % de los casos. Este grupo se caracterizó por la alta frecuencia de expresión aberrante de p53 y se encontró que la mayoría son de tipo intestinal, y una parte de estos corresponden a los subtipos MSS/p53- (clasificación GAIC) y G4 (clasificación integrada). Esto es similar a los resultados informados en otros estudios (6)(83)(85). Es de destacar en este grupo la presencia de sobreexpresión de HER2 (85), la cual no fue evaluada por nuestro estudio.

A nivel inmunohistoquímico la evaluación del p53 para carcinoma gástrico, que se ha utilizado como marcador subrogado en la clasificación, se ha evaluado de manera diferente: algunos autores calificaron exclusivamente la sobreexpresión de p53 de las células tumorales, utilizando diferentes puntos de corte, mientras que otros incluyeron la pérdida de p53 como expresión aberrante en su análisis (83). Se ha evaluado, combinando la inmunohistoquímica para p53 incluida la pérdida y la sobreexpresión, y la secuenciación del gen TP53 utilizando una técnica NGS disponible comercialmente aplicable a tejido embebido en parafina, y se ha encontrado que en tumores con expresión aberrante de p53, la NGS identificó mutaciones TP53 de truncamiento en el 60 % de los pacientes con pérdida de la expresión de p53, que sirven como causa molecular de la falta de la señal de p53 y su pérdida de la función; y en el 90 % de los pacientes con sobreexpresión de p53, se detectaron mutaciones sin sentido en TP53 (83). Una explicación de que en el 10 % de los casos con sobreexpresión de p53 y en el 40 % de los pacientes con pérdida de expresión de p53 no se detectara ninguna mutación de TP53 podría explicarse por las regiones evaluada por el panel de NGS, ya que sólo cubren el 80 % de la región de codificación TP53 . Otras razones para la pérdida de la expresión de p53 con la falta de mutaciones en TP53 podrían ser aberraciones cromosómicas, como deleciones focales del gen TP53 o pérdida del cromosoma 17q13 (83). Por lo tanto, la metodología por inmunohistoquímica puede ser un buen método para evaluar las mutaciones del p53 en carcinoma gástrico.

A la luz de la posible viabilidad de usar esta estratificación para reflejar las alternancias moleculares aproximadas, se investigó más a fondo la expresión diferencial de PD-L1 en cada subtipo molecular de esta clasificación. Se demostró que PD-L1 en los grupos asociados a infección para EBV y MSI, lo cual es similar a lo observado en otros estudios moleculares recientes que revelaron su estado inmunitario alterado (3). Los tumores positivos para EBV exhiben hipermetilación extrema del ADN, alta tasa de mutación de PIK3CA y ARID1A y amplificación frecuente de JAK2 y PD-L1/2 (3). Y en los tumores MSI se observan puntos críticos mutacionales dentro de genes objetivo (p. ej., PIK3CA, ERBB2, ERBB3, EGFR, ARID1A, KRAS y ALK) (3). Estos genes hipermutados albergados por esta clase de tumores, genera una presencia mayor de neoantígenos específicos, los cuales son blanco en la inmunoterapia mediante la mejora del sistema inmunológico del huésped (3). El hallazgo de la positividad de PD-L1 con preferencia por en cánceres gástricos EBV positivos y con MSI, también fue igual a la descrita por el AGC (5). Además, en otro estudio reciente se verificó la respuesta clínica a la terapia de bloqueo de PD-1 en los subgrupos de MSI y EBV de pacientes con cáncer gástrico metastásico (86). Por lo tanto, esta

clasificación simplificada podría ser una ayuda útil para priorizar la terapia anti-PD-1/PD-L1 en estos dos subgrupos de pacientes con cáncer gastico (3).

Es importante destacar que el cáncer gástrico positivo para EBV se ha asociado con frecuencia a una expresión elevada del ligando 1 de muerte programada (PD-L1), en nuestro estudio la totalidad de los casos asociados a EBV, tenían un score de PD-L1 positivo, como se ha observado en otros estudios (63, 67, 70-72). Teniendo en cuenta los subtipos determinados por estos sistemas de clasificación, los tumores asociados con virus de EBV representan el principal punto de divergencia entre la AGC y el GAIC. En la Clasificación AGC, es el primer grupo en ser discriminado (62) (11) al igual que en la clasificación integrada. En cambio, la Clasificación GAIC no contempla EBV como un subtipo por separado (6). Dado que este subtipo es un candidato potencial para la inmunoterapia (78) en especial para el manejo con anti PD-L1, se vuelve clínicamente interesante mantener los tumores EBV positivos como un subtipo distinto, de ahí unas de las justificaciones para usar la clasificación integrada propuesta (11) (12) (15) (82).

En los tumores MSI, se ha visto respuesta de tumores sólidos a la inmunoterapia anti-PD1/PD-L1 (83). Adicionalmente se asocia a mejor supervivencia general (6) (11) (85). La mejora de la supervivencia de los pacientes con cáncer gástrico MSI podría explicarse por la importante infiltración de células T en estos tumores. De hecho, los tumores MSI se caracterizan por mutaciones de cambio de marco, lo que genera péptidos anormales que pueden presentarse a los linfocitos T citotóxicos (83). Aunque en general la mayoría de estudios encuentran expresión para PD-L1 (3), nuestros hallazgos no encontraron un puntaje positivo para este grupo, quizás debido a los pocos casos evaluados y al muestreo de tan solo una parte del tumor.

8. Conclusiones

En el presente estudio, clasificamos, por primera vez, en una población colombiana los cánceres gástricos en subtipos moleculares utilizando biomarcadores comercialmente accesibles y técnicas disponibles en la práctica diagnóstica de rutina, aplicando la metodología de los microarreglos de tejido para el análisis conjunto de múltiples muestras sobre una única lámina. Investigamos las asociaciones entre los subtipos moleculares de cáncer gástrico y las características clinicopatológicas. Los resultados se interpretaron siguiendo clasificación AGC (EBV, MSI, GS y CIN), clasificación GAIC (MSS/EMT, MSI, MSS/P53-, y MSS/P53+) y la clasificación integrada (G1: EBV, G2: MSI, G3: E-cadherina aberrante, G4: P53 aberrante y G5: P53 normal) en nuestra población (11) (12) (15) (82).

El análisis mediante inmunohistoquímica e hibridización in situ puede distinguir grupos inmunofenotípicos del cáncer gástrico los cuales tienen unas características clinicopatológicas y pronóstico distintas, que puede encajarse a los subtipos de las clasificaciones moleculares. En consecuencia, esta metodología de clasificación puede permitir definir de una forma menos compleja y costosa estos subtipos de cáncer gástrico en la práctica clínica diaria, contribuyendo a la planificación terapéutica, impulsando la terapia diana y el tratamiento individualizado. Por lo cual su uso en ambientes con tecnologías restringidas puede ser útil para llegar a un consenso integral de esta clasificación.

Además, la expresión de PD-L1 se asocia positivamente con los tumores que presentan infección por EBV, volviendo este marcador importante para evaluación de este grupo de paciente con cáncer gástrico para el posible uso de terapias target que puedan mejorar su pronóstico.

La principal limitación del presente estudio es el número de casos relativamente pequeño con un material histológico representativo del tumor en los cuales no se utilizaron pruebas moleculares adicionales para corroborar estos hallazgos, y no fue posible hacer una evaluación pronostica de cada uno de los pacientes. A pesar de estas limitaciones, la fortaleza de este estudio radica en la integración de las propuestas de clasificación vigentes, así como en la optimización de las herramientas (IHQ y CISH) para abordar este problema y generar datos que puedan compararse con otros estudios.

En resumen, nuestros datos muestran que la clasificación molecular del cáncer gástrico se puede lograr mediante el uso de ensayos disponibles comercialmente, incluidos la IHQ y el ISH. La clasificación molecular es un requisito indispensable para comprender mejor lo devastadora que puede ser esta enfermedad. Para superar la divergencia de las dos clasificaciones (ACG y GAIC), la propuesta de un flujo combinado mediante el uso de la clasificación integral, puede establecer un marco para una futura clasificación de consenso molecular integral para el adenocarcinoma gástrico y discriminar grupos blancos para terapias como las antiPD-L1.

9. Bibliografía

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021 May;71(3):209-249.

2. Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, Offerhaus GJA, Maciejewski R, Polkowski WP. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. Cancer Manag Res. 2018; 10:239-48.

3. Sun Y, Yu W, Guan W, Cai L, Qiao M, Zheng L, Jiang R, Wang R, Wang L. Integrated assessment of PD-L1 expression and molecular classification facilitates therapy selection and prognosis prediction in gastric cancer. Cancer Manag Res. 2019; 11: 6397-410.

4. Lahmidani N, et al. Update on Gastric Cancer Epidemiology and Risk Factors. Journal of Cancer Therapy. 2018; 9:242-54.

5. Network CGAR. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. Nature. 2014; 513(7517):202-9.

6. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim KM, Ting JC, Wong SS, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. Nat Med. 2015; 21(5):449-56.

7. Birkman EM, Mansuri N, Kurki S, Ålgars A, Lintunen M, Ristamäki R, Sundström J, Carpén O. Gastric cancer: immunohistochemical classification of molecular subtypes and their association with clinicopathological characteristics. Virchows Arch. 2018; 472(3): p. 369-82.

8. R Oliveros, RE Pinilla, H Facundo-Navia, R Sánchez-Pedraza. Cáncer gástrico: una enfermedad prevenible. Estrategias para intervención en la historia natural. Rev. colomb. Gastroenterol. 2019; 34(2): 177-89.

9. Díaz Del Arco C, Estrada Muñoz L, Molina Roldán E, Cerón Nieto MÁ, Ortega Medina L, García Gómez de Las Heras S, Fernández Aceñero MJ. Immunohistochemical classification of gastric cancer based on new molecular biomarkers: a potential predictor of survival. Virchows Arch. 2018; 473(3): p. 687-95.

10. Kim HS, Shin SJ, Beom SH, Jung M, Choi YY, Son T, Kim HI, Cheong JH, Hyung WJ, Noh SH, Chung H, Park JC, Shin SK, Lee SK, Lee YC, Koom WS, Lim JS, Chung HC, Rha SY, Kim H. Comprehensive expression profiles of gastric cancer molecular subtypes by immunohistochemistry: implications for individualized therapy. Oncotarget. 2016; 7(28): 44608-20.

11. Ahn S, Lee SJ, Kim Y, Kim A, Shin N, Choi KU, Lee CH, Huh GY, Kim KM, Setia N, Lauwers GY, Park DY.. High-throughput Protein and mRNA Expression-based Classification of Gastric Cancers Can Identify Clinically Distinct Subtypes, Concordant With Recent Molecular Classifications. 2017; 41(1): 106-15.

12. Setia N, Agoston AT, Han HS, Mullen JT, Duda DG, Clark JW, Deshpande V, Mino-Kenudson M, Srivastava A, Lennerz JK, Hong TS, Kwak EL, Lauwers GYA protein and mRNA expression-based classification of gastric cancer. Mod Pathol. 2016; 29(7): 772-84.

13. Gonzalez RS, Messing S, Tu X, McMahon LA, Whitney-Miller CL. Immunohistochemistry as a surrogate for molecular subtyping of gastric adenocarcinoma. Hum Pathol. 2016; 56: 16-21.

14. Park CK, Park JS, Kim HS, Rha SY, Hyung WJ, Cheong JH, Noh SH, Lee SK, Lee YC, Huh YM, Kim H. Receptor tyrosine kinase amplified gastric cancer: Receptor tyrosine kinase amplified gastric cancer: Clinicopathologic characteristics and proposed screening algorithm. Oncotarget. 2016; 7(44):72099-112.

15. Sun Y,Yu W, Guan W, Qiao M, Zheng L,Jiang R,. Wang R, Wang L.Assessment of molecular classification of gastric cancer by immunohistochemistry and in situ hybridization: A validation study in the Chinese population. Ann Oncol. 2018; 29(9): mdy432.018.
16. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer. 2010; 127(12): p. 2893-917.
17. Jemal A BFCMFJWEFD. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011 ; 61(2): 69-90.

18. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014; 23(5): 700-13.

19. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2013.

20. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny. 2018;: p. 80001.

21. Ang TL FK. Clinical epidemiology of gastric cancer. Singapore Med J. 2014; 55(12): 621-8.

22. Orditura M, Galizia G, Sforza V, Gambardella V, Fabozzi A, Laterza MM, Andreozzi F, Ventriglia J, Savastano B, Mabilia A, Lieto E, Ciardiello F, De Vita F. Treatment of gastric cancer. World J Gastroenterol. 2014; 20: 1635-49.

23. Wagner AD, Syn NL, Moehler M, Grothe W, Yong WP, Tai BC, Ho J, Unverzagt S. Chemotherapy for advanced gastric cancer. Cochrane Database Syst Rev. 2017; 8: p. CD004064.

24. Bilgin B, Sendur MA, Bülent Akıncı M, Şener Dede D, Yalçın B.. Targeting the PD-1 pathway: a new hope for gastrointestinal cancers. Curr Med Res Opin. 2017; 33: p. 749-59.

25. Bravo, L., García, L., Collazos, P., Carrascal, E., Ramírez, O., Cortés, A., Nuñez, M., & Millán, E. Reliable information for cancer control in Cali, Colombia. Colomb Med (Cali). 2018; ; 49(1): . 23-34.

26. L Laurén PA, Nevalainen TJ. Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma. A time-trend study in Finland with comparison between studies from high- and low-risk areas. Cancer. 1993; 71: 2926–33.

27. Ikeda Y, Mori M, Kamakura T, Haraguchi Y, Saku M, Sugimachi K. Improvements in diagnosis have changed the incidence of histological types in advanced gastric cancer. Br J Cancer. 1995; 72: 424–6.

28. Yu J, Zhao Q. The demographic characteristics of histological types of gastric cancer with gender, age, and tumor location. J Gastrointest Cancer. 2009; 40: p. 98–100.

29. Popiela T KJKPSM. Changing patterns of gastric carcinoma over the past two decades in a single institution: clinicopathological findings in 1557 patients. Scand J Gastroenterol. 2002; 37:. 561–7.

30. Henson DE, Dittus C, Younes M, Nguyen H, Albores-Saavedra J. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States 1973-2000: increase in the signet ring cell type. Arch Pathol Lab Med. 2004; 128: p. 765–70.

31. Lundegårdh G, Lindgren A, Rohul A, Nyrén O, Hansson LE, Bergström R, Adami HO. Intestinal and diffuse types of gastric cancer: secular trends in Sweden since 1951. Br J Cancer. 1991; 64: p. 1182–6.

32. Kaneko S, Yoshimura T.Time trend analysis of gastric cancer incidence in Japan by histological types 1975-1989. Br J Cancer. 2001; 84: 400–5.

33. FT B . WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC. 2010; 3: 417.

34. Sipponen P, Correa P Delayed rise in incidence of gastric cancer in females results in unique sex ratio (M/F) pattern: etiologic hypothesis. Gastric Cancer. 2002; 5(4): 213-9.

35. Camargo MC, Goto Y, Zabaleta J, Morgan DR, Correa P, Rabkin CS.. Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012; 21(1): 20-38.

36. Arnold M, Moore SP, Hassler S, Ellison-Loschmann L, Forman D, Bray F. The burden of stomach cancer in indigenous populations: a systematic review and global assessment. Gut. 2014; 63(1): 64-71.

37. Naess O, Strand BH, Smith GD. Childhood and adulthood socioeconomic position across 20 causes of death: a prospective cohort study of 800,000 Norwegian men and women. J Epidemiol Community Health. 2007; 61(11): 1004-9.

38. Nagel G, Linseisen J, Boshuizen HC, Pera G, Del Giudice G, Westert GP, Bueno-de-Mesquita HB, Allen NE, Key TJ, Numans ME, Peeters PH, Sieri S, Siman H, Berglund G, Hallmans G, Stenling R, Martinez C, Arriola L, Barricarte A, Chirlaque MD, Quiros JR, Vineis P, Masala G, Palli D, Panico S, Tumino R, Bingham S, Boeing H, Bergmann MM, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Olsen A, Tjonneland A, Trichopoulou A, Bamia C, Soukara S, Sabourin JC, Carneiro F, Slimani N, Jenab M, Norat T, Riboli E, González CA.. Socioeconomic position and the risk of gastric and oesophageal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). Int J Epidemiol. 2007 ; 36(1): 66-76.

39. Ghoshal UC, Chaturvedi R, Correa P. The enigma of Helicobacter pylori infection and gastric cancer. Indian J Gastroenterol. 2010; 29(3): 95-100

40. Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, Pinheiro-Torres T, Pinto I, Santos-Pereira R, Lunet N. Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. Cancer Causes Control. 2008; 19(7): 689-701.

41. Sadjadi A, Derakhshan MH, Yazdanbod A, Boreiri M, Parsaeian M, Babaei M, Alimohammadian M, Samadi F, Etemadi A, Pourfarzi F, Ahmadi E, Delavari A, Islami F, Farzadfar F, Sotoudeh M, Nikmanesh A, Alizadeh BZ, de Bock GH, Malekzadeh R.. Neglected role of hookah and opium in gastric carcinogenesis: a cohort study on risk factors and attributable fraction. Int J Cancer. 2014; 134: 181-8.

42. De Falco M, Lucariello A, Iaquinto S, Esposito V, Guerra G, De Luca A Molecular Mechanisms of Helicobacter pylori Pathogenesis. J Cell Physiol. 2015; 230(8): p. 1702-7.

43. Ge S, Feng X, Shen L, Wei Z, Zhu Q, Sun J. Association between Habitual Dietary Salt Intake and Risk of Gastric Cancer: A Systematic Review of Observational Studies. Gastroenterol Res Pract.. 2012; 2012: 808120.

44. Kim J, Park S, Nam BH.Gastric cancer and salt preference: a population-based cohort study in Korea. Am J Clin Nutr. 2010; 91(5):1289-93.

45. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D. Committee. EG. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 216; 27(suppl 5): v38-v49.

46. Zhang XY, Zhang PY, Aboul-Soud MA.From inflammation to gastric cancer: Role of Helicobacter pylori. Oncol Lett. 2017; 13(2): 543-8.

47. M. K. Epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer (Review). Int J Oncol. 2005; 27(6): 1677-83.

48. Ferraz MA, Zabaglia LM, Pereira WN, Orcini WA, de Labio RW, Caleman Neto A, Wisnieski F, Calcagno DQ, Santos LC, Assumpção PP, Burbano RR, Artigiani R, Smith Mde A, Payão SL, Rasmussen LT. Downregulated Expression of E-cadherin and TP53 in Patients with Gastric Diseases: the Involvement of H. pylori Infection and Its Virulence Markers. J Gastrointest Cancer. 2016; 47(1): 20-6.

49. Torabizadeh Z, Nosrati A, Sajadi Saravi SN, Yazdani Charati J, Janbabai G.. Evaluation of E-cadherin Expression in Gastric Cancer and Its Correlation with Clinicopathologic Parameters. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2017; 11(2): 158-64.

50. Huiping C, Kristjansdottir S, Jonasson JG, Magnusson J, Egilsson V, Ingvarsson S. Alterations of E-cadherin and beta-catenin in gastric cancer. BMC Cancer. 2001; 1:16.

51. Chiurillo MA. Role of the Wnt/β-catenin pathway in gastric cancer: An in-depth literature review. World J Exp Med. 2015; 5(2): p. 84-102.

52. Triantafyllou K PVETGPDVTGPIVILS. Eradication of Helicobacter pylori Infection Restores ki67, p53, and Cyclin D1 Immunoreactivity in the Human Gastric Epithelium. Clin Med Insights Gastroenterol. 2016; 9: 73-8.

53. Gao P, Zhou GY, Liu Y, Li JS, Zhen JH, Yuan YP. Alteration of cyclin D1 in gastric carcinoma and its clinicopathologic significance. World J Gastroenterol. 2004; 10(20): 2936-9.

54. Kumari S, Puneet, Prasad SB, Yadav SS, Kumar M, Khanna A, Dixit VK, Nath G, Singh S, Narayan G. Cyclin D1 and cyclin E2 are differentially expressed in gastric cancer. Med Oncol. 2016; 33(5): 40.

55. Ida S, Watanabe M, Baba H. Chronic inflammation and gastrointestinal cancer. J Cancer Metastasis Treat. 2015; 1(3): 138-43.

56. Mahmoudzadeh Sagheb H, Heidari Z, Jahantigh M, Narouei M. Immunohistochemical Expression of p53 and Ki-67 Genes in Gastric Cancer and Precancerous Lesions in the Patients with Helicobacter pylori Infection. Gene Cell Tissue. 2016; 3(4): e41341.

57. Teh M, Tan, K.B, Seet BL, Yeoh KG. Study of p53 immunostaining in the gastric epithelium of cagA-positive and cagA-negative Helicobacter pylori gastritis. Cancer. 2002; 95(3): p. 499-505.

58. Shah MA, Khanin R, Tang L, Janjigian YY, Klimstra DS, Gerdes H, Kelsen DP. Molecular classification of gastric cancer: a new paradigm. Clin Cancer Res. 2011; 17(9): 2693-701.

59. Tan IB, Ivanova T, Lim KH, Ong CW, Deng N, Lee J, Tan SH, Wu J, Lee MH, Ooi CH, Rha SY, Wong WK, Boussioutas A, Yeoh KG, So J, Yong WP, Tsuburaya A, Grabsch H, Toh HC, Rozen S, Cheong JH, Noh SH, Wan WK, Ajani JA, Lee JS, Tellez MS, Tan P. Intrinsic Subtypes of Gastric Cancer, Based on Gene Expression Pattern, Predict Survival and Respond Differently to Chemotherapy. Gastroenterology. 2011; 141(2): e1-11.

60. Lei Z, Tan IB, Das K, Deng N, Zouridis H, Pattison S, Chua C, Feng Z, Guan YK, Ooi CH, Ivanova T, Zhang S, Lee M, Wu J, Ngo A, Manesh S, Tan E, Teh BT, So JB, Goh LK, Boussioutas A, Lim TK, Flotow H, Tan P, Rozen SG. Identification of molecular subtypes of gastric cancer with different responses to PI3-kinase inhibitors and 5-fluorouracil. Gastroenterology. 2013; 145(3): 554-65.

61. Wang K, Yuen ST, Xu J, Lee SP, Yan HH, Shi ST, Siu HC, Deng S, Chu KM, Law S, Chan KH, Chan AS, Tsui WY, Ho SL, Chan AK, Man JL, Foglizzo V, Ng MK, Chan AS, Ching YP, Cheng GH, Xie T, Fernandez J, Li VS, Clevers H, Rejto PA, Mao M, Leung SY. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. Nat Genet. 2014; 46(6): 573-82.

62. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. Nature. 2014; 513(7517): 202–9.

63. Li J, Zhang XH, Bei SH, Feng L. PD-1/PD-L1 antagonists in gastric cancer: Current studies and perspectives. World J Meta-Anal. 2019; 7(3): 101-9.

64. You W, Shang B, Sun J, Liu X, Su L, Jiang S. Mechanistic insight of predictive biomarkers for antitumor PD-1/PD-L1 blockade: A paradigm shift towards immunome evaluation (Review). Oncol Rep. 2020 Aug;44(2):424-437.

65. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, Skora AD, Luber BS, Azad NS, Laheru D, Biedrzycki B, Donehower RC, Zaheer A, Fisher GA, Crocenzi TS, Lee JJ, Duffy SM, Goldberg RM, de la Chapelle A, Koshiji M, Bhaijee F, Huebner T, Hruban RH, Wood LD, Cuka N, Pardoll DM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Zhou S, Cornish TC, Taube JM, Anders RA, Eshleman JR, Vogelstein B, Diaz LA Jr. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. N Engl J Med. 2015; 372(26): 2509–20.

66. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, Lu S, Kemberling H, Wilt C, Luber BS, Wong F, Azad NS, Rucki AA, Laheru D, Donehower R, Zaheer A, Fisher GA, Crocenzi TS, Lee JJ, Greten TF, Duffy AG, Ciombor KK, Eyring AD, Lam

BH, Joe A, Kang SP, Holdhoff M, Danilova L, Cope L, Meyer C, Zhou S, Goldberg RM, Armstrong DK, Bever KM, Fader AN, Taube J, Housseau F, Spetzler D, Xiao N, Pardoll DM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Eshleman JR, Vogelstein B, Anders RA, Diaz LA Jr. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. Science. 2017; 357(6349): 409–13.

67. Derks S, Liao X, Chiaravalli AM, Xu X, Camargo MC, Solcia E, Sessa F, Fleitas T, Freeman GJ, Rodig SJ, Rabkin CS, Bass AJ. Abundant PD-L1 expression in Epstein-Barr Virus-infected gastric cancers. Oncotarget. 2016; 7(22): 32925-32.

68. Sasaki S, Nishikawa J, Sakai K, Iizasa H, Yoshiyama H, Yanagihara M, Shuto T, Shimokuri K, Kanda T, Suehiro Y, Yamasaki T, Sakaida I. EBV-associated gastric cancer evades T-cell immunity by PD-1/PD-L1 interactions. Gastric Cancer. 2018; 22(3): 486-96.

69. Gu L, Chen M, Guo D, Zhu H, Zhang W, Pan J, Zhong X, Li X, Qian H, Wang X. PD-L1 and gastric cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2017; 12: e0182692.

70. Cho J, Chang YH, Heo YJ, Kim S, Kim NK, Park JO, Kang WK, Lee J, Kim KM. Four distinct immune microenvironment subtypes in gastric adenocarcinoma with special reference to microsatellite instability. ESMO Open. 2018; 3: e000326.

71. De Rosa S, Sahnane N, Tibiletti MG, Magnoli F, Vanoli A, Sessa F, Chiaravalli AM. EBV^+ and MSI Gastric Cancers Harbor High PD-L1/PD-1 Expression and High $CD8^+$ Intratumoral Lymphocytes. Cancers (Basel). 2018; 10:pii:E102.

72. Ma C, Patel K, Singhi AD, Ren B, Zhu B, Shaikh F, Sun W. Programmed Death-Ligand 1 Expression Is Common in Gastric Cancer Associated With Epstein-Barr Virus or Microsatellite Instability. Surg Pathol. 2016; 40: 1496-506.

73. Wang L, Zhang Q, Ni S, Tan C, Cai X, Huang D, Sheng W. Programmed death-ligand 1 expression in gastric cancer: correlation with mismatch repair deficiency and HER2-negative status. Cancer Med. 2018; 7(6): 2612–20.

74. Eto S, Yoshikawa K, Nishi M, Higashijima J, Tokunaga T, Nakao T, Kashihara H, Takasu C, Iwata T, Shimada M. Programmed cell death protein 1 expression is an independent prognostic factor in gastric cancer after curative resection. Gastric Cancer. 2016; 19(2): 466–71.

75. Kim JW, Nam KH, Ahn SH, Park DJ, Kim HH, Kim SH, Chang H, Lee JO, Kim YJ, Lee HS, Kim JH, Bang SM, Lee JS, Lee KW. Prognostic implications of immunosuppressive protein expression in tumors as well as immune cell infiltration within the tumor microenvironment in gastric cancer. Gastric Cancer. 2016; 19(1): 42–52.

76. Li Z, Lai Y, Sun L, Zhang X, Liu R, Feng G, Zhou L, Jia L, Huang X, Kang Q, Lin D, Gao J, Shen L.. PD-L1 expression is associated with massive lymphocyte infiltration and histology in gastric cancer. Hum Pathol. 2016; 55: 182–9.

77. Thompson ED, Zahurak M, Murphy A, Cornish T, Cuka N, Abdelfatah E, Yang S, Duncan M, Ahuja N, Taube JM, Anders RA, Kelly RJ. Patterns of PD-L1 expression and CD8 T cell infiltration in gastric adenocarcinomas and associated immune stroma. Gut. 2017; 66(5): 794–801.

78. Pereira MA, Ramos MFKP, Faraj SF, Dias AR, Yagi OK, Zilberstein B, Cecconello I, Alves VAF, de Mello ES, Ribeiro U Jr. Clinicopathological and prognostic features of Epstein-Barr virus infection, microsatellite instability, and PD-L1 expression in gastric cancer. J Surg Oncol. 2018; 117(5): 829-39.

79. Xing X, Guo J, Ding G, Li B, Dong B, Feng Q, Li S, Zhang J, Ying X, Cheng X, Guo T, Du H, Hu Y, Zhou T, Wang X, Li L, Li Q, Xie M, Li L, Gao X, Shan F, Li Z, Jia S, Wen X, Wang J, Ji J. Analysis of PD1, PDL1, PDL2 expression and T cells infiltration in 1014 gastric cancer patients. Oncoimmunology. 2018; 7(3): e1356144.

80. Kim KH, Choi SJ, Choi YI, Kim L, Park IS, Han JY, Kim JM, Chu YC. In-house Manual Construction of High-Density and High-Quality Tissue Microarrays by Using Homemade Recipient Agarose-Paraffin Blocks. Korean J Pathol. 2013;47(3):238-44.

81. Koh J, Lee KW, Nam SK, Seo AN, Kim JW, Kim JW, Park DJ, Kim HH, Kim WH, Lee HS. Development and Validation of an Easy-to-Implement, Practical Algorithm for the Identification of Molecular Subtypes of Gastric Cancer: Prognostic and Therapeutic Implications. Oncologist. 2019;24(12):e1321-e1330.

82. Ramos MFKP, Pereira MA, de Mello ES, Cirqueira CDS, Zilberstein B, Alves VAF, Ribeiro-Junior U, Cecconello I. Gastric cancer molecular classification based on immunohistochemistry and in situ hybridization: Analysis in western patients after curative-intent surgery. World J Clin Oncol. 2021;12(8):688-701.

83. Nshizirungu JP, Bennis S, Mellouki I, Sekal M, Benajah DA, Lahmidani N, El Bouhaddouti H, Ibn Majdoub K, Ibrahimi SA, Celeiro SP, Viana-Pereira M, Munari FF, Ribeiro GG, Duval V, Santana I, Reis RM. Reproduction of the Cancer Genome Atlas (TCGA) and Asian Cancer Research Group (ACRG) Gastric Cancer Molecular Classifications and Their Association with Clinicopathological Characteristics and Overall Survival in Moroccan Patients. Dis Markers. 2021;2021:9980410.

84. Vidal-Realpe A, Dueñas-Cuellar RA, Niño-Castaño VE, Mora-Obando DL, Arias-Agudelo JJ, Bolaños HJ. Clinical and pathologic characteristics of gastric adenocarcinoma associated with Epstein-Barr virus in a region with a high incidence of gastric cancer in Colombia. Rev Gastroenterol Mex (Engl Ed). 2022:S2255-534X(22)00066-4.

85. Yoon JY, Sy K, Brezden-Masley C, Streutker CJ. Histo- and immunohistochemistry-based estimation of the TCGA and ACRG molecular subtypes for gastric carcinoma and their prognostic significance: A single-institution study. PLoS ONE. 2019. 14(12): e0224812.

86. Kim ST, Cristescu R, Bass AJ, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer. Nat Med. 2018;24(9):1449–58.