





**UNIVERSITAS**  
*Miguel*  
*Hernández*

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

**Doctorado en Investigación Clínica (RD 1393/2007)**

**ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE CCR9, MTA3 y E-CADHERINA  
Y SU POSIBLE PAPEL COMO FACTORES PRONÓSTICOS EN  
ADENOCARCINOMA DE PULMÓN RESECADO.**

Elisa Gálvez Muñoz



**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA

DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

---

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE CCR9, MTA3 Y E-CADHERINA Y SU POSIBLE PAPEL COMO FACTORES PRONÓSTICOS EN ADENOCARCINOMA DE PULMÓN RESECADO.

---

**Directores:**

**Dra. Dña. Cristina Llorca Ferrándiz**

Doctora en Medicina. Jefa de Sección de Oncología Médica del Hospital General Universitario de Elda.

**Dr. D. F. Ignacio Aranda López**

Doctor en Medicina. Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario de Alicante.

**Doctorando:**

**Dña. Elisa Gálvez Muñoz.**



D. JAVIER FERNANDEZ SÁNCHEZ, Director del  
Departamento de Medicina Clínica de la Universidad  
Miguel Hernández

## AUTORIZA:

La presentación y defensa como Tesis Doctoral del trabajo  
“Análisis de la expresión de CCR9, MTA3 y E-cadherina y su  
posible papel como factores pronósticos en adenocarcinoma de  
pulmón resecaado” presentado por Dña. Elisa Gálvez Muñoz bajo  
la dirección de la Dra. Dña. Cristina Llorca Ferrándiz y del Dr. D.  
F. Ignacio Aranda López.

Lo que firmo en San Juan de Alicante a 29 de mayo de  
2017.

Prof. J. Fernández  
Director  
Dpto. Medicina Clínica



**DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLINICA**

Campus de San Juan. Ctra. de Valencia (N-332), Km. 87 – 03550 San Juan de Alicante  
Telf.: 96 5919449 – Fax: 96 5919450  
c.electrónico: med.psiqui@umh.es

Dña. Cristina Llorca Ferrándiz y D. F. Ignacio Aranda  
López, como Directores de Tesis Doctoral

## CERTIFICAN:

Que el trabajo "Análisis de la expresión de CCR9, MTA3 y E-cadherina y su posible papel como factores pronósticos en adenocarcinoma de pulmón resecaado" realizado por Dña. Elisa Gálvez Muñoz ha sido llevado a cabo bajo nuestra dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como Tesis Doctoral en la Universidad Miguel Hernández.

Lo que firmamos para los oportunos efectos en San Juan de Alicante a  
29 de mayo de 2017.

Fdo. Dra. Dña. Cristina Llorca Ferrándiz  
Directora  
Tesis Doctoral

Fdo. Dr. D. F. Ignacio Aranda López  
Director  
Tesis Doctoral



**DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLINICA**

Campus de San Juan. Ctra. de Valencia (N-332), Km. 87 – 03550 San Juan de Alicante  
Telf.: 96 5919449 – Fax: 96 5919450  
c.electrónico: med.psiqui@umh.es



## DEDICATORIAS

A mis padres, por regalarme tanto tiempo. Por convertirme en lo que soy. Por tanto amor. Por TODO.

A mi hermano, por su enorme corazón. Por su mano tendida. Por su ejemplo. Por ser y estar, SIEMPRE.

A mi tía, por su tiempo. Por ser mucho MAS.

A Edgar, por caminar a mi lado. Por el coraje de querernos. Por enseñarme que la distancia no significa nada cuando hay alguien que significa todo. Por no rendirse. PORQUE SIN TI NO SOY.

A mis hijas, por prestarme sus ojos para mirar el mundo. Por ser mi motor. Por cambiarme. Por ser MI VIDA.

**“ Sólo fracasa el que deja de intentarlo”.**

**“ Valora a quien te dedica su tiempo. Te está dando algo que nunca recuperará”.**

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Cristina Llorca, por su apoyo incondicional. Por su ejemplo de lucha y de constancia. Por su tiempo y su sonrisa amable.

Al Dr. Ignacio Aranda, por sus aportaciones, por dejarme aprender y por su ayuda desinteresada.

A mis compañeras, unas luchadoras. Por regalarme tantas sonrisas, por compartir tantos momentos. Por su amistad.

A todo el equipo de la 2ª derecha y consultas de Oncología, por su humanidad. Por creer en mi.

A “mis” neumólogos, por enseñarme la otra forma de ver las cosas. Por las cenas pendientes.

Al comité, por acogerme.

A mis pacientes, por darme una lección de vida.



# ÍNDICE

<b>1. Introducción .....</b>	<b>15</b>
1.1. Cáncer de pulmón: contextualización del problema.....	17
1.2. Definición y Epidemiología.....	17
1.3. Factores de riesgo.....	21
1.4. Manifestaciones clínicas. ....	25
1.5. Diagnóstico.....	28
1.6. Clasificación del cáncer de pulmón no microcítico.....	29
1.7. Estadificación del cáncer de pulmón no microcítico.....	31
1.7.1. Definición TNM.....	32
1.7.2. Contextos de clasificación y descriptores.....	32
1.7.3. Estadificación TNM del cáncer de pulmón no microcítico.....	33
1.7.4. Áreas ganglionares en la estadificación del cáncer de pulmón.....	34
1.8. Tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico.....	36
1.8.1. Estadio I-II.....	36
1.8.2. Estadio III.....	37
1.8.3. Estadio IV.....	38
1.9. Pronóstico del cáncer de pulmón no microcítico.....	39
1.9.1. Factores relacionados con el paciente.....	40
1.9.2. Factores relacionados con el tratamiento.....	42
1.9.3. Factores relacionados con el tumor.....	42
1.10. Potenciales marcadores moleculares con papel pronóstico.....	48
1.10.1. El receptor 9 de la quimioquina CC (CCR9).....	48
1.10.2. El antígeno tumoral metastásico 3 (MTA3).....	50
1.10.3. E-cadherina y la transición epitelio-mesénquima.....	53
<b>2. Hipótesis y Objetivos.....</b>	<b>57</b>
2.1. Justificación del estudio.....	59
2.2. Hipótesis.....	60
2.2.1. Hipótesis principal.....	60
2.2.2. Hipótesis secundarias.....	60

2.3. Objetivos.....	60
2.3.1. Objetivo principal.....	60
2.3.2. Objetivos secundarios.....	61
<b>3. Material y Métodos.....</b>	<b>63</b>
3.1. Población de estudio.....	65
3.1.1. Criterios de inclusión.....	65
3.1.2. Criterios de exclusión.....	66
3.2. Diseño de estudio.....	67
3.2.1. Tipo de estudio.....	67
3.2.2. Fuentes de datos.....	67
3.2.3. Tamaño muestral y tipo de muestreo.....	68
3.3. Variables.....	68
3.3.1. Variables clínicas.....	68
3.3.2. Variables morfológicas.....	70
3.3.3. Variables inmunohistoquímicas.....	71
3.4. Construcción de las matrices de tejido (TMAs).....	72
3.5. Aplicación de técnicas de inmunohistoquímica.....	73
3.6. Valoración de inmunohistoquímica.....	74
3.6.1. Valoración de marcadores MTA3 y E-cadherina.....	75
3.6.2. Valoración de marcadores de proliferación celular (ki-67).....	78
3.7. Análisis de datos.....	78
3.7.1. Estudio descriptivo.....	78
3.7.2. Estudio inferencial.....	79
3.7.3. Análisis de supervivencia.....	80
3.8. Control de calidad de los datos recogidos.....	81
3.9. Dificultades y limitaciones del estudio.....	83
3.10. Financiación y medios.....	83
3.11. Afirmación explícita de cumplimiento de normas éticas y legales.....	85
<b>4. Resultados.....</b>	<b>87</b>
4.1. Análisis de las características descriptivas de la muestra.....	89

4.1.1. Características demográficas de la muestra.....	89
4.1.2. Características clínico-epidemiológicas.....	90
4.2. Resultados del análisis de expresión inmunohistoquímica de MTA3 y E-cadherina.....	103
4.2.1. Resultados para la variable MTA3.....	103
4.2.2. Resultados para la variable E-cadherina.....	104
4.3. Relación entre las variables descriptivas y la expresión inmunohistoquímica de MTA3 y E-cadherina.....	104
4.3.1. Resultados para MTA3.....	105
4.3.2. Resultados para E-cadherina.....	109
4.3.3. Resultados de la asociación entre MTA3 y E-cadherina.....	113
4.4. Resultados de Supervivencia.....	114
4.4.1. Supervivencia libre de enfermedad.....	114
4.4.2. Supervivencia global.....	117
<b>5. Discusión.....</b>	<b>124</b>
5.1. Análisis de los resultados.....	127
5.1.1. Discusión respecto al análisis de las c. demográficas y clínico-epidemiológicas de la muestra.....	127
5.1.2. Discusión respecto al análisis de la expresión de MTA3 y E-cadherina.....	138
5.2. Discusión respecto al análisis de supervivencia.....	144
5.2.1. Discusión respecto al análisis de supervivencia libre de enfermedad.....	144
5.2.2. Discusión respecto al análisis de supervivencia global.....	146
5.3. Debilidades del estudio.....	148
5.4. Fortalezas del estudio.....	149
<b>6. Conclusiones.....</b>	<b>151</b>
<b>7. Bibliografía.....</b>	<b>155</b>
<b>8. Anexos.....</b>	<b>180</b>
<b>Abreviaturas.....</b>	<b>191</b>



# 1.- INTRODUCCIÓN

---





## 1.1. Cáncer de pulmón: Contextualización del problema.

Desde hace años, el cáncer de pulmón es el tumor diagnosticado con mayor frecuencia en los países industrializados, y también, el que origina mayor número de muertes, siendo responsable de uno de cada cuatro fallecimientos por esta causa según los datos publicados por la Sociedad Americana de Cáncer en 2016. Se trata, por tanto, de un importante problema de Salud Pública: no sólo presenta una elevada incidencia sino que asocia unas muy modestas tasas de supervivencia a largo plazo, a pesar de los notables avances en las técnicas de diagnóstico y estadificación y la mejora en los tratamientos (1).

## 1.2. Definición y epidemiología.

### 1.2.1. Definición:

El cáncer de pulmón es aquel que se origina en los pulmones. Agrupa a todos los tumores primitivos epiteliales malignos de pulmón excluyendo tumores pleomórficos, sarcomatoides, carcinoides y los derivados de glándula salivar. A través del intercambio respiratorio, el aire inhalado y las potenciales sustancias dañinas son conducidas a los alveolos.

El cáncer de pulmón puede originarse en cualquiera de las células diferenciadas o indiferenciadas (células ciliadas, mucosas y neuroendocrinas) tanto de la vía central como periférica (2).

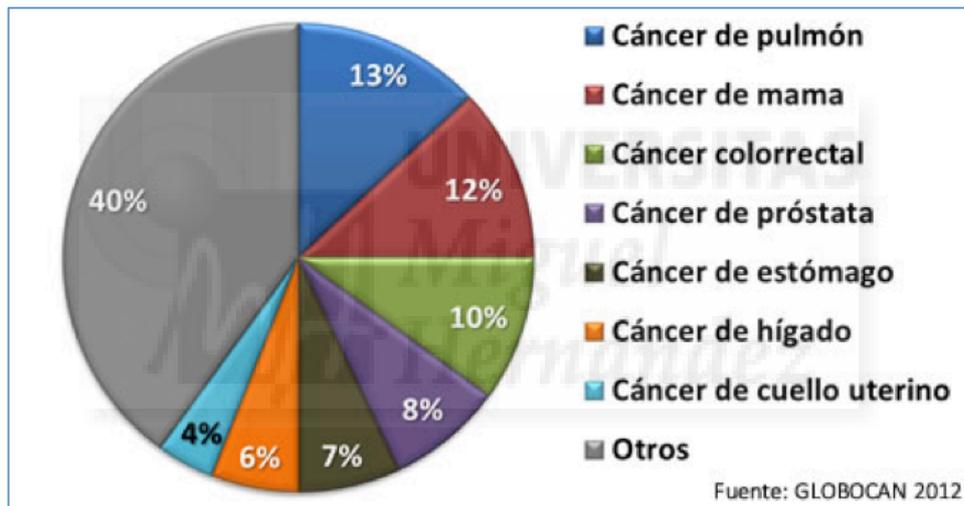
De ahora en adelante y a lo largo de toda esta exposición, haremos referencia al subgrupo carcinoma de pulmón no de célula pequeña (CPNCP), que supone el 80-85% de los diagnósticos de cáncer de pulmón e incluye los subtipos histológicos: carcinoma escamoso, adenocarcinoma, carcinoma adenoescamoso y carcinoma indiferenciado de célula grande.

### 1.2.2. Epidemiología:

Aunque hace a penas un siglo, el cáncer era una rara enfermedad, en las últimas décadas (debido principalmente al efecto carcinógeno del tabaco), se ha convertido en una enfermedad epidémica. El cáncer es, en la actualidad, una de las principales causa de morbi-mortalidad en el mundo, con aproximadamente 14 millones de casos nuevos en el mundo en el año 2012 (GLOBOCAN 2012) (3).

A nivel mundial, el cáncer de pulmón ha sido la neoplasia más frecuente durante décadas (Figura 1).

Figura 1. Neoplasias más frecuentes a nivel mundial (GLOBOCAN 2012)



En el mundo, una de cada cinco muertes por cáncer está causada por el cáncer de pulmón (1.59 millones de muertes, 19% del total). Debido a su alta letalidad y la escasa variabilidad de su supervivencia en diferentes áreas del mundo, los patrones geográficos de mortalidad se acercan mucho a su incidencia (4).

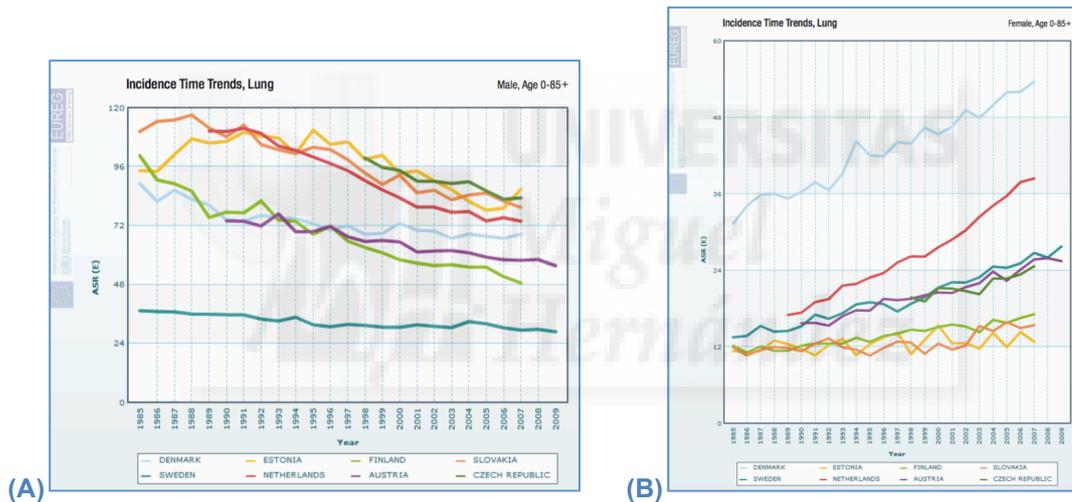
A nivel europeo, en el año 2012, aproximadamente 410.000 personas fueron diagnosticadas de cáncer de pulmón, lo que la convierte en la segunda neoplasia más frecuente en Europa, suponiendo el 12% de los nuevos diagnósticos de cáncer en Europa en ese año.

En ese mismo año, el cáncer de pulmón supuso el 20% de los fallecimientos por cáncer en Europa, siendo la primera causa de muerte por cáncer.

Las tendencias en incidencia del cáncer de pulmón en Europa, difieren según sexo. La incidencia en hombres ha estado disminuyendo en la mayoría de países durante las últimas dos décadas. El patrón de la incidencia en mujeres es casi opuesto al de los hombres (Figura 2).

Los patrones de mortalidad son similares a los de incidencia en ambos sexos.

Figura 2. Patrones de incidencia de cáncer de pulmón en varones (A) y mujeres (B).



En España, de acuerdo con los datos recientemente publicados por REDECAN, el número total de nuevos casos de cáncer en 2015, fue de 247.771. Los tipos de cáncer más frecuentemente diagnosticados en el año 2015 fueron colorrecto (41.441 casos), próstata (33.370 casos), pulmón (28.347 casos), mama (27.747 casos) y vejiga (21.093) (5).

El cáncer de pulmón, en los hombres ocupó la tercera posición y en las mujeres la cuarta posición (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución por género del cáncer de pulmón en España.

	HOMBRE	MUJER	AMBOS SEXOS
1º	PRÓSTATA	MAMA	COLORRECTAL
2º	COLORRECTAL	COLORRECTAL	PRÓSTATA
3º	PULMÓN	CUERPO UTERINO	PULMÓN
4º	VEJIGA	PULMÓN	MAMA
5º	ESTÓMAGO	OVARIO	VEJIGA

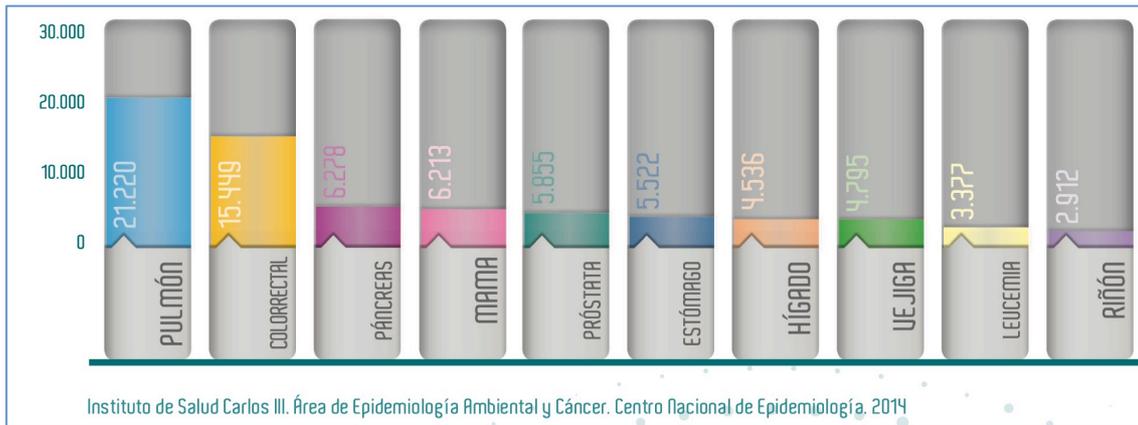
Entre los factores de riesgo, el más importante es el consumo de tabaco, responsable de un 80-90% de los casos. El riesgo de los fumadores es hasta 9 veces superior al riesgo de los no fumadores (6, 7). Otros factores de riesgo son la contaminación ambiental y factores ocupacionales que posteriormente se describirán (8).

La exposición a estos factores varía mucho entre personas y poblaciones, explicando la gran variabilidad geográfica y temporal en la incidencia de este cáncer.

En las últimas décadas se ha producido en España un descenso importante del consumo de tabaco en hombres y un aumento en las mujeres con una estabilización estos últimos años. Así, según la última Encuesta Nacional de Salud en 2012, la prevalencia del tabaquismo era del 27,9% en hombres y del 20,2% en mujeres (Instituto Nacional de Estadística, 2013). Este gradual abandono del consumo de tabaco en hombres y la incorporación del mismo en las mujeres tiene ya claras consecuencias en la incidencia y mortalidad por este cáncer por sexos (9, 10).

En el año 2014, en España, ocupó la primera causa de muerte por cáncer (21.220 muertes) (Figura 3). En España, la supervivencia a 5 años ajustada por edad en el período 2000-2004 fue del 10% en hombres y del 14,7% en mujeres.

Figura 3. Mortalidad estimada por tipo de tumor en España en 2014



La supervivencia de esta enfermedad continúa siendo muy baja en cifras generales, especialmente al compararla con otras neoplasias malignas como la mama o los tumores colorrectales. Estas circunstancias convierten al cáncer de pulmón en un importante problema de salud pública en España y, la evolución de la prevalencia del tabaquismo indica que todavía una proporción importante de la población fuma en la actualidad, lo que pone de manifiesto la necesidad de mejorar la efectividad de la estrategia de la lucha antitabáquica y, sobretodo, la dirigida a la población femenina.

### 1.3. Factores de riesgo.

El cáncer de pulmón está asociado a estilos de vida y factores ambientales múltiples, entre los que destaca el tabaco como factor de riesgo más importante para el desarrollo de un cáncer de pulmón.

#### 1.3.1. Tabaco:

Es, sin duda, el factor de riesgo más importante para el desarrollo de un carcinoma bronquial, siendo el causante de un 80-90% de todos los casos (11). En 1912, la posibilidad de que la inhalación del humo del tabaco pudiera causar cáncer de pulmón, fue sugerida por *Adler* (12). No fue hasta 1950 cuando *Doll y Hill* (13) demostraron claramente la asociación epidemiológica

entre el humo del tabaco y la mortalidad del cáncer de pulmón; su confirmación llegó un año después por *Wynder y Graham* (14).

El riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón es directamente proporcional al número de cigarrillos fumados y a la duración del hábito. En la actualidad se utiliza el índice paquetes-año como medidor de la intensidad tabáquica, que se obtiene de multiplicar el número de cigarrillos fumados al día por años fumando, dividido por 20. En fumadores activos de 1 paquete al día durante 40 años, el riesgo es 20 veces superior comparado con una persona no fumadora. Del mismo modo, el riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón en aquellas personas que cesan el hábito tabáquico, disminuirá gradualmente a lo largo de unos 15 años, pero este riesgo nunca se igualará y se mantendrá todavía superior al de un nunca fumador (15, 16). Se ha recomendado igualmente el cese del hábito en pacientes ya diagnosticados de una neoplasia de pulmón en estadios iniciales, pues se ha comprobado un mayor beneficio en los tratamientos oncológicos, una disminución de las comorbilidades y de las recurrencias y una reducción del riesgo de aparición de segundas neoplasias (17). Los llamados “fumadores pasivos” (personas no fumadoras expuestas a altos niveles de tabaco) presentan un riesgo aumentado de padecer un cáncer de pulmón comparado con los que se han expuesto a niveles bajos (18); este riesgo puede estar influido también por alteraciones genéticas debidas a la exposición tabáquica.

En las distintas fases de la combustión del tabaco, se han encontrado al menos unos 4000 compuestos químicos (19). A destacar: los hidrocarburos PAHs, siendo el benzo(a)pireno el primero que fue identificado en el tabaco y está implicado en las causas de mutación del gen *TP53*.

El tabaco produce, sobre el tejido bronquial de pacientes fumadores con cáncer de pulmón, la formación de aductos de DNA que conduce a repeticiones erróneas de DNA y mutaciones. Los niveles de los aductos se correlacionan con la exposición tabáquica.

Ya se ha explicado anteriormente, que el tabaco es el responsable de casi un 80-90% de los casos de cáncer de pulmón. Pero el hecho de que la

mayoría de los fumadores crónicos no desarrollen un cáncer, sugiere la existencia de variaciones en la susceptibilidad genética, bien por polimorfismos durante la carcinogénesis o bien debidos a alteraciones durante la reparación de DNA u otras vías celulares.

### **1.3.2. Contaminación ambiental:**

Los hidrocarburos policíclicos, derivados del uso de combustibles fósiles, son otro de los factores asociados al desarrollo de un cáncer de pulmón. Varios estudios han demostrado que la exposición a la polución ambiental se asocia a una disminución de la función respiratoria, mayores tasas de ingreso hospitalario por patología respiratoria y aumento de las tasas de mortalidad por enfermedades cardiopulmonares (20). En el año 2013, la IARC clasificó la contaminación ambiental como carcinógeno de Grupo 1 dada la evidencia de que la exposición a la misma se asocia con riesgo de cáncer. De forma particular, estudios recientes han demostrado la asociación entre cáncer de pulmón y exposición al humo desprendido del tubo de escape de motores diesel (21).

### **1.3.3. Radón:**

El Radón, gas inerte producto de la degradación de uranio-238 y radio-226 presente en la corteza terrestre, se ha descrito como capaz de dañar el epitelio respiratorio por su capacidad para emitir partículas alfa. Son los trabajadores de minas subterráneas, bodegas, cuevas, etc., los que tienen mayor riesgo. La exposición al radón y su inhalación provocan cerca de un 9% de las muertes por cáncer de pulmón y un 2% de las muertes por cáncer en Europa (22). Existe también una asociación sinérgica entre la exposición al radón y el hábito tabáquico (23).

### **1.3.4. Asbesto:**

Es un grupo de fibras naturales de silicato de magnesio hidratado que se han utilizado en la construcción y como aislamiento. Su asociación con el cáncer de pulmón ha sido ampliamente establecida a través de estudios epidemiológicos y en animales. En España, un 4% de los cánceres de pulmón

están relacionados con este material (11). Es el carcinógeno ocupacional más importante, aunque también existe una exposición no ocupacional (edificios que contienen este material, exposición en domicilios a ropa impregnada). El riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón depende de la dosis y del tipo de fibra (anfíboles) (24, 8). Además, el riesgo aumentado de sufrir cáncer de pulmón por asbesto, se potencia con el hábito tabáquico. En el estudio de *Hammond y cols.* se objetivó que el riesgo aumentaba 6 veces con la exposición a asbesto y sin exposición tabáquica, 11 veces con el tabaco pero sin historia de exposición a asbesto y 59 veces con la asociación de ambos (25). Una exposición prolongada a fibras de asbesto produce acumulación de macrófagos y células inflamatorias en el alveolo, lo que se acompaña de producción de radicales libres, peroxidación de membranas celulares y daño en el DNA.

#### **1.3.5. Factores dietéticos:**

Se han realizado multitud de estudios epidemiológicos en busca de una influencia dietética (por exceso o por defecto) en el desarrollo del cáncer de pulmón. El alto consumo de frutas y verduras frescas disminuye la incidencia de cualquier subtipo histológico de cáncer de pulmón tanto en fumadores, no fumadores o exfumadores (26).

Aunque muchos antioxidantes, principalmente los B-carotenos, se han considerado quimiopreventivos, los datos existentes no son concluyentes al respecto (27).

Los flavonoides, que encontramos en alimentos como la cebolla, cítricos, vino tinto y chocolate negro, y los vegetales crucíferos (col, brócoli, etc), podrían tener un papel protector, sin que se haya podido demostrar en los estudios, quizá por su falta de potencia (28, 29).

Las dietas ricas en grasas saturadas y colesterol se han asociado a un aumento del riesgo de cáncer de pulmón (30, 31).

#### **1.3.6. Patología respiratoria:**

El desarrollo de un cáncer de pulmón también se ha visto asociado a

ciertas enfermedades respiratorias, principalmente la EPOC (asociada a un riesgo 2.8 veces superior de cáncer de pulmón) y otros procesos que desembocan en fibrosis, como la fibrosis pulmonar idiopática, la asbestosis o la silicosis. Algunos estudios estiman la prevalencia de la EPOC en pacientes con cáncer de pulmón entre 50-65%, superior a la población general, y un estudio de cohortes publicado en el año 2000 concluye que los individuos con fibrosis pulmonar difusa tienen entre 8 y 14 veces incrementado el riesgo de cáncer de pulmón (32).

### **1.3.7. Factores Hereditarios:**

El papel que juegan estos factores en el cáncer de pulmón es menos conocido que para otras neoplasias. Aunque no existe ninguna alteración genética concluyente que defina el riesgo de padecer cáncer de pulmón, numerosos estudios sugieren que los familiares de primer grado tienen incrementado el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón. Se cree que la susceptibilidad genética viene definida por las vías de activación y detoxificación de los componentes carcinógenos del tabaco (33). En un metaanálisis de 28 estudios de casos-control y 17 estudios de cohortes observacionales se demostró un incremento del riesgo de cáncer de pulmón asociado a tener un familiar afecto (riesgo relativo 1,8, 95% CI 1,6-2,0). El riesgo era mayor en familiares con parientes diagnosticados de cáncer de pulmón a edades tempranas y con múltiples miembros de la familia afectados (34). Otros estudios han encontrado un riesgo de cáncer de pulmón menor pero todavía significativo en familiares de segundo y tercer grado (35).

### **1.4. Manifestaciones clínicas.**

En general, la sintomatología derivada del cáncer de pulmón es muy inespecífica (36). Las manifestaciones dependerán de la histología del tumor, de la extensión local y regional, así como su localización, tamaño y afectación a distancia. Casi todos los pacientes con enfermedad avanzada tienen síntomas derivados de su neoplasia al diagnóstico. La astenia está presente en el 80% de los individuos y la mayoría asocian tos, disnea, anorexia y pérdida

ponderal.

#### **1.4.1. Tos**

Es el síntoma que aparece con mayor frecuencia. Se relaciona en mayor medida con tumores centrales, derrame pleural o nódulos pulmonares parenquimatosos. Será importante indagar sobre su causa para tratarla adecuadamente (37). En caso de no mejoría o empeoramiento, debemos sospechar la presencia de una neoplasia.

#### **1.4.2. Hemoptisis.**

La hemoptisis se describe en el 25-50% de los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón, aunque la causa más frecuente es la bronquitis (37). Suele asociarse a tumores de localización central o con crecimiento endobronquial. Generalmente se manifiesta como esputos hemoptoicos. Hemoptisis masivas son muy poco frecuentes y el pronóstico es infausto (38).

#### **1.4.3. Dolor torácico.**

Es un síntoma común que está presente en el 20% de los casos (38). Puede ocurrir en estadios precoces, incluso sin clara evidencia de infiltración pleurítica, de la pared torácica o del mediastino. No suele ser un síntoma de mal pronóstico y suele responder adecuadamente a analgesia (incluyendo opiáceos) y al tratamiento oncológico activo.

#### **1.4.4. Disnea.**

Es la sensación subjetiva de falta de aire. Ocurre hasta en un 25% de los casos (37, 38). Puede ser secundario al propio tumor primario tanto central como periférico. Es un síntoma estresante, que se vive de forma muy negativa, por lo que su tratamiento precoz es de suma importancia.

#### **1.4.5. Disfonía.**

La disfonía suele ser persistente, generalmente debida a afectación del nervio laríngeo recurrente con parálisis de la cuerda vocal izquierda (39). Este síntoma puede mejorar si existe respuesta al tratamiento oncológico.

Las sibilancias (sonido silbante y chillón durante la respiración, que ocurre cuando el aire se desplaza a través de vías respiratorias estrechadas) aparecen cuando existe afectación de las vías aéreas, en especial a nivel del bronquio principal y deben ser distinguidas de las sibilancias del broncoespasmo.

#### **1.4.6. Derrame pleural.**

Presente en un 15% de los pacientes en el momento del diagnóstico. Su origen maligno debe confirmarse mediante citología de una muestra obtenida mediante tóracocentesis diagnóstica. El diagnóstico diferencial incluye proceso infeccioso, atelectasia, fallo cardíaco, etc. La importancia de catalogarlo radica en que modifica la estadificación del cáncer de pulmón y puede contraindicar tratamientos con intención curativa (40). El líquido pleural de etiología maligna es típicamente un exudado seroso, serohemático o hemático. Su manejo depende del contexto clínico del paciente y puede mejorar con tratamientos oncológicos activos (quimioterapia). Individuos con buen estado general pueden beneficiarse de intervenciones invasivas como la vídeotoracoscopia con talcaje pleural (41).

#### **1.4.7. Síndrome de Vena Cava Superior.**

La obstrucción directa de la vena cava superior en el mediastino por invasión o compresión tumoral provoca disnea y sensación de plenitud. Puede asociar tos, disfagia y dolor. En la exploración física destaca edema en esclavina (a nivel facial, de escote y de extremidades superiores) con dilatación venosa del cuello y aparición de circulación colateral. Puede ocurrir en el 2-4% de los casos (42).

Los síntomas relacionados con la enfermedad a distancia dependerán de las localizaciones implicadas. Por otro lado, los pacientes pueden experimentar síntomas derivados de síndromes paraneoplásicos. Se definen como un conjunto de síntomas que se producen por sustancias proteicas segregadas por el tumor. Se trata de efectos remotos del tumor primario, no relacionados con la invasión directa o a distancia, que pueden ocasionar disfunción orgánica (43). Diferentes síndromes paraneoplásicos son clínicamente aparentes en el

20-30% de los pacientes con cáncer de pulmón. Son más frecuentes en el CPCP (caquexia, hipercalcemia, SIADH, etc).

### 1.5. Diagnóstico.

Para el diagnóstico definitivo de un paciente con sospecha de cáncer de pulmón se recomienda (44):

- Anamnesis dirigida y exploración física, incluyendo historia familiar y hábito tabáquico, pérdida de peso y estado general (escala ECOG / Karnofsky) (Anexo I).
- Analítica de sangre: debe incluir hemograma, bioquímica con función renal y hepática, y coagulación.
- Radiografía de tórax: en los casos en los que no haya sido ésta la prueba que inició la sospecha.
- Pruebas funcionales respiratorias.
- TC con contraste de tórax y abdomen superior,
- Resonancia magnética cerebral: Las últimas guías clínicas recomiendan: Estadios IA: no indicado; IB: opcional (histología adenocarcinoma); a partir de IIA-B: recomendado. O si hay síntomas neurológicos en el examen físico, independiente de estadio.
- PET/TC: utilidad demostrada en diferenciar lesiones pulmonares benignas de malignas, estadificar la T y detectar la afectación ganglionar mediastínica (aunque esta última precisará confirmación histológica). Escasa precisión para lesiones inferiores a 1 cm. y menor sensibilidad en histología adenocarcinoma frente a escamosa (217).
- Escáner óseo / gammagrafía ósea: si hay dolor óseo, elevación importante del calcio sérico o niveles elevados de fosfatasa alcalina.
- Otras pruebas de imagen dirigidas, según la sintomatología.

Para confirmar el diagnóstico de sospecha y confirmar la estirpe tumoral disponemos de varias técnicas (45):

- Broncoscopia: Es la técnica de elección. Es fundamental en todos los pacientes en los que se plantee un tratamiento quirúrgico, pues junto a un alto rendimiento diagnóstico histológico proporciona información útil para el tratamiento, con un aceptable nivel de tolerancia y morbimortalidad. Su rentabilidad diagnóstica es superior en los tumores centrales. En el resto la rentabilidad es menor y puede ser necesario realizar otras técnicas diagnósticas.

- PAAF bajo control de radioscopia o TC: Puede ser de elección en los tumores periféricos, con una rentabilidad que alcanza el 90%. Como principal complicación, en un 12-30% de los casos, está el neumotórax.
- Citología de esputo: Método sencillo y no invasivo pero de rentabilidad muy variable. Se reserva para los pacientes que rechazan o son incapaces de tolerar otros procedimientos más agresivos.
- Otros:
  - o PAAF o BIOPSIA de lesiones metastásicas extratorácicas cuando éstas sean más accesibles que el tumor primario.
  - o Toracocentesis y/o biopsia pleural cuando exista derrame pleural y el tumor no se pueda diagnosticar mediante las técnicas anteriores.
  - o Biopsia quirúrgica (mediante mediastinoscopia, mediastinotomía, toracoscopia o toracotomía) cuando excepcionalmente no se alcance el diagnóstico por ninguno de los métodos anteriores.

### **1.6. Clasificación del cáncer de pulmón.**

La clasificación por subtipos histológicos sigue siendo la base fundamental para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer de pulmón.

El primer sistema de clasificación, publicado por la Organización Mundial

de la Salud (OMS o WHO por sus siglas en inglés) en 1967, se basaba exclusivamente en métodos de tinción con hematoxilina/eosina (H/E) sobre especímenes resecados. La clasificación vigente hasta el año 2015, fue la publicada por este mismo organismo en 2004, en la que se habían incorporado técnicas de inmunohistoquímica (IHQ), mucina y factores genéticos, aunque seguía versando sobre piezas de resección. La pasada década ha supuesto el renacer de la histología como un factor determinante del tratamiento de los carcinomas no microcíticos de pulmón. El diagnóstico patológico del cáncer de pulmón es ahora un proceso de múltiples pasos, que empieza con el diagnóstico morfológico, refinado por la IHQ cuando se precisa, y seguido por la adecuada caracterización molecular del tumor (2).

La vigente clasificación de “Tumores del Pulmón, Pleura, Timo y Corazón” ha sido recientemente publicada por la WHO (2015). Comparada con la Clasificación WHO 2004, ha habido cambios importantes en los tumores del pulmón, la mayoría de los cuales tienen su base en las sugerencias sobre clasificación del adenocarcinoma (46) que se hicieron en 2011 por la International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC), American Thoracic Society (ATS), y la European Respiratory Society (ERS) (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación del cáncer de pulmón. WHO 2015.

Histologic Type and Subtypes	ICDO Code	Histologic Type and Subtypes	ICDO Code
<b>Epithelial tumors</b>		<b>Papillomas</b>	
Adenocarcinoma	8140/3	Squamous cell papilloma	8052/0
Lepidic adenocarcinoma <sup>a</sup>	8250/3 <sup>d</sup>	Exophytic	8052/0
Acinar adenocarcinoma	8551/3 <sup>d</sup>	Inverted	8053/0
Papillary adenocarcinoma	8260/3	Glandular papilloma	8260/0
Micropapillary adenocarcinoma <sup>a</sup>	8265/3	Mixed squamous and glandular papilloma	8560/0
Solid adenocarcinoma	8230/3	<b>Adenomas</b>	
Invasive mucinous adenocarcinoma <sup>a</sup>	8253/3 <sup>d</sup>	Sclerosing pneumocytoma <sup>a</sup>	8832/0
Mixed invasive mucinous and nonmucinous adenocarcinoma	8254/3 <sup>d</sup>	Alveolar adenoma	8251/0
Colloid adenocarcinoma	8480/3	Papillary adenoma	8260/0
Fetal adenocarcinoma	8333/3	Mucinous cystadenoma	8470/0
Enteric adenocarcinoma <sup>a</sup>	8144/3	Mucous gland adenoma	8480/0
Minimally invasive adenocarcinoma <sup>a</sup>		<b>Mesenchymal tumors</b>	
Nonmucinous	8256/3 <sup>d</sup>	Pulmonary hamartoma	8992/0 <sup>d</sup>
Mucinous	8257/3 <sup>d</sup>	Chondroma	9220/0
Preinvasive lesions		PEComatous tumors <sup>e</sup>	
Atypical adenomatous hyperplasia	8250/0 <sup>d</sup>	Lymphangioliomyomatosis	9174/1
Adenocarcinoma in situ <sup>a</sup>		PEComa, benign <sup>e</sup>	8714/0
Nonmucinous	8250/2 <sup>d</sup>	Clear cell tumor	8005/0
Mucinous	8253/2 <sup>d</sup>	PEComa, malignant <sup>e</sup>	8714/3
Squamous cell carcinoma	8070/3	Congenital peribronchial myofibroblastic tumor	8827/1
Keratinizing squamous cell carcinoma <sup>a</sup>	8071/3	Diffuse pulmonary lymphangiomatosis	
Nonkeratinizing squamous cell carcinoma <sup>a</sup>	8072/3	Inflammatory myofibroblastic tumor	8825/1
Basaloid squamous cell carcinoma <sup>a</sup>	8083/3	Epithelioid hemangioendothelioma	9133/3
Preinvasive lesion		Pleuropulmonary blastoma	8973/3
Squamous cell carcinoma in situ	8070/2	Synovial sarcoma	9040/3
<b>Neuroendocrine tumors</b>		Pulmonary artery intimal sarcoma	9137/3
Small cell carcinoma	8041/3	Pulmonary myxoid sarcoma with <i>EWSR1-CREB1</i> translocation <sup>e</sup>	8842/3 <sup>d</sup>
Combined small cell carcinoma	8045/3	Myoepithelial tumors <sup>e</sup>	
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelioma	8982/0
Combined large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelial carcinoma	8982/3
<b>Carcinoid tumors</b>		<b>Lymphohistiocytic tumors</b>	
Typical carcinoid tumor	8240/3	Extranodal marginal zone lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	9699/3
Atypical carcinoid tumor	8249/3	Diffuse large cell lymphoma	9680/3
Preinvasive lesion		Lymphomatoid granulomatosis	9766/1
Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia	8040/0 <sup>d</sup>	Intravascular large B cell lymphoma <sup>a</sup>	9712/3
Large cell carcinoma	8012/3	Pulmonary Langerhans cell histiocytosis	9751/1
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Erdheim-Chester disease	9750/1
<b>Sarcomatoid carcinomas</b>		<b>Tumors of ectopic origin</b>	
Pleomorphic carcinoma	8022/3	<b>Germ cell tumors</b>	
Spindle cell carcinoma	8032/3	Teratoma, mature	9080/0
Giant cell carcinoma	8031/3	Teratoma, immature	9080/1
Carcinosarcoma	8980/3	Intrapulmonary thymoma	8580/3
Pulmonary blastoma	8972/3	Melanoma	8270/3
<b>Other and Unclassified carcinomas</b>		Meningioma, NOS	9530/0
Lymphoepithelioma-like carcinoma	8082/3	<b>Metastatic tumors</b>	
NUT carcinoma <sup>a</sup>	8023/3 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> The morphology codes are from the ICDO. <sup>2</sup> Behavior is coded /0 for benign tumors, /1 for unspecified, borderline or uncertain behavior, /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia, and /3 for malignant tumors.	
<b>Salivary gland-type tumors</b>		<sup>b</sup> The classification is modified from the previous WHO classification <sup>3</sup> taking into account changes in our understanding of these lesions.	
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3	<sup>c</sup> This table is reproduced from the 2015 WHO Classification by Travis et al. <sup>1</sup>	
Adenoid cystic carcinoma	8200/3	<sup>d</sup> These new codes were approved by the International Agency on Cancer Research/WHO Committee for ICDO.	
Epithelial-myoepithelial carcinoma	8562/3	<sup>e</sup> New terms changed or entities added since 2004 WHO Classification. <sup>3</sup>	
Pleomorphic adenoma	8940/0	<sup>f</sup> LCNEC, large cell neuroendocrine carcinoma, WHO, World Health Organization; ICDO International Classification of Diseases for Oncology.	

(Continued)

## 1.7. Estadificación del cáncer de pulmón.

Un sistema de estadiaje proporciona una guía para definir la extensión y pronóstico de un tumor, para evaluar los resultados de los tratamientos y los ensayos clínicos, facilitando el intercambio y la comparación de información entre distintos centros, sirviendo como base para la investigación clínica y traslacional.

Con este propósito la Union International for Cancer Control (UICC) y la American Joint Committee on Cancer (AJCC) establecieron un sistema de estadificación universal, el más ampliamente extendido, conocido como TNM (tumor, ganglio, metástasis) (47).

### 1.7.1. Definición TNM

La T define la extensión del tumor primario en base a su tamaño y su relación con las estructuras vecinas:

- Tx: el tumor primario no puede evaluarse.
- T0: no evidencia de tumor primario.
- Tis: carcinoma *in situ*.
- T1, T2, T3, T4: en función del tamaño y la extensión local del tumor.

La N hace referencia a la afectación ganglionar regional:

- Nx: los ganglios regionales no pueden ser evaluado.
- N0: no evidencia de metástasis ganglionares.
- N1, N2, N3: en función del número de ganglios afectados.

La M se refiere a la extensión de la enfermedad a distancia:

- M0: no evidencia de metástasis a distancia.
- M1: metástasis a distancia, pudiendo especificar su localización.

### 1.7.2. Contextos de clasificación y descriptores.

La clasificación TNM según el contexto en el que se realiza incluye:

- Clínica (cTNM o TNM): clasificación clínica del tumor, antes de iniciar cualquier tratamiento y esencial para seleccionar éste, basada en criterios de exploración física, endoscopia, diagnóstico por imagen y exploración quirúrgica.

- Patológica (pTNM): clasificación patológica o posoperatoria, la más objetiva y fiable para estimación pronóstica. Se basa en la información clínica, complementada o modificada con la adquirida durante la cirugía y el examen patológico. Precisa la exéresis adecuada del tumor primario para determinar pT y de un número suficiente de ganglios para evaluar pN.
- Postratamiento (ypTNM): aquella que se realiza después de un tratamiento inicial multimodal.

Otros descriptores:

L: invasión de vasos linfáticos: no evaluable (Lx), ausente (L0), presente (L1).

V: invasión venosa: no evaluable (Vx), ausente (V0), presente microscópica (V1), presente macroscópica (V2).

R: tumor residual tras tratamiento.

Pn: invasión perineural: no evaluable (Pnx), ausente (Pn0), presente (Pn1).

### 1.7.3. Estadificación TNM del cáncer de pulmón no microcítico.

La 7ª clasificación TNM, elaborada por la IASLC y basada en el análisis de pacientes procedentes de todo el mundo, introduce cambios en los descriptores, especialmente en lo referente al tamaño del tumor, y propone una nueva agrupación de estadios.

La clasificación anatómica TNM-estadios permite una descripción estandarizada de los tumores pulmonares, la comparación de resultados entre distintos estudios clínicos y encuadrar a los pacientes en estadios dentro de los cuales el pronóstico y la estrategia terapéutica sean similares. La 6ª edición del sistema de estadificación internacional (2002) ha permanecido vigente hasta 2009. Sin embargo, su metodología ha sido criticada. Dicho sistema procede del análisis de la base de datos de una sola institución y región geográfica, constituida entre 1975 y 1988, cuando no se empleaban muchas de las técnicas de imagen ni las terapias actuales, y compuesta por 5.319 pacientes

tratados quirúrgicamente. Todos los tumores disponían de estadificación clínica y patológica, pero ninguno de los descriptores T, N o M había sido validado interna ni externamente. Es por ello que surge en 2009 la 7ª edición TNM IASLC.

Para actualizar y mejorar la 6.ª edición, la IASLC, de acuerdo con la UICC y el AJCC, creó un Comité Internacional de Estadificación que recogió retrospectivamente los datos de 100.869 pacientes. Fueron diagnosticados entre 1990 y 2000, seguidos clínicamente al menos durante 5 años y procedían de 45 fuentes distintas (registros, ensayos clínicos, series quirúrgicas y hospitalarias) de 20 países (48). Se pudieron analizar 68.463 con CPCNP y 13.032 con CPCP; en total, 81.495. Los hallazgos del estudio que pudieran constituir recomendaciones para cambiar algún componente T, N o M fueron validados internamente (por región geográfica y tipo de base de datos) y externamente con enfermos del registro SEER estadounidense (Anexo II).

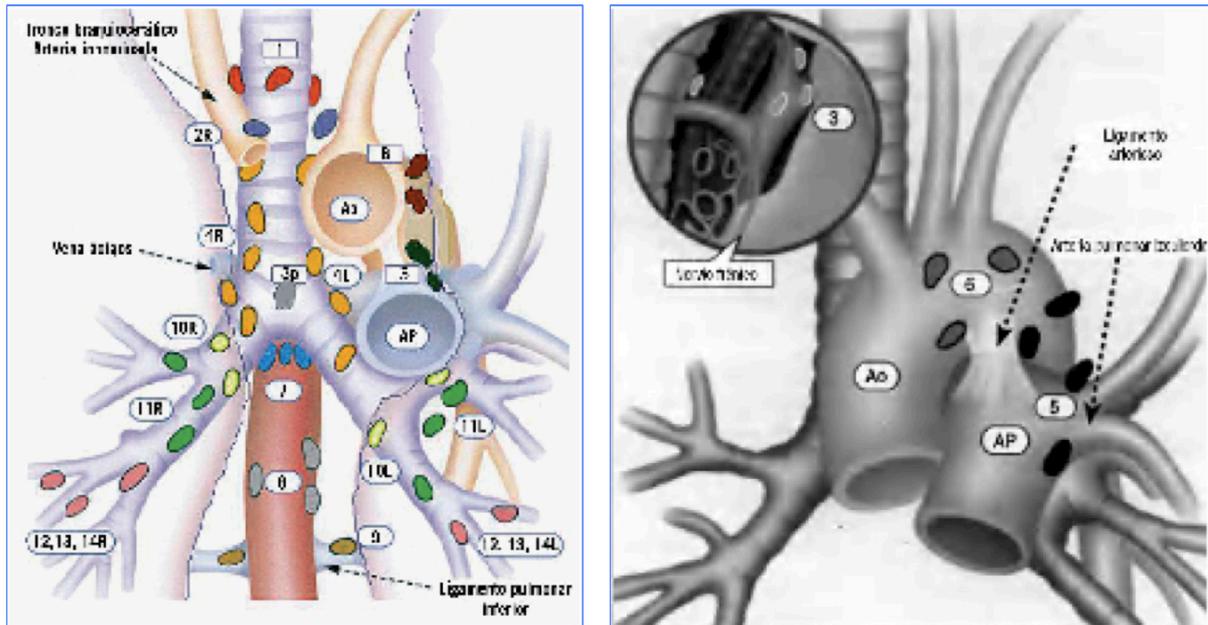
Los principales cambios de la 7ª edición respecto a la previa se relacionan con:

- Realzar el tamaño tumoral como factor pronóstico.
- El papel de los nódulos satélite en el mismo lóbulo o en lóbulo ipsilateral distinto.
- Nuevo mapa regional ganglionar.
- Papel de la invasión pleural visceral y su correcta definición.
- Categorizar la enfermedad metastásica en intra o extratorácica.

#### **1.7.4. Áreas ganglionares en la estadificación del carcinoma de pulmón.**

Las estaciones, o áreas, ganglionares intratorácicas fueron definidas en 1997 y sustentadas por la AJCC, UICC, SEPAR, ATS y ERS (49). Estas estaciones se detallan en la Figura 4.

Figura 4. Áreas ganglionares en la estadificación del cáncer de pulmón.



Nivel	Localización	Estadio ganglionar
1	Ganglios mediastínicos altos	N2
2	Ganglios paratraqueales altos	
3	Ganglios prevasculares y retrotraqueales	
4	Ganglios paratraqueales bajos	
5	Ganglios subaórticos	
6	Ganglios para-aórticos	
7	Ganglios subcarínicos	
8	Ganglios paraesofágicos	
9	Ganglios del ligamento pulmonar	
10	Ganglios hiliares	N1
11	Ganglios interlobares	
12	Ganglios lobares	
13	Ganglios segmentarios	
14	Ganglios subsegmentarios	

La clasificación TNM es un factor pronóstico en cáncer de pulmón ya que refleja características tumorales que identifican categorías de resultado en relación con la supervivencia, independientemente del tratamiento. A pesar de ello, esta 7ª edición proporciona tan solo un valor del coeficiente de determinación  $< 0.3$ , por lo que la mayoría de la valoración pronóstica sigue siendo desconocida (47).

## 1.8. Tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico.

### 1.8.1. Estadio I-II.

El tratamiento en estos estadios se fundamenta en la cirugía. Los pacientes deberán ser valorados en comités multidisciplinares y ser sometidos a una valoración pulmonar preoperatoria para identificar a aquellos con un elevado riesgo de complicaciones posoperatorias.

#### 1.8.1.1 Cirugía.

Es el tratamiento de elección en estadios precoces proporcionando la mayor tasa de curaciones (si no existen contraindicaciones medicas para la intervención quirúrgica) (nivel de evidencia IB - ANEXO III).

El tipo de resección quirúrgica de elección será la lobectomía o resección pulmonar anatómica (IB) (50). La linfadenectomía mediastínica o el muestreo sistemático en el momento de la resección quirúrgica es recomendable para la mejor estadificación frente al muestreo selectivo o su no realización (51).

Aquellos pacientes incapaces de tolerar una lobectomía por su comorbilidad o una función pulmonar mermada, podrán someterse a una resección sublobar (segmentectomía o resección amplia no anatómica) (IB). También serán candidatos los adenocarcinomas < 2cm localizados en el tercio periférico del pulmón, que cumplan al menos uno de estos 3 criterios:

- Adenocarcinoma in situ (adenocarcinomas < 2cm de patrón lepidico, mucinoso, no mucinoso o mixto),
- Al menos el 50% de apariencia en vidrio deslustrado en TAC,
- Tiempo de duplicación > 400 días.

Se recomienda reintervenir en casos con márgenes positivos tras la resección de estadios I-II. Si esto no fuera posible, deberá valorarse añadir radioterapia PORT (52).

#### 1.8.1.2. Tratamiento adyuvante.

La quimioterapia basada en cisplatino, en los estadios II completamente

resecados con buen estado general, ha demostrado ampliamente su efecto beneficioso en términos de supervivencia (53). Se recomiendan 4 ciclos de quimioterapia posoperatoria basada en platinos (IA). No se recomienda el uso de quimioterapia adyuvante en pacientes con estadios IA y IB completamente resecados (IB) y su uso es controvertido en los estadios IB de gran tamaño (4cm) (IC).

La PORT, no se recomienda en estadios I-II completamente resecados (IA y IIA, respectivamente).

Los tratamientos dirigidos no están indicados en el escenario de la adyuvancia.

#### 1.8.1.3. Radioterapia esterotáxica.

Se recomienda la SBRT en pacientes sin afectación ganglionar con tumores de hasta 5 cm que son medicamente inoperables o rechazan cirugía (IIC) (54, 55). Según diversos estudios no aleatorizados, esta técnica podría ser una opción en pacientes operables pero mayores de 75 años (IIC) (56).

#### 1.8.2. Estadio III.

Éste es un grupo muy heterogéneo. Las decisiones sobre su tratamiento deben tomarse por un comité multidisciplinar. El tratamiento en estos estadios incluye quimioterapia, radioterapia y cirugía.

Aquellos pacientes con afectación ganglionar mediastínica y estado general ECOG 0-1, deben recibir 2-4 ciclos de quimioterapia con un doblete de platino concomitante con radioterapia locorregional (IA) (57). En el caso de pacientes con comorbilidades o ECOG 2, se debe plantear un tratamiento combinado de quimio y radioterapia pero administrado de forma secuencial (IA) (58).

En estos estadios, la cirugía no es un tratamiento de primera elección o usado en monoterapia. Puede recomendarse en pacientes con estadio IIIA (N2) dentro de la estrategia multimodal tras quimioterapia o quimiorradioterapia neoadyuvante (59).

En los pacientes sometidos a cirugía R0 pero con hallazgo incidental de afectación ganglionar N2 en la evaluación patológica: se recomienda quimioterapia adyuvante (IA). Considerar asociar PORT tras la quimioterapia (IVC) (52).

Tampoco en el estadio III están indicados los tratamientos con agentes dirigidos a dianas (IA) (60).

### **1.8.3. Estadio IV.**

El tratamiento de este estadio es un tratamiento sistémico. El tipo de tratamiento dependerá de varios factores:

- histología del tumor
- identificación o no de mutaciones conductoras conocidas,
- estado general del paciente.

Las combinaciones de quimioterapia basadas en dobles de platino en combinación con taxanos, gemcitabina/pemetrexed o vinorelbina o el triplete que incluye carboplatino, paclitaxel y bevacizumab, siguen siendo el tratamiento estándar del cáncer de pulmón avanzado sin mutaciones genéticas. En 1988 se demostró que la quimioterapia basada en cisplatino mejoraba la supervivencia de los pacientes (61). Posteriores estudios han confirmado estos resultados y han demostrado beneficio clínico en pacientes con cáncer de pulmón en estadio IIIB-IV.

En la actualidad, la supervivencia de los pacientes con cáncer de pulmón avanzado sigue siendo corta a pesar de los avances en la quimioterapia. El campo del tratamiento se ha visto revolucionado con el auge y el desarrollo de la biología molecular y la inmunoterapia. El descubrimiento de dianas terapéuticas y el desarrollo de fármacos antidiana han permitido mejorar los resultados de eficacia, debido en parte a una mejor selección de pacientes candidatos a determinados tratamientos. En el campo específico del adenocarcinoma, el descubrimiento de mutaciones activadoras en EGFR y del reordenamiento en el gen ALK, han revolucionado su tratamiento. Se pone de manifiesto la necesidad de conocer los perfiles genéticos de estos subtipos

tumorales, con el objetivos de obtener terapias antidiaria específicas, eficaces y bien toleradas por los pacientes (62, 63, 64).

### 1.9. Pronóstico del cáncer de pulmón no microcítico.

Como ya se ha mencionado anteriormente, el cáncer de pulmón es el más común a nivel mundial y también el que mayor mortalidad produce. A pesar de los avances en el estadiaje, métodos diagnósticos, opciones terapéuticas y conocimientos moleculares, la visión global del CPNCP ha cambiado poco, con una supervivencia global a cinco años que tan sólo se ha incrementado del 15.7 al 17.4% en la última década (65, 66).

En estadios precoces (I y II), la cirugía sigue siendo el tratamiento estándar. El pronóstico de estos estadios (Tabla 3), en términos de supervivencia global a cinco años, está en torno al 43-50% para los estadios I y 25-36% para los estadios II (67).

Tabla 3. Estadificación TNM 7ª ed. como factor pronóstico.

Stage	T	N	M	cTNM 5Y	pTNM 5Y	c HR	p HR
o	Tis	No	Mo				
IA	T1a, T1b	No	Mo	50%	73%		
IB	T2a	No	Mo	43%	58%	1.19, p=0.004	1.55, p<0.0001
IIA	T1a, T1b, T2a, T2b	N1 No	Mo Mo	36%	46%	1.23, p=0.002	1.44, p<0.0001
IIB	T2b, T3	N1 No	Mo Mo	25%	36%	1.46, p<0.0001	1.29, p<0.0001
IIIA	T1, T2, T3, T4	N2 N1,2 No,1	Mo Mo Mo	19%	24%	1.27, p<0.0001	1.47, p<0.0001
IIIB	T4, any T	N2 N3	Mo Mo	7%	9%	1.54, p<0.0001	1.79, p<0.0001
IV	Any T	Any N	M1a, M1b	2%	13%	1.64, p<0.0001	0.86, p=0.10

(cTNM 5Y: tasa de supervivencia a cinco años cuando se refiere al estadio clínico; pTNM 5Y: tasa de supervivencia a cinco años cuando se refiere al estadio patológico; cHR: *hazard ratio* para comparar la supervivencia global de ese estadio con el inmediatamente inferior (ej: estadio IB vs el IA o IIIB vs IIIA); pHR: *hazard ratio* para comparar la supervivencia global de ese estadio patológico con el inmediatamente inferior).

Sin embargo, un número importante de pacientes que se sometieron a cirugía curativa, morirán por recurrencias sistémicas, lo cual impulsa aún más la necesidad de desarrollar y mejorar tratamientos adyuvantes que mejoren estas cifras. Para ello, uno de los frentes de investigación debe pasar por conocer factores pronósticos que permitan predecir qué pacientes tienen más probabilidades de recaer, y así, poder seleccionar aquellos candidatos a tratamientos adyuvantes personalizados y lograr mejorar de este modo las cifras de supervivencia.

El conocimiento profundo de las características del enfermo y de las variables del tumor nos proporciona los principales factores pronósticos (FP) que permiten predecir las probabilidades de progresión, supervivencia o respuesta al tratamiento. El uso y utilidad de los FP es un área importante de investigación, con mayor interés en áreas relacionadas con la biología tumoral. Los factores pronósticos son aquellos que identifican un resultado diferente, independiente del tratamiento. Son por ello predictores de una menor o mayor probabilidad de recurrencia de la enfermedad e indicadores de la posibilidad de que la cirugía sola haya curado al paciente (211).

Se pueden agrupar en tres grupos: relacionados con el paciente, con el tratamiento o con el tumor.

### **1.9.1. Factores relacionados con el paciente.**

No forman parte del sistema de clasificación TNM pero tienen un peso importante en la toma diaria de decisiones.

#### **1.9.1.1. Estado general o *performance status* (PS).**

Es uno de los FP más reproducibles, útil también para guiar los tratamientos, medido mediante escalas que cuantifican la capacidad funcional de los pacientes (67). Las más utilizadas son las de Karnofsky y ECOG (Anexo I).

La información que se puede obtener con ellas está directamente relacionada con la supervivencia (68, 69) y predice la respuesta al tratamiento. Ha sido validado tanto en estadios precoces como avanzados.

#### 1.9.1.2. La calidad de vida.

Factor multidimensional que incluye factores físicos, funcionales, psicológicos, sociales e, incluso, espirituales. La calidad de vida evalúa la repercusión de la enfermedad en la vida del paciente, de forma similar al IK o ECOG, y en este sentido resulta ser un factor pronóstico. Diversos estudios han obtenido resultados contradictorios. En un estudio publicado en 2011 se evaluaba la calidad de vida en todos los estadios del CPNCP (70) mediante el cuestionario de la European Organization for the Research and Treatment of Cancer Core Quality of Life Questionnaire (QLQ-C30). En él se concluyó que la calidad de vida global y la función física predicen un aumento de la supervivencia (cada 10 puntos en el incremento de la función física evaluada, mejoró la supervivencia un 10%).

#### 1.9.1.3. Sexo.

El sexo femenino es otro factor pronóstico reproducible y validado (67), confiriendo mejor evolución que los varones (68). Se han publicado datos contradictorios al respecto, teniendo en cuenta que existen diversos factores confusores asociados con el sexo. Entre ellos el hábito tabáquico o la histología. Sin embargo, en el último metaanálisis (71) publicado por *Nakamura y cols.*, se seleccionaron 39 estudios que incluían un total de 86.800 pacientes; estos estudios eran heterogéneos en cuanto a estadio, histología o distribución de tratamientos. Los autores combinaron las HR extraídas tanto de análisis univariantes como multivariantes. Las conclusiones fueron las mismas con las HR combinadas, a favor del sexo femenino (respectivamente 0.79 y 0.78;  $p < 0.0001$  para ambos).

#### 1.9.1.4. Otros.

La presencia de EPOC y/o disnea. La EPOC es la enfermedad inflamatoria progresiva y crónica de vía aérea que se da fundamentalmente en fumadores. Aumenta el riesgo de cáncer de pulmón y está relacionada con peores resultados. La disnea es uno de los síntomas más frecuentes del cáncer de pulmón y, a menudo, su principal síntoma al diagnóstico. Muchos autores han tratado de evaluar su papel como factor pronóstico. En el estudio

de *Ban y colaboradores* (72) encuentran que la disnea, así como su grado de severidad, es un factor pronóstico adverso en cáncer de pulmón, tanto en estadios resecaos como en fases avanzadas.

Aunque existe una tendencia relativamente generalizada a considerar la edad como un FP independiente de mal pronóstico, la mayoría de los estudios no corroboran esa idea, especialmente en estadios avanzados. Por tanto, en ausencia de otros factores condicionantes de la evolución, no debería utilizarse la edad por sí misma para tomar decisiones terapéuticas.

### **1.9.2. Factores relacionados con el tratamiento.**

El tratamiento al que se somete un paciente, según las distintas opciones disponibles en su entorno, influyen claramente en el pronóstico.

La cirugía ofrece las mejores posibilidades de supervivencia a los pacientes con estadios iniciales (50, 51). En aquellos pacientes inoperables por razones médicas, la radioterapia puede controlar tumores en estadios localizados, considerándose una alternativa no invasiva a la resección.

En estadios localmente avanzados, la radioterapia externa ha sido el tratamiento de referencia (57). En los últimos años, se ha conseguido mejorar los resultados a través de varias vías: el fraccionamiento acelerado en curso continuo, la asociación con quimioterapia concomitante o secuencial, etc.

La quimioterapia en estadios avanzados mejora la supervivencia comparada con los mejores cuidados de soporte (61). En la actualidad están en marcha estudios para definir las mejores combinaciones así como el papel de nuevos tratamientos biológicos y la inmunoterapia.

### **1.9.3. Factores relacionados con el tumor.**

#### **1.9.3.1. El tipo histológico.**

Es un FP reconocido. En pacientes resecaos, la histología puede jugar un papel importante en los resultados futuros. Varios de los estudios publicados concluyen que el pronóstico es mejor en pacientes con histología escamosa

que en adenocarcinoma (supervivencia global a 5 años del 65% frente al 55%) (73). La serie alemana de Pfannschmidt J. y cols. (212), encuentra también que los pacientes con histología escamosa alcanzan una mejor supervivencia global a 5 años que aquellos con histología de adenocarcinoma (53,6% comparada con 48,2%). En el estudio japonés de Asamura H. y cols. (213) los resultados son los opuestos (SG a 5 años de 67,3% para adenocarcinomas frente a 52,2% para escamosos). Sin embargo hay que recalcar que, se incluyen en este estudio un amplio número de casos con adenocarcinoma *in situ* o mínimamente invasivo (antes clasificados como bronquioloalveolares) por lo común de este subgrupo en población japonesa. Es sabido que los adenocarcinomas *in situ* no tienen capacidad invasividad y que su SG a 5 años es del 100%. Un amplio estudio realizado en población noruega (53.211 pacientes resecados) (74) sugiere que la histología adenocarcinoma y célula grande confieren peor pronóstico.

En la revisión de *Brundage y cols.* (75), el adenocarcinoma presentaba un impacto negativo independiente sobre la supervivencia en pacientes resecados, excluidos los bronquioloalveolares.

En las largas series recogidas en el proyecto de estadificación del cáncer de pulmón de la IASLC, un análisis de más de 9.137 pacientes, mostró el valor pronóstico estadísticamente significativo de la histología, ajustado por edad, sexo y estadio, con las siguientes HR: adenocarcinoma vs adenocarcinoma *in situ*: 1.35; escamoso vs adenocarcinoma: 0.86; célula grande vs escamoso: 1.16 (p 0.001 para todos) (76).

#### 1.9.3.2. El grado histológico.

No existe un sistema de clasificación del grado histológico establecida para el cáncer de pulmón, por lo que su relevancia pronóstica no puede sistematizarse. En el caso de los adenocarcinomas, actualmente se acepta la clasificación según el patrón morfológico predominante en bajo grado (lepídicos), grado intermedio (acinares y papilares) y alto grado (micropapilares y sólidos) (77, 78).

#### 1.9.3.3. El estadiaje.

Es el FP mas importante y mejor estudiado (67). La descripción de la extensión de la enfermedad es el único FP relacionado con el tumor que se usa de forma regular para tomar decisiones sobre el tratamiento de pacientes con cáncer de pulmón (211). Resume la información incluida en tres factores: T, N y M. De hecho, por separado, cada uno de estos 3 factores, tienen también valor pronóstico: el mayor tamaño tumoral empeora el pronóstico y la afectación ganglionar es *per se* un factor pronóstico adverso que tiene incluso impacto en la posibilidad o no de un tratamiento quirúrgico. La afectación pleural, que desde la 7ªed. TNM es considerado M1a, es una característica adversa. En pacientes metastásicos, una única localización metastásica es menos adversa que la existencia de múltiples metástasis (79). La presencia de metástasis a distancia siempre se asocia a enfermedad incurable, con perspectivas de supervivencia corta. Sin embargo, hay localizaciones metastásicas que predicen una evolución peor, tales como las metástasis en huesos o hígado. Las metástasis cerebrales son frecuentes, pero si la lesión es única, su control con radioterapia o cirugía puede suponer una supervivencia más prolongada.

La precisión en el estadiaje ha conseguido reducir la tasa de toracotomías o resecciones incompletas.

#### 1.9.3.4. Marcadores serológicos.

Ninguno es específico del CPNCP pero han sido varios los evaluados.

El más estudiado ha sido el antígeno carcinoembrionario (CEA), habiéndose encontrado relación entre valores elevados preoperatorios y recaída posterior de la enfermedad (80). Se considera a estos pacientes buenos candidatos para quimioterapia adyuvante.

El fragmento 19 de la citoqueratina (CYFRA 21-1) también es considerado un factor independiente para un peor pronóstico (con valores superiores a 3,6 ng/ml) según, entre otros, un metaanálisis realizado tanto en pacientes con tumor reseado como en estadios avanzados. Los último datos

publicados sugieren que la concentración sérica de CA 19-9 es un indicador pronóstico independiente en el adenocarcinoma pulmonar en estadio avanzado y su capacidad pronóstica mejora cuando se combina con CYFRA 21-1 (81, 82).

Factores metabólicos: en no pocos estudios se ha evaluado el valor pronóstico de la actividad metabólica tumoral medida mediante la PET- [18F]-fluoro-desoxi-D-glucosa. Estos estudios se han recogido en un metaanálisis que concluye que una elevada actividad metabólica (SUVmax) es en sí misma un FP univariante (HR 2.08) en CPNCP resecao (83). Su valor independiente aún tiene que ser validado. En adenocarcinomas estadio I, se puede identificar pacientes con alto riesgo de recidiva en función de la invasión linfovascular y el SUVmax (216).

#### 1.9.3.5. Marcadores moleculares.

Los cambios moleculares son los factores fundamentales en cada tumor, haciendo que éste se comporte de una manera única. Los marcadores moleculares se perciben como más objetivos que otras características patológicas, más fácilmente medibles y con mayor rigor científico (211). El avance conseguido sobre el estudio de las alteraciones genéticas relacionadas con el desarrollo del cáncer de pulmón, ha perfeccionado el análisis de algunos marcadores con factor pronóstico. El interés de obtener un perfil pronóstico con los marcadores moleculares, radica en la posibilidad de realizar un diseño de tratamiento en función de las características de cada tumor, al clasificar a los pacientes en subgrupos de alto y bajo riesgo de presentar metástasis ocultas o mortalidad (84, 85).

Existen muchos estudios y cada uno con marcadores genéticos diferentes (86, 87), debido, en parte, a la gran heterogenicidad genética intratumoral existente. Se han realizado estudios abarcando factores en solitario y otros con amplios paneles génicos, lo que hace que sean difícilmente comparables. En el futuro, deberían intentarse unos resultados reproducibles y que puedan ser aplicados a la práctica clínica, necesitando estudios prospectivos y multicéntricos que puedan confirmar la utilidad clínica de estos perfiles genéticos de alto riesgo, para la administración de tratamientos

adyuvantes personalizados.

Las alteraciones moleculares en el adenocarcinoma han sido identificadas mediante la secuenciación del genoma y el exoma. Son múltiples los genes relacionados con este subtipo histológico, como por ejemplo las mutaciones activadoras en EGFR, activación de BRAF, mutaciones en KRAS o HER-2 y activación de PI3KCA. La presencia de genes de fusión ha sido otro hallazgo relevante. Sobre todas estas y otras mas, se está trabajando.

Destacan:

- Las mutaciones en el dominio tirosin-quinasa de EGFR: El protooncogen C-erbB-1 codifica este receptor. Estas mutaciones están descritas en el 50% de los adenocarcinomas en pacientes del Este de Asia y en torno al 15-20% en pacientes Europeos/Norteamericanos. Las mutaciones en EGFR, se han considerado como un factor pronóstico favorable, estando asociadas a pacientes nunca fumadores y género femenino. Aunque algunos estudios han podido demostrar su efecto positivo en el pronóstico de adenocarcinomas resecaados, otros muchos no han alcanzado valor en los análisis multivariantes. En general, estas mutaciones están asociadas con estadios precoces, adenocarcinomas bien diferenciados y tumores con un componente predominantemente lepidico, todos estos factores conocidos por ser de buen pronóstico. La impresión global es que mientras que las mutaciones de EGFR se asocian a mejor pronóstico, este efecto no es independiente de otros factores pronóstico con los que esta mutación se asocia (211). Las mutaciones en C-erbB-1 pueden conllevar activación de EGFR, dando lugar al crecimiento tumoral descontrolado. Aunque existe alguna relación documentada entre sobreexpresión de EGFR y supervivencia acortada en el CPNCP estadio I, todavía no hay datos suficientes para considerarlo un marcador molecular con significación pronóstica.
- El protooncogen C-erbB-2 codifica una tirosín-quinasa transmembrana (p185neu) que actúa como receptor del factor de crecimiento. Su sobreexpresión en adenocarcinomas se considera un FP negativo independiente.

- K-ras: mediador de la señal del EGFR. Las mutaciones en los codones 12 y 13 de KRAS son relativamente frecuentes en adenocarcinomas de pulmón, habiéndose encontrado en hasta el 40% de casos en Europa/América del Norte pero tan sólo un 10% de casos en Japón. Tanto estudios individuales como metaanálisis han demostrado su papel como factor pronóstico desfavorable (88), aunque algunas de estas asociaciones son débiles y no se han sostenido en los análisis multivariantes (211). Las mutaciones en KRAS se asocian con perfil fumador, pobre diferenciación tumoral y mayor estadio, actuando estos factores como confusores del valor intrínseco de KRAS.
- Otros:
  - o Ki-67: marcador de proliferación tumoral. Se utiliza para identificar tumores que se dividen rápidamente. Varias series han asociado altos índices de proliferación según Ki-67 con una reducción en la supervivencia (211).
  - o Fusiones de ALK (quinasa del linfoma anaplásico): Se considera la existencia de genes de fusión de ALK como factor de buen pronóstico tanto en adenocarcinomas resecaos como aquellos en estadios avanzados, incluso aunque esté asociado generalmente a los subtipos sólido o cribiforme con células en anillo de sello, con características histológicas agresivas (211).
  - o Mutaciones en BRAF: Aunque la identificación de mutaciones en BRAF precedió al descubrimiento de las translocaciones de ALK, ha habido pocos ensayos clínicos completos que las hayan estudiado. BRAF forma parte de la vía de señalización de las quinasas Ras/mitogeno activadas, en un paso posterior a KRAS. La vía culmina con la transcripción de genes de proliferación y supervivencia celular. En cáncer de pulmón se estima una incidencia del 3% de mutaciones de BRAF. Se han identificado diversas mutaciones en BRAF, siendo la más conocida la V600E, por su alta frecuencia en melanoma (90%). Una de las series más profundamente estudiada es la

publicada por el Memorial Sloan-Kettering Center de Nueva York (214). Encuentran una incidencia de mutaciones de BRAF del 3%, todas en pacientes fumadores, acorde con lo publicado. A diferencia del melanoma, en adenocarcinoma de pulmón la mutación V600E tiene una menor incidencia (50%), encontrando otras como la G469A, descrita hasta en el 40% los pacientes. Las mutaciones en BRAF son mutuamente excluyentes con las de EGFR, ALK y RAS. El papel pronóstico de BRAF está aún por definir, pues debe ser validado en estudios prospectivos amplios (215).

- La angiogénesis y la degradación de la membrana basal. La angiogénesis se mide identificando el número de microvasos por técnicas como el anticuerpo monoclonal CD34. Los tumores más vascularizados tienen una importante disminución de supervivencia. Igualmente, aquellos que producen mayor cantidad de proteasas que degradan la matriz mucoproteica son más proclives a la invasión y metastatización (89).

## **1.10. Potenciales marcadores moleculares con papel pronóstico.**

### **1.10.1. El Receptor 9 de la quimioquina CC (CCR9).**

Como ya se ha mencionado con anterioridad, el 85% de los tumores pulmonares pertenecen al grupo de CPNCP. El adenocarcinoma representa el 40% de los CPNCP y tienen un peor pronóstico que la estirpe escamosa (90). Los factores y mecanismos moleculares implicados en la patogénesis del adenocarcinoma y su metastatización siguen siendo desconocidos. Estos procesos comparten características con el tráfico de células inmunes, mediado principalmente por quimioquinas y sus receptores. Es preciso, identificar nuevos biomarcadores moleculares, que permitan descubrir dianas terapéuticas y mejorar la supervivencia.

Las quimioquinas son miembros de la superfamilia de las citoquinas inflamatorias u homeostáticas. Como tales, estimulan la migración de diversos tipos de células. Las quimioquinas y sus siete receptores transmembrana asociados a proteína G, juegan un papel fundamental en procesos inflamatorios y de diferenciación inmune. Se conoce además su asociación con fenómenos de progresión tumoral, angiogénesis y metástasis. Estos receptores se han convertido en potenciales dianas terapéuticas.

CCR9: es el receptor para TECK o CCL25 (una quimioquina timo-expresada), siendo éste su único ligando natural (91). Se expresa en células T y células dendríticas maduras e, interviene en la homeostasis inmune (92, 93). También se ha visto expresado en células tumorales actuando como mediador de la progresión tumoral (94, 95). En pacientes con carcinoma de ovario y mama, la mayor expresión de CCR9 en tejido tumoral se correlaciona con agresividad de la enfermedad, y aquellas células neoplásicas que expresan CCR9 migran e invaden bajo un gradiente quimiotáctico de CCL25, a través de la regulación al alza de MMPs. Estudios ya anteriormente publicados sugieren que la unión CCR9-CCL25 promueve la supervivencia de la célula tumoral y regula al alza la señal antiapoptoica mediada por la vía Pi3K/Akt .

En los últimos años, se ha evaluado el papel de CCR9 en el CPNCP, con evidencias que sugieren que el eje CCR9-CCL25 está también aquí asociado con una mayor agresividad (96), y que podría ser utilizado como un potencial factor pronóstico en CPNCP (97).

Según *Li B., y col.* (98), cuando se inhibe el eje CCR9-CCL25 en células tumorales de CPNCP, se promueve la apoptosis mediada por la vía Pi3K/Akt.

El estudio de *Zhong Y. y cols.* (99), trata de evaluar el significado clínico del eje CCR9-CCL25 en adenocarcinoma de pulmón en pacientes tratados con resección curativa. Trataron de estudiar la relación entre expresión de CCR9 y el pronóstico posoperatorio. Encuentran que la expresión de CCR9 es significativamente elevada en adenocarcinoma de pulmón. Dicha expresión se asocia a factores como el mayor tamaño tumoral, la afectación ganglionar, el estadio clínico mas avanzado y un peor pronóstico. Todo ello concuerda con lo

descrito en la bibliografía sobre CCR9 en otras neoplasias y con los datos publicados por los propios autores con líneas celulares y ensayos *in vitro* (100).

### 1.10.2. El Antígeno tumoral metastásico 3 (MTA3).

La formación de metástasis es un proceso complejo que implica numerosos eventos que incluyen la estimulación o represión de genes de una forma coordinada, resultando en la invasión de células neoplásicas y la separación de sus tumores primarios, la penetración en el torrente sanguíneo y/o linfático, adhesión a localizaciones distantes, extravasación, angiogénesis, evasión de la respuesta antitumoral del huésped y crecimiento en el lugar de la metastatización (102, 103).

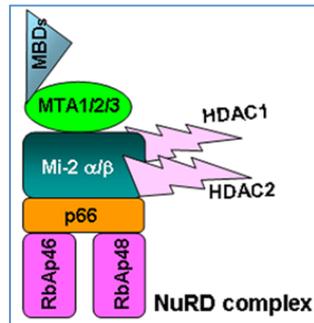
Las proteínas asociadas a metástasis (MTA) son una familia emergente de correguladores de los RN (101). Los receptores nucleares (RN) dependen de moléculas correguladoras (coactivadores o correpresores) para regular la transcripción de genes. Mediante la interacción con los complejos de remodelación del nucleosoma, los coactivadores de los RN potencian la transcripción, mientras que los correpresores inhiben la transcripción de dichos genes.

Los genes MTA pertenecen a una familia de genes con tres componentes principales, codificados en tres *loci* separados (MTA1 en el 14q; MTA2 en el 11q; y MTA3 en el 2q) (101). Las funciones moleculares de la familia MTA han sido un misterio, hasta que el análisis proteómico del complejo desacetilación-remodelación del nucleosoma (NuRD) identificó a las proteínas MTA1 y MTA2 como parte integrante de los complejos histona-desacetilasa (106, 107), lo que dio pistas del papel de los miembros de MTA en la remodelación de la cromatina.

MTA3, el tercer miembro de la familia MTA, se identificó como un producto génico inducible por estrógeno (104), que forma parte del complejo Mi-2/NuRD (Figura 5). Aunque las proteínas MTAs se localizan predominantemente en el núcleo, MTA3 se ha descrito tanto en el núcleo como

en el compartimento citoplasmático (105).

**Figura 5. Representación esquemática de los componentes del complejo NuRD, compuesto por 7 polipéptidos <sup>(107)</sup>.**



El complejo Mi2/NuRD es una estructura única por integrar en un mismo complejo una doble actividad: histona-desacetilasa y ATPasa remodeladora de cromatina. Esto le permite generar nucleosomas hipoacetilados, densamente empaquetados para el silenciamiento génico.

El complejo Mi-2/NuRD que contiene MTA3, influye sobre la expresión de E-cadherina en células de cáncer de mama, mediante la inhibición de *Snail* (represor de la transcripción), quien en ultimo lugar controla la transición epitelio-mesénquima (EMT) (104, 105, 108).

La regulación a la baja de MTA3 conducirá a estimular *Snail*, promover la EMT y las metástasis en cáncer de mama (Figura 6).

La EMT consiste en un rápido y a menudo reversible cambio del fenotipo celular. Durante la EMT, las células pierden o redistribuyen las proteínas epiteliales y adquieren proteínas mesenquimales (109). Esto les confiere la capacidad de atravesar la membrana basal y desarrollarse como células tumorales (110, 111). Es un evento importante para la progresión, invasión y metástasis, que confiere un particular mal pronóstico. *Shi Y. y cols.* (109), han tratado en su estudio de investigar la expresión de proteínas relacionadas con EMT en pacientes con adenocarcinoma de pulmón reseca en estadios iniciales, los cambios producidos en dichas proteínas e investigar su asociación con parámetros clinicopatológicos y el pronóstico en adenocarcinoma de



autores. Los autores sugieren que MTA3 funciona como un oncogen en el desarrollo de cáncer de pulmón.

Teniendo en cuenta los diversos artículos publicados sobre la relevancia clínica de la expresión de MTA3, se puede afirmar que MTA3 es una molécula correguladora fundamental implicada en la carcinogénesis y progresión de diversos tumores malignos. En el estudio de *Zheng S. y cols.* (113), se explora la expresión de MTA3 en carcinoma de pulmón (CPNCP) resecaado y su relación con la supervivencia. Igual que en publicaciones previas encuentran, una mayor expresión de MTA3 en tejido tumoral respecto a tejido sano y, su papel como factor de riesgo de afectación ganglionar y menor supervivencia en CPNCP. Sugieren que MTA3 podría ser un nuevo marcador para identificar pacientes de alto riesgo con carcinoma de pulmón.

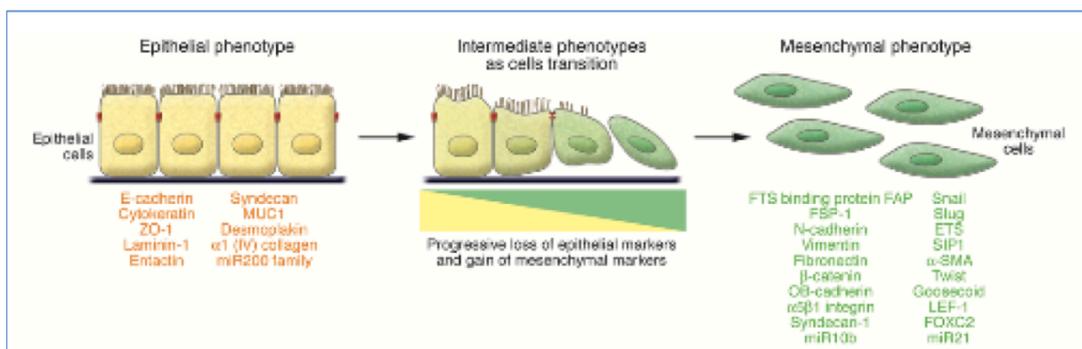
### 1.10.3. E- Cadherina y la transición epitelio-mesénquima.

La EMT es un proceso biológico que permite a la célula epitelial, que normalmente interactúa con la membrana basal a través de su superficie basal, llevar a cabo múltiples cambios bioquímicos que le permiten adquirir capacidad migratoria, invasividad, resistencia a la apoptosis, y una producción elevada de componentes mesenquimales (Figura 7) (114, 115).

Son imprescindibles diversos procesos moleculares para iniciar la EMT y permitirle completarse (114).

Aunque inicialmente se empleó el término “transformación”, posteriormente fue sustituido por el de “transición”, reflejando la reversibilidad del proceso y el hecho de ser distinto al proceso de transformación neoplásica.

Figura 7. Proceso EMT.



Las EMTs se clasifican en tres subgrupos biológicos, basándose en el contexto biológico en el que ocurren (116).

- Tipo 1: Las EMTs que se asocian con implantación, embrioformación y desarrollo de órganos. Se organizan para generar diversos tipos celulares que comparten fenotipos mesenquimales. No cursan con fibrosis ni inducen un fenotipo invasivo capaz de diseminar a través de la circulación sistémica.
- Tipo 2: Las EMTs asociadas al proceso de regeneración tisular, curación de heridas y fibrosis de órganos. Se inician como parte de un evento asociado a la reparación. Están asociadas a inflamación. En el escenario de la fibrosis de órganos, este tipo de EMTs pueden seguir respondiendo al proceso inflamatorio, llegando incluso a la destrucción de órganos.
- Tipo 3: Las EMTs que ocurren en células tumorales que han sufrido previamente cambios genéticos y epigenéticos. Las células tumorales que llevan a cabo las EMTs tipo 3 pueden invadir y metastatizar y generar, en último término, las manifestaciones amenazantes para la vida propias de la progresión tumoral. Este tipo de EMT da lugar a células con propiedades invasoras que les permiten introducirse en el torrente sanguíneo y diseminar hacia otros órganos.

En nuestro trabajo nos centraremos en las EMTs de tipo 3.

Mucho se ha investigado sobre los controles genéticos y los mecanismos bioquímicos que subyacen en la adquisición del fenotipo invasivo y la posterior diseminación sistémica de las células neoplásicas. En muchos de estos estudios, la activación de un programa de EMT se ha propuesto como mecanismo crítico para la adquisición del fenotipo maligno por parte de las células de los tumores epiteliales (117). Son diversos los estudios que han establecido la conexión entre la pérdida de expresión de E-cadherinas por las células tumorales y la EMT (118).

La E-cadherina es un receptor de adhesión célula-célula. Se trata de una glicoproteína transmembrana que se encarga de estabilizar el contacto célula-célula en las células epiteliales. Juega un papel clave en la morfogénesis y adhesividad celular. Dado que la pérdida de cohesividad y conexión son primordiales en la capacidad de invasión tumoral, la infraexpresión o pérdida de E-cadherina puede facilitar la invasión tumoral y su metastatización (119).

La regulación a la baja o la falta de expresión de E-Cadherina como signo de mal pronóstico y su relación con la invasividad y metástasis, se ha podido comprobar en varios tipos tumorales como el cáncer de mama, próstata, esófago, estómago, colon, páncreas o hepatocarcinoma (120, 121).

El control epigenético de la E-cadherina y la actividad b-catenina son necesarios para establecer el potencial metastásico de las células cancerosas. Las líneas celulares que carecen de E-cadherina muestran un aumento de la tumorigenicidad y metástasis cuando se transfieren en ratones inmunodeficientes (122, 123). Existe una relación inversa entre los niveles de E-cadherina y la supervivencia de los pacientes. Este papel central de la pérdida de E-cadherina en los programas de EMT se ve reflejado por la acción de diversos factores de transcripción inductores de EMT como *Snail* y *Slug*. La pérdida de E-cadherina promueve la señalización por la vía Wnt y está asociado con niveles elevados de Snail en los núcleos (124). La expresión de *Snail* y E-cadherina tiene una relación inversamente proporcional con el pronóstico de pacientes con cáncer de mama y carcinomas epidermoides de cavidad oral, entre otros (125). Parece claro que la EMT juega un papel primordial en la adquisición de un fenotipo altamente invasivo con características celulares tipo célula-madre, facilitando la formación de metástasis a distancia, algo que de todos modos aún requiere una demostración directa. En cáncer de pulmón, la expresión de E-cadherina y su relación con la supervivencia u otras características clinicopatológicas, ha tenido hasta la fecha resultados contradictorios.



## 2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---





## 2.1. Justificación Del Estudio.

El Cáncer de pulmón constituye un importante problema de salud pública, por su elevada incidencia y mortalidad. En España, en el año 2014, se diagnosticaron 27.859 nuevos casos. Los datos de mortalidad del año 2012 recogen que 21.511 personas fallecieron por esta neoplasia (5), convirtiéndola en la primera causa de muerte por cáncer en nuestro país.

El 80-85% de los CP corresponden a Cáncer de Pulmón no de célula pequeña (no microcítico, CPNCP). Como subtipo más frecuente, el adenocarcinoma supone un 40% de los casos de CPCNP, y tiene un peor pronóstico que el segundo subtipo en frecuencia, el escamoso (74, 75).

A pesar de los enormes progresos realizados en el diagnóstico y tratamiento quirúrgico de esta neoplasia durante las últimas décadas, la supervivencia global a 5 años por adenocarcinoma de pulmón sigue siendo baja (inferior al 18%) debido fundamentalmente a la recidiva metastásica. Los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis del adenocarcinoma pulmonar y sus metástasis no son del todo conocidos. Es por tanto necesario identificar nuevos biomarcadores moleculares que puedan ayudar a proporcionar dianas terapéuticas y mejorar la supervivencia de estos pacientes.

El Servicio de Cirugía Torácica del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA) es la unidad de referencia de la provincia de Alicante para la resección de tumores de pulmón. A pesar de disponer de una base de datos en Anatomía Patológica con los diagnósticos de carcinoma de pulmón y de los formularios con los que se presenta cada caso al comité (datos demográficos, estadificación inicial y propuesta terapéutica inicial), no disponemos aún de una base de datos actualizada y unificada que permita monitorizar un seguimiento de los resultados en términos de supervivencia, así como analizar el impacto de los factores de riesgo y los factores pronósticos en nuestra población.

La realización de este estudio se justifica por dos motivos fundamentales:

- Conocer las características clinicopatológicas de los pacientes sometidos a cirugía de un adenocarcinoma de pulmón en estadio inicial en el HGUA.
- Analizar la expresión de dos marcadores moleculares emergentes, como son CCR9 y MTA3, y de otro marcador más establecido como es E-

cadherina, en las muestras de adenocarcinoma de pulmón resecado en estadios iniciales en este centro, para determinar si existen categorías pronósticas en función de parámetros no incluidos en el sistema de estadificación TNM para el adenocarcinoma de pulmón.

## **2.2. Hipótesis.**

### **2.2.1. Hipótesis principal:**

La expresión de CCR9, MTA3 y/o E-cadherina es un factor pronóstico independiente de supervivencia en pacientes con adenocarcinoma de pulmón resecado en estadios iniciales.

### **2.2.2. Hipótesis secundarias:**

- Existe una relación directa entre la expresión de CCR9 y/o MTA3 en muestras de adenocarcinoma de pulmón resecado y un mayor riesgo de recaída y/o muerte por esta neoplasia.
- Existe una relación inversamente proporcional entre la expresión de E-cadherina en muestras de adenocarcinoma de pulmón resecado y el riesgo de muerte por esta neoplasia.
- La expresión de dichos marcadores guarda relación con las características clínico-patológicas de los pacientes.
- La expresión de CCR9, MTA3 y/o E-cadherina es complementaria al sistema de estadificación TNM como factores pronósticos para la selección de pacientes que pueden beneficiarse de un tratamiento posterior a la cirugía.

## **2.3. Objetivos.**

### **2.3.1. Objetivo principal:**

- Analizar la expresión de CCR, MTA3 y E-cadherina en muestras de adenocarcinoma de pulmón resecado por el S. Cirugía Torácica del HGUA en estadios iniciales en el período que va desde el 1 de enero de 2003 hasta el 31 de diciembre de 2012.

**2.3.2. Objetivos secundarios:**

- Definir las características de la población con Adenocarcinoma de pulmón resecaado en estadio inicial en el área del HGUA.
- Valorar la relación entre la expresión de CCR9, MTA3 y/o E-cadherina con características clinicopatológicas.
- Evaluar la relación entre la expresión de CCR9, la expresión de MAT3 y la expresión de E-cadherina y el pronóstico posoperatorio en términos de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.





### 3.- MATERIAL Y MÉTODOS

---





### 3.1. Población de estudio.

El Departamento de Salud Alicante-Hospital General pertenece a la Consellería de Sanitat Universal i Salut Pública de la Generalitat Valenciana. Atiende sanitariamente de forma integral a la población de los municipios del Departamento (Alicante, Agost, Monforte del Cid y San Vicent del Raspeig) y además proporciona servicios de nivel especializado como centro de referencia interdepartamental, provincial e incluso autonómica y nacional. La población adscrita a este Departamento es de 268.343 personas, según datos del SIP del año 2012.

En el área de atención especializada cuenta con 825 camas y 24 quirófanos, entre otros recursos.

El servicio de Cirugía Torácica del HGUA es la unidad de referencia provincial para la patología relativa a dicha especialidad, la cual incluye el tratamiento del cáncer de pulmón. Actualmente, tras la inauguración de hospitales bajo el modelo de concesión administrativa, continúa siendo referente y atendiendo a los pacientes de los departamentos de Alcoy, Marina Baixa, Elda, Alicante-Sant Joan, Alicante-Hospital General, Elche-Hospital General y Orihuela. Sumando los pacientes referidos por estos Departamentos, la población atendida por este servicio alcanzaría los 1.943.910 pacientes potenciales.

El comité multidisciplinar de tumores de pulmón y tórax está integrado por los servicios de Cirugía Torácica, Neumología, Anatomía Patológica, Radiodiagnóstico, Oncología Médica y Medicina Interna. Se reúne con periodicidad semanal y es en él donde se realiza la valoración inicial de los casos sospechosos de neoplasia de pulmón y donde se toman las primeras decisiones sobre si existe o no indicación quirúrgica. Será en dicho centro donde se llevará a cabo la intervención quirúrgica.

La población de este estudio fue por tanto, aquella que con diagnóstico de Adenocarcinoma de pulmón cumplió los siguientes criterios de selección:

#### 3.1.1. Criterios de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico histológico confirmado tras intervención quirúrgica de adenocarcinoma broncopulmonar. Los casos se diagnosticaron siguiendo

los criterios vigentes en el momento del diagnóstico (OMS 2004) y aplicando criterios establecidos en la 7ª ed. TNM (47).

- Ausencia de enfermedad ganglionar (cN0) ni a distancia (cM0) en el momento del diagnóstico ni tras su estadificación de pieza quirúrgica (pN0).
- Pacientes intervenidos quirúrgicamente en el HGUA mediante resección pulmonar (lobectomía, neumonectomía, segmentectomía anatómica, resección en cuña, resección en manguito) más linfadenectomía hiliar y/o mediastínica sistemática según recomendaciones IASLC/UICC entre Enero de 2003 y Diciembre de 2012.
- Pacientes con seguimiento mínimo de 24 meses tras la cirugía (salvo en los casos de fallecimiento previo a esta fecha).

### **3.1.2. Criterios de exclusión:**

- Histología distinta a la de adenocarcinoma de pulmón.
- Pacientes en los que no se haya podido obtener material histológico de las piezas de resección adecuado para análisis (se solicitó informe de disponibilidad de muestras al Biobanco del HGUA).
- Pacientes menores de 18 años.
- Haber recibido tratamiento antineoplásico (radioterapia, quimioterapia, terapia biológica o inmunoterapia) previo a la cirugía.
- Sospecha o evidencia de enfermedad residual micro o macroscópica tras la cirugía (resección R1 y R2).
- Fallecimiento en los 30 días posteriores a la intervención por complicaciones posoperatorias.

El periodo de referencia del estudio fue de 13 años y 6 meses, estando comprendido entre el 31/01/2003 (fecha de cirugía del primer paciente incluido) y el 31/07/2016 (fecha del último seguimiento incluido).

### 3.2. Diseño de estudio.

#### 3.2.1. Tipo de estudio:

Es un estudio observacional, analítico, unicéntrico, de cohorte retrospectivo de los pacientes con diagnóstico histológico confirmado de adenocarcinoma de pulmón en estadio inicial resecado por el S. Cirugía Torácica del HGUA en el período comprendido entre 01 de enero de 2003 y 31 de diciembre de 2012.

#### 3.2.2. Fuentes de datos:

Los datos de la cohorte del estudio se extrajeron de la revisión de la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del HGUA (PatWin®), obteniendo el NHC de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de pulmón. En esta base estaban recogidos los datos básicos de filiación, algunas variables clínicas y datos del estudio patológico de las muestras. Posteriormente se revisó la historia clínica de archivo y la informatizada (sistema de información ambulatoria- SIA.REAL.exe 2.0; alta hospitalaria- MIZAR v. julio 2015; ORION.Clinic v.noviembre 2016) para completar los datos clínicos y epidemiológicos.

Cada paciente sólo se ha incluido una vez, aunque haya una biopsia anterior o posterior con diagnóstico de adenocarcinoma de pulmón, ya sea por un segundo tumor primario o una recaída del previo.

Los datos se consignaron sobre un cuaderno de recogida de datos (CRD) diseñado para este propósito (Anexo IV) y posteriormente en archivo en formato Microsoft Access®. Para anonimizar los datos, a cada caso se le asignó un número de referencia y, tras revisar las historias clínica y recoger las variables descriptivas, se eliminaron los datos identificativos (nombre, apellidos y número de historia).

Las variables se revisaron con periodicidad anual de forma sistemática para minimizar errores y están actualizadas a 31/07/2016, siendo ésta la fecha del último seguimiento incluido.

### 3.2.3. Tamaño muestral y tipo de muestreo:

Respecto a la selección de sujetos, se incluyeron todos aquellos pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, de forma consecutiva, no aleatoria, en base a la fecha de cirugía, sin aplicar ningún procedimiento de muestreo.

La muestra definitiva está constituida por 112 pacientes.

### 3.3. Variables.

Se diseñó un protocolo en el que se recogieron las siguientes variables:

#### 3.3.1. Variables clínicas (en base al protocolo de recogida de datos de la STS) (126):

- **Código identificativo:** Se asignó a cada sujeto un código numérico consecutivo (de 0 a 112) siendo el sujeto 0 el primer paciente intervenido de adenocarcinoma de pulmón durante el período en estudio, y el sujeto 112 el último paciente intervenido durante dicho período. Estos códigos permanecen anonimizados con el fin de no poder identificar a ningún paciente del estudio.
- **Edad:** expresada en años la edad del paciente en el momento del diagnóstico. Los datos se recogieron de manera cuantitativa para obtener mediana y rango intercuantil (IQR). Con objeto de estudiar la edad como factor pronóstico se categorizó en dos grupos (menor o igual a 70 años vs mayores de 70 años), en base a la edad media al diagnóstico de una neoplasia bronquial y a la esperanza de vida en España según datos del Instituto Nacional de Estadística de 2014 (210).
- **Género:** sexo del paciente.
- **Tabaco:** se recogió la exposición de primera mano al tabaco, en forma de variable dicotómica cualitativa: nunca fumador (codificado como 0) o fumador (codificado como 1). El término “nunca fumador” se definió como la no exposición al tabaco o una exposición inferior a 100 cigarrillos a lo largo de la vida (<5años/paquete) (141).
- **Intensidad de hábito tabáquico:** expresado en años/paquete (se calcula

multiplicando el número de paquetes de cigarrillos fumados al día por el número de años durante los que la persona ha fumado) (127).

- **Fecha de la cirugía:** fecha de realización de la cirugía pulmonar con intención curativa, expresada como día/mes/año.
- **Tipo de cirugía:** tipo de resección quirúrgica realizada, recogida en cinco categorías. Para su análisis estadístico se comparó la neumonectomía frente al resto de resecciones agrupadas, por el papel pronóstico adverso ya establecido para la neumonectomía.
- **Lado:** especificando sobre cuál de los dos pulmones se ha llevado a cabo la cirugía.
- **Lóbulo:** indica la localización del tumor según parámetros anatómicos.
- **Recidiva:** especificando si ha existido o no recaída del tumor.
- **Fecha de la recidiva:** expresada como día/mes/año la fecha en la que se diagnostica una recaída de enfermedad tras tratamiento radical.
- **Tipo de recidiva:** especificando la localización de la misma. Posteriormente, se agrupó en dos categorías para su comparación: recidiva locorregional vs a distancia.
- **Supervivencia libre de enfermedad (SLE):** tiempo expresado en meses que transcurre desde el tratamiento radical del cáncer hasta la recaída (sea adenocarcinoma de pulmón o segundo primario) o último seguimiento o éxitus por cualquier causa.
- **Estado del paciente:** Situación del paciente en el momento del último seguimiento.
- **Fecha de último seguimiento:** expresada como día/mes/año la fecha de la última revisión realizada al paciente.
- **Exitus:** Indica si ha existido fallecimiento posterior a la cirugía durante el periodo de seguimiento, y se valora en la fecha del último seguimiento (vivo, *exitus*). Dado que se ha realizado estricto análisis del seguimiento de los pacientes, mediante la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global pueden estimarse también los *exitus* por la enfermedad, y aquellos por otras causas.
- **Fecha *exitus*:** fecha de fallecimiento del paciente (día/mes/año).

- **Supervivencia global (SG):** tiempo expresado en meses que transcurre desde la fecha de la cirugía con intención curativa del cáncer hasta la fecha de último seguimiento o *exitus* por cualquier causa.

### 3.3.2. Variables morfológicas:

- **Tamaño tumoral:** expresado en centímetros, cuantificación del tamaño del componente infiltrante mediante microscopía óptica.
- **Tipo histológico:** se revisaron para cada caso, las preparaciones teñidas con H&E, seleccionando aquellos con presencia de tumor. Mediante microscopía óptica, cada caso fue revisado por dos patólogos de forma independiente. De cada caso se revisaron 4 preparaciones histológicas, confirmando que cumplían criterios diagnósticos de adenocarcinoma según OMS 2015 (“carcinomas con diferenciación glandular y/o secreción de mucina”) (46). En aquellos casos en los que fue posible, se aplicaron las recomendaciones de la IASLC/ATS/ERS para su subclasificación.
- **Invasión pleural:** valoración con H&E. En casos dudosos, se emplearon técnicas histoquímicas (orceína de Van Gieson).
- **Grado histológico:** según subtipos histológicos (características arquitecturales) (Tabla 4).

**Tabla 4. Clasificación de los adenocarcinomas según grado de diferenciación por tipos histológicos.**

Grado	Diferenciación	Patrón de crecimiento
1	Bien diferenciado	ACA in-situ(*), mínimamente invasivo (*) o predominantemente lepidico.
2	Moderadamente diferenciado	Acinar o papilar.
3	Mal diferenciado	Sólido o micropapilar.

(\*) Excluidos del estudio

- **Grado nuclear:** evaluación del tamaño y forma del núcleo en las células tumorales (Tabla 5).

Tabla 5. Clasificación según el grado nuclear.

Grado	Características nucleares
1 (Bajo)	Núcleos con tamaño uniforme, con nucleolos uniformes y baja actividad mitótica
2 (Intermedio)	Mayor pleomorfismo nuclear y anisonucleosis
3 (Alto)	Gran pleomorfismo nuclear y nucléolos gigantes

- **Número total de ganglios:** contaje absoluto del número de ganglios resecaados en la linfadenectomía.
- **pN:** afectación ganglionar regional.
- **Estadio patológico:** se revisó la estadificación de cada uno de los pacientes de acuerdo con los criterios de la 7<sup>a</sup> edición TNM (AJCC 2010) (47). Se incluyeron los estadios desde IA hasta IIB (descartando aquellos IIB con afectación ganglionar).
- **Actividad proliferativa:** valorada en H&E mediante cuantificación de mitosis en al menos 10 campos de gran aumento (en secciones completas) y con técnicas IHQ cuantificando la expresión de Ki-67. Variable con capacidad pronóstica.

### 3.3.3. Variables inmunohistoquímicas: (Tabla 6)

- **Marcadores de proliferación celular:** cuantificación de la expresión nuclear de Ki-67 por las células neoplásicas, con independencia de su intensidad.
- Determinación mediante IHQ de la expresión nuclear de **MTA3** en las células neoplásicas.
- Determinación mediante IHQ de la expresión de **CCR9** en las células neoplásicas.

La evaluación de la expresión IHQ de CCR9 fue desestimada al no ser posible la obtención de resultados fiables en el proceso de puesta a punto

del anticuerpo. Se ajustó el procedimiento siguiendo las referencias obtenidas en la literatura, así como mediante pruebas con diferentes niveles de dilución del anticuerpo y cambios en el pH y tiempos buscando una mejor recuperación antigénica.

De acuerdo con los dos directores del proyecto de tesis doctoral y, tras una exhaustiva revisión de la bibliografía existente, se decidió añadir una nueva co-variable:

- Determinación mediante IHQ de la expresión de **E-cadherina** en muestras de adenocarcinoma pulmonar resecado.

**Tabla 6. Panel de Anticuerpos y controles empleados.**

Anticuerpo	Clon	Dilución	Casa comercial
<b>Ki67</b>	MIB1 Monoclonal murino	1:50	Dako
<b>MTA3</b>	MTA3 (Y-20): sc-28170	1:50	Santa Cruz Biotechnology
<b>CCR9</b>	Anti-CCR9 antibody ab1662 (policlonal)	1:50-1:500	Abcam
<b>E-cadherina</b>	NCH-38	Prediluido	Dako

### 3.4. Construcción de las matrices de tejido (TMAs).

En primer lugar, un patólogo identificó sobre las preparaciones ya teñidas con H&E un área con representatividad tumoral, y se marcaron con un círculo con rotulador hidrófobo. Posteriormente, se identificó cada zona seleccionada en el bloque de parafina correspondiente y se construyeron las matrices de tejido (TMAs, por sus siglas en inglés, *Tissue Microarrays*) (Figura 8). A su vez el número de cada caso fue incorporado a una tabla Excel por TMA, editada para la obtención de resultados de cada anticuerpo.

Figura 8. Construcción de TMAs



Los TMAs permiten estudiar de forma simultánea aproximadamente 40 casos (2 cilindros por caso más controles), minimizando el número de secciones y el coste en reactivos y proporcionando una reacción inmunohistoquímica uniforme a todos los casos incluidos (128). Para su construcción en nuestro estudio, se tomaron dos cilindros de tejido parafinado de cada tumor, cada uno de 1 mm de diámetro, que fueron llevados a un bloque receptor utilizando un equipo de construcción de matrices de tejido (Beecher instruments). Cada bloque incluyó un total de 20 casos (2 cilindros por caso) más 2 controles. Se construyeron un total de 9 bloques de matrices.

Posteriormente se realizaron secciones de 4 micrometros de espesor a cada bloque de TMA que fueron teñidas en el plazo de 24 - 48 horas para evitar pérdidas de inmunoreactividad.

Metodológicamente, el uso de TMAs es una técnica conveniente para el estudio de numerosos casos; confirmamos la validez de la técnica realizando tinciones para cada anticuerpo en secciones completas de tejido, verificando la tinción homogénea que permitiera establecer una adecuada comparación con el correspondiente TMA (129, 130).

### 3.5. Aplicación de técnicas inmunohistoquímicas

Las técnicas inmunohistoquímicas fueron realizadas sobre cortes de los TMA, de forma automatizada con equipo Autostainer Link48 (Dako), con sistema de visualización de alta sensibilidad Envision® (Dako). Se utilizó el panel de anticuerpos mencionado antes (apartado de “Variables

inmunohistoquímicas” – Tabla 6). Se consultaron bases de datos de expresión tisular para optimizar los anticuerpos utilizando controles positivos y negativos.

Los cortes de tejido fueron desparafinados mediante incubación en xilol y rehidratados mediante soluciones descendentes de etanol y agua. La recuperación antigénica se realizó con el equipo PT-Link tratando las secciones con “target retrieval solution Envisión Flex”, con pH alto (9,0). Los anticuerpos primarios fueron incubados en el Autostainer durante tiempos que oscilaron entre 20 y 30 minutos, dependiendo del ajuste de los anticuerpos.

### 3.6. Valoración de inmunohistoquímica.

La valoración de cada anticuerpo se realizó en microscopio óptico de multiobservación, cuantificando la totalidad de las células incluidas en la sección del cilindro (superficie 0,785 mm<sup>2</sup> por sección) por dos observadores de forma independiente.

De manera paralela, se incluyeron cortes de tejido como controles positivos para cada anticuerpo (Tabla 7) (seleccionados según la literatura y la hoja de producto correspondiente).

Tabla 7. Controles empleados y patrón de tinción en tejido control.

Anticuerpo	Tejido control	Patrón de expresión
<b>Ki67</b>	Amígdala	Tinción nuclear especialmente en centros germinales y capa basal del epitelio
<b>CCR9</b>	Ganglio linfático	Citoplasma linfocitos
<b>MTA3</b>	Ca. Mama	Tinción nuclear exclusiva de células epiteliales
<b>E-cadherina</b>	Ca ductal mama	Tinción de membrana

### 3.6.1. Valoración de marcadores MTA3 y E-cadherina.

- Valoración de la tinción: una vez revisada la literatura y conocido el patrón de tinción esperado, se procedió a la valoración de cada TMA.

MTA3: tinción nuclear.

E-cadherina: tinción de membrana.

Intensidad de expresión: valorada inicialmente a bajo aumento y posteriormente, con aumento de 400x, dividiéndola en 4 grupos:

0 = Ausencia total de expresión

+ = Expresión leve

++ = Expresión moderada

+++ = Expresión intensa

Se excluyó del análisis la tinción en estroma, macrófagos y celularidad inflamatoria, valorando únicamente la observada en células neoplásicas. Se procedió al análisis de frecuencias de los datos brutos y al cálculo de la mediana. De forma paralela se construyó un *score* combinando intensidad y porcentaje de células positivas. En ambos casos se usó el mismo histo-score (HS), con una puntuación máxima de 12 puntos: para la intensidad se asignaron los valores 0 (ausencia de tinción), 1 (leve), 2 (moderada) y 3 (alta); el porcentaje de células teñidas se categorizó en 1 (menos de 25% de células teñidas), 2 (26-50% de células que tiñen), 3 (51-75% de células que tiñen) y 4 (mas de 75% de células teñidas) (Figuras 9 y 10).

- Cuantificación de células tumorales positivas: mediante la media observada por dos observadores, expresada en porcentaje y, reevaluando aquellos casos con una discrepancia entre observadores mayor del 10%.
- Elección de un punto de corte: no existe un valor universalmente aceptado para el estudio IHQ de MTA3 ni de E-cadherina. Se revisó la literatura al respecto, encontrando mayoritariamente que se emplean técnicas semicuantitativas con la elaboración de un histo-score que combina intensidad de tinción y porcentaje de células teñidas (Porcentaje de células x intensidad, rango de 0-12).

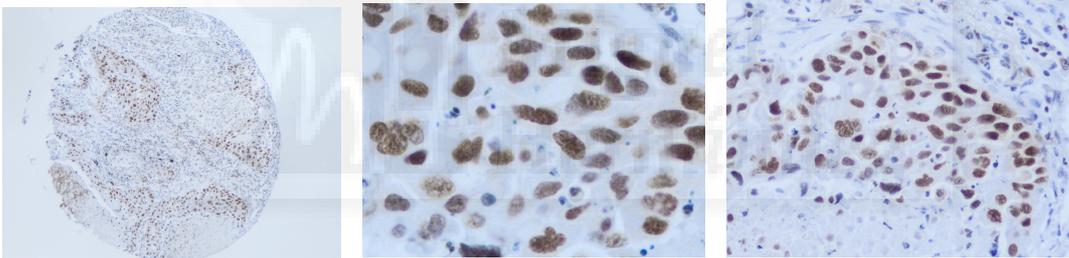
El análisis preliminar mostró que la construcción de un score combinando no mejoraba los datos de correlación, ni para MTA3 ni en el caso de E-cadherina.

Para MTA3, conforme a los datos publicados hasta el momento, se catalogaron como positivas todas aquellas muestras con expresión de MTA3 por IHQ, independientemente de su intensidad (+, ++, +++).

Para E-cadherina, de acuerdo con la literatura publicada en cáncer de pulmón, se consideraron los casos como positivos cuando se observó una elevada intensidad de tinción (++ y +++) y negativos cuando esta intensidad era baja (+) o no se observaba tinción (0).

**Figura 9. Tinción inmunohistoquímica de MTA3 en secciones de adenocarcinoma de pulmón del estudio.**

Fig. 9.1. Tinción inmunohistoquímica de MTA3 con áreas de distinta intensidad de tinción (a); imagen ampliada de área tumoral con intensidad de tinción 3+ (b y c).



(De izquierda a derecha: a, b, c)

Fig. 9.2. Tinción IHQ de MTA3 con intensidad 2+ en el 80% de las células tumorales (de menor a mayor aumento).

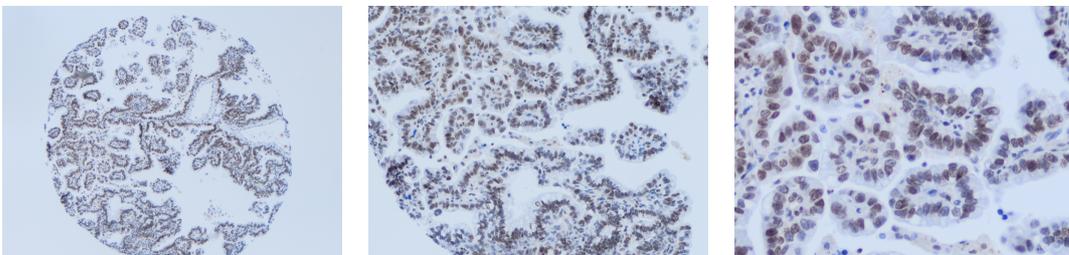
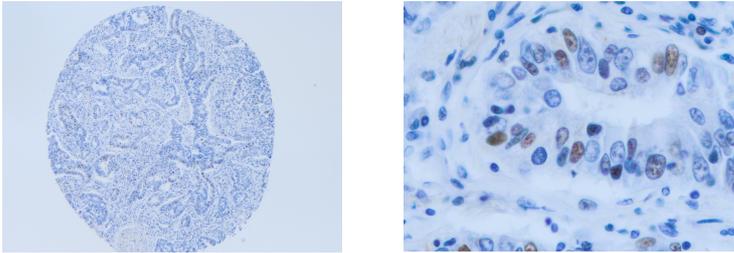
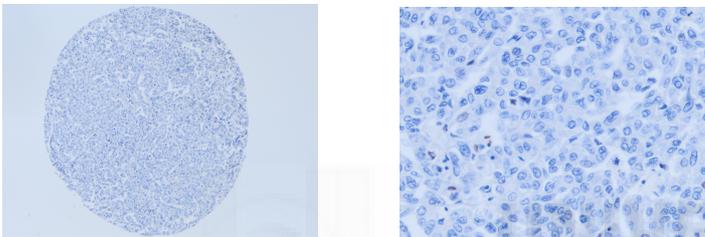


Fig. 9.3. Tinción IHQ de MTA3 con intensidad 1+ en el 1% de las células (a) y 2+ en el 7% de las células tumorales (b).



De izquierda a derecha: a, b.

Fig. 9.4. Tinción IHQ de MTA3 con ausencia de tinción (0).



**Figura 10. Tinción inmunohistoquímica de E-cadherina en secciones de adenocarcinoma de pulmón del estudio.**

Fig. 10.1- Imagen representativa de E-cadherina con intensidad de tinción alta (3+) en el 100% de células tumorales (de menor a mayor aumento).

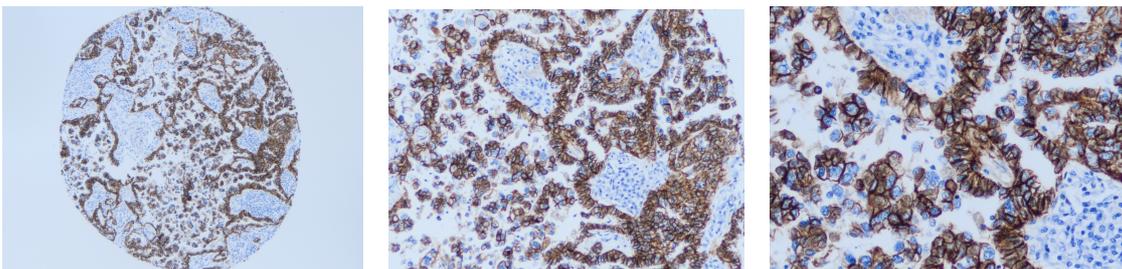


Fig. 10.2. Tinción IHQ de E-cadherina con intensidad de tinción moderada (2+) en las células tumorales (de menor a mayor aumento).

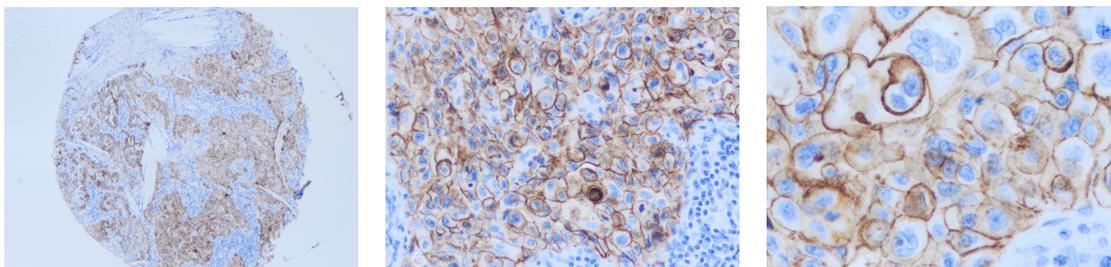
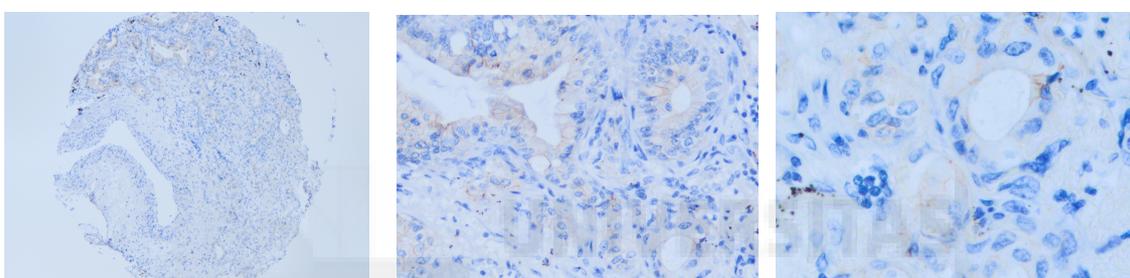


Fig. 10.3. Tinción IHQ de E-cadherina con baja intensidad (1+) en el 20% de células tumorales (de menor a mayor aumento).



### 3.6.2. Valoración de marcadores de proliferación celular (Ki-67):

Ki-67 es una proteína nuclear de unión al DNA. Es, por sí mismo, un marcador de proliferación celular (171). Se revisó la literatura al respecto del punto de corte para Ki-67 en CPNCP, encontrando una alta variabilidad y no existiendo un punto de corte definido, oscilando en la mayoría de estudios entre 25-30% (175). Se seleccionó 30% como el corte con mayor capacidad discriminadora, tras comprobar su concordancia con la cuantificación de mitosis. Se procedió a su valoración en al menos 400 núcleos en TMAs, evitando las áreas con elevada concentración de células positivas (hot spots).

## 3.7. Análisis de datos.

### 3.7.1. Estudio descriptivo:

El análisis se ha realizado en la muestra completa. La evaluación de la distribución de datos se realizó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

- En las variables cualitativas: se ha realizado el cálculo de frecuencias y porcentajes.
- En las variables cuantitativas: se calcularon medias, desviaciones estándar o típicas, valores máximos y mínimos. En los casos en los que las variables presentaban desviaciones elevadas, se incluyeron otras medidas de tendencia central como medianas y sus respectivos IQR.
- Se han calculado intervalos de confianza del 95% tanto para medias como para proporciones.

### 3.7.2. Estudio inferencial:

Se realizó un análisis bivalente para la comparación entre variables, considerando estadísticamente significativo si  $p < 0,05$ . Para las comparaciones múltiples se aplicaron las correcciones tipo Bonferroni.

#### 3.7.2.1. Variables que siguen la distribución normal:

\* Si una variable es de tipo cuantitativo y la otra categórica:

- en el caso de variable dicotómica, para la comparación de las medias se empleó la prueba estadística t de Student.
- cuando la variable cualitativa tenía más de 2 categorías, se utilizó el análisis de la varianza de una vía (ANOVA).
- Con la prueba de Levene, se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianzas (homocedasticidad). Cuando se ha podido asumir que las varianzas poblacionales eran iguales se ha utilizado el estadístico T de Student y F de la ANOVA en cada caso, con un nivel de significación de  $p < 0,05$ . Cuando no se ha podido asumir que las varianzas poblacionales eran iguales se ha utilizado el estadístico T de Student y el estadístico Brown- Forsythe o el estadístico de Welch (que se distribuyen según el modelo de probabilidad F, pero con los grados de libertad corregidos).

### 3.7.2.2. Variables que no siguen la distribución normal:

\* Si una variable es cuantitativa y la otra cualitativa:

- Si la variable cualitativa tiene dos niveles, se aplicó el test de la U de Mann-Whitney,
- Si la variable cualitativa tiene 3 o más niveles, se empleó el test de Kruskal-Wallis.

\* Si ambas variables son de tipo categórico:

- se realizaron tablas de contingencia (una tabulación cruzada) usando el estadístico chi-cuadrado de Pearson de dos colas para contrastar la hipótesis de independencia (en tablas  $r \times s$ ) o el test de Fisher (en tablas  $2 \times 2$ ).

### 3.7.3. Análisis de supervivencia.

Mediante el método de Kaplan Meier se calcularon las tasas de supervivencia observadas en el estudio. Utilizando un análisis de regresión de riesgos proporcionales de Cox se llevó a cabo el análisis univariado y multivariado. Considerando las diferencias estadísticamente significativas para valores de  $p < 0,05$ . Para nuestro análisis multivariante se aplicó el modelo de regresión de Cox con las variables que presentaron en el análisis univariante una  $p < 0,1$ .

Regresión logística: Si la variable dependiente es dicotómica y la/s variable/s independiente/s son categóricas o continuas se aplica la regresión logística binaria bajo el procedimiento de estimación máximo-verosímil, presentando las Odd Ratio y su IC al 95%. Las diferencias se suponen estadísticamente significativas para valores de  $p < 0,05$ .

El análisis de datos se realizó con el paquete estadístico IBM-SPSS para iOS v.22.

### 3.8. Control de calidad en los datos recogidos.

Se evaluó la validez interna y externa del estudio.

Los datos extraídos de las historias clínicas se recogieron sobre un Cuaderno de Recogida de Datos (CRD), que contenía precodificadas las variables del estudio. Se asignó de forma consecutiva un número de caso a cada paciente evaluado.

Se llevó a cabo:

- Control del CRD, mediante revisión y corrección de errores.
- Control de la información obtenida realizada previa al análisis estadístico de los datos cuantitativos. El tratamiento de los datos obtenidos implicó cuatro fases:
  - 1.- Introducción de datos en el ordenador.
  - 2.- Depuración de los datos.
  - 3.- Transformación de los datos.
  - 4.- Análisis exploratorio o análisis preliminar de los datos.

1.- **Fase de introducción** de datos: implicó pasar del dato bruto al dato codificado e introducido en el ordenador manualmente mediante el teclado. Por dato bruto se entiende el dato procedente del CRD de cada paciente, que posteriormente se codificó (asignación de números a los distintos valores o categorías de las variables). La introducción de los datos codificados para su almacenamiento en una base de datos informatizada se realizó a través del programa estadístico SPSS 22 (IBM SPSS Statistics v.22, mac. Chicago: SPSS Inc.) La introducción de los datos fue protegida para disminuir los errores de grabación.

2.- **Depuración de datos:** detección y corrección de errores que se pudieran haber cometido en la fase anterior, además de comprobar la calidad de los datos. Se hizo una estimación de todos los posibles errores

que podía tener la matriz de datos, basándose en una muestra.

3.- **Transformación de los datos:** recodificación, transposición, cálculo de nuevas variables, etc.

4.- **Análisis exploratorio o análisis preliminar de datos.** Esta exploración inicial se realizó con el propósito de detectar casos aislados y observaciones atípicas (outliers), para analizar los datos perdidos (missing) y para la comprobación de determinados supuestos requeridos en la aplicación de gran parte de los Test que se emplearon en el análisis estadístico.

- **Casos aislados** (outliers y extremos): son observaciones con valores extremos en una variable. La existencia de casos aislados se detectó mediante gráficos de Caja o Boxplot. Tras comprobar que no constituían realmente ningún error de introducción de datos o de codificación, y dado que su presencia podía llevar a cometer graves errores de interpretación de la información, se decidió acudir a estadísticos y contrastes distintos de los habituales. A la hora de informar de los datos se han incluido aquellos estadísticos estimadores que menos dependen o que son menos sensibles a la presencia de este tipo de casos como son los estimadores robustos.
- **Datos perdidos** (missing): variables en las que faltan sus valores o bien su codificación es confusa, en estos casos se dice que estas variables contienen valores perdidos. Es importante tener en consideración estos datos pues pueden afectar a la generalización de los resultados encontrados. Por otra parte es posible que la información que falte no se distribuya de manera aleatoria, sino sistemáticamente, por lo que sería un error dejarlos fuera del análisis. Para la identificación de los datos perdidos se utilizó la macro ¡ExaReg para SPSS con la que se obtuvo la descripción de las variables una vez eliminados los sujetos con algún valor desconocido, la distribución de frecuencias del número de valores desconocidos por caso y un listado de casos con algún valor desconocido.

### 3.9. Dificultades y limitaciones del estudio.

Para la obtención de datos clínicos, la principal fuente de información del estudio fue la historia clínica. Extraer esta información es una parte complicada y difícil dentro de la investigación clínico-epidemiológica, que requiere a menudo, valoraciones subjetivas por parte del revisor. Para realizar esta tarea se utilizó un CRD diseñado a tal efecto que permitió recoger la información de una forma ordenada, secuencial y lógica, minimizando la pérdida de información por parte del revisor.

Dos de los marcadores que se pretendía evaluar en este estudio (CCR9 y MTA3) son de aplicación exclusiva en investigación, por lo que su utilización en la práctica clínica no está estandarizada. Uno de los anticuerpos (CCR9) fue desechado por las razones previamente indicadas.

En base al papel que juega MTA3 en el proceso de metastatización, se decidió buscar un marcador biológico alternativo, también implicado en este proceso, como es E-cadherina. Siendo menor la dificultad para su disponibilidad y mayor su nivel de fiabilidad de resultados.

### 3.10. Financiación y medios.

Los casos incluidos en este estudio forman parte de la colección de tumores pulmonares del HGUA. Se solicitó informe de disponibilidad al Biobanco del HGUA, que aceptó la cesión del material y se solicitó la aprobación del Comité de Ética del HGU. Elda.

Para financiar los gastos asociados a este proyecto (Tabla 8) se contó con financiación del Grupo de Investigación y Divulgación Oncológica (GIDO) de la C. Valenciana, a través de una BECA de investigación 2016 con una dotación final de 3.000€.

En el Servicio de A. Patológica del HGUA se llevó a cabo el análisis IHQ. Dicho servicio cuenta con la infraestructura y equipamiento necesarios: micrótomos, inmunoteñidores automáticos, equipos de microscopía multiobservación y digitalización de imagen y Tissue micro-arrayer.

Tabla 8. Gastos asociados al proyecto

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTE/UNIDAD	Tarifa	TOTAL
<p><b>Descripción de la colaboración:</b> Construcción de 2 TMAs y realización de 2 tinciones inmunohistoquímicas (MTA3, e-cadherina) sobre 9 TMAs (los 2 nuevos más 7 disponibles por proyectos anteriores). Además se factura la compra y optimización de los 3 anticuerpos nuevos (MTA policlonal, MTA monoclonal y CCR-9), aunque finalmente el trabajo se realiza únicamente con el MTA3 428.</p> <p><b>1 TSAP asignado para la realización del trabajo:</b>  <b>Tipo de colaboración del Facultativo:</b> equipo investigador (FI Aranda)</p>				
Optimización anticuerpos nuevos	3	67,01 €	A	<b>201,03 €</b>
Construcción TMA	2	134,77 €	A	<b>269,53 €</b>
Tinción IHQ automatizada	18	26,31 €	A	<b>473,56 €</b>
Anticuerpo monoclonal MTA3	1	285,00 €	A	<b>285,00 €</b>
Anticuerpo policlonal MTA3	1	299,00 €	A	<b>299,00 €</b>
Anticuerpo CCR-9	1	350,00 €	A	<b>350,00 €</b>
Costes gestión (15%)				<b>281,72 €</b>
Total neto				<b>2.159,84 €</b>
Base imponible I.V.A. (21%)				<b>453,57 €</b>
<b>TOTAL</b>				<b>2.613,40 €</b>

- Análisis estadístico: 185 €.

Título / Title: BIOBANCOS HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE			
Concepto / Description	Importe / Total Value €		
<p>Suministro de material biológico para la ejecución del proyecto:  Análisis de la expresión de CCR9 y MAT3 y su posible papel como factores pronósticos en adenocarcinoma de pulmón resecaado. (Informe de entrega 15-33)</p>			
3 cortes de 7 TMAs en porta de inmunohistoquímica	68,46		
76 Punch tejido tumoral fijado (*se aplica descuento 35%)	118,07		
Gastos de gestión (15%)	27,98		
<p><i>Artº.20.Uno.4º de la Ley 37/1992 del Impuesto Valor Añadido. Exenciones en las entregas de sangre, plasma sanguíneo y demás fluidos, tejidos y otros elementos del cuerpo humano efectuadas para fines médicos o de investigación o para su procesamiento con idénticos fines</i></p>			
<b>Base imponible / Subtotal</b>	<b>% IVA % VAT</b>	<b>Cuota IVA Amount of VAT</b>	<b>Total factura / Total Due</b>
186,53 27,98	0,00 21,00	0,00 5,88	<b>220,39 €</b>

TOTAL GASTOS = 3.018,79 €.

### **3.11. Afirmación explícita de cumplimiento de normas éticas y legales**

Este proyecto de investigación ha sido valorado y autorizado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital General Universitario de Elda (Anexo V).

La investigación se ha llevado a cabo bajo el compromiso del cumplimiento de las normas éticas de investigación y de los requerimientos legales imprescindibles para poder realizar este tipo de estudios. Asimismo se ha respetado en todo momento la normativa vigente que garantiza la confidencialidad de los datos de carácter personal y su tratamiento automatizado de acuerdo a la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/99, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal), el Real Decreto 944/1999, de 11 de junio, por el que se aprueba el Reglamento de medidas de seguridad de los ficheros automatizados que contengan datos de carácter personal, así como toda la normativa aplicable a esta materia.

En concreto, se ha llevado especial cuidado en el cumplimiento de los siguientes aspectos éticos: confidencialidad de los datos obtenidos en el estudio; almacenaje y mantenimiento de los datos recogidos, debidamente disociados, en lugar seguro impidiendo que ninguna otra persona vinculada a la investigación pueda hacer uso de los mismos; inocuidad de los resultados del estudio para todos los pacientes incluidos en la investigación.



## 4.- RESULTADOS

---





#### 4.1. Análisis de las características descriptivas de la muestra.

La muestra está constituida por todos los pacientes sometidos a resección curativa con diagnóstico anatomopatológico confirmado de adenocarcinoma de pulmón en estadio precoz, en el período comprendido entre los años 2003 y 2012 en el Departamento de Salud Alicante-Hospital General perteneciente a la Consellería de Sanitat Universal i Salut Pública de la Generalitat Valenciana. De esta forma, la muestra definitiva sobre la que se ha realizado el análisis está constituida por 112 pacientes.

##### 4.1.1. Características demográficas de la muestra.

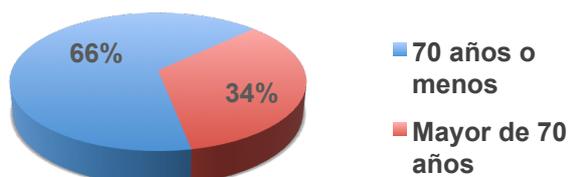
###### 4.1.1.1. Edad.

La media de edad encontrada en la totalidad de la muestra fue de 66,51 años (DE 8,38), con una edad mínima de 46 y máxima de 82 años, como se describe en la Tabla 9. Para la utilización de la variable edad en el estudio agrupamos a los pacientes en dos categorías pronósticas según fueran mayores de 70 años (38 casos; 34% de la muestra) o con 70 años o menos (74 casos; 66% de la muestra) (Figura 11).

Tabla 9. Estadístico descriptivo de la edad en la muestra

Edad	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
N= 112	66,51	66	8,38	64,94-68,08	46	82

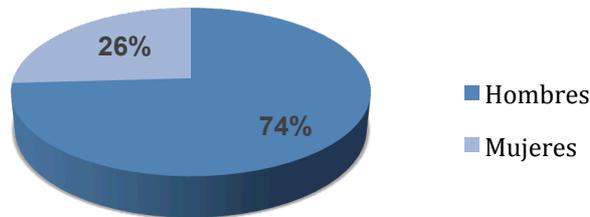
Figura 11. Distribución de la edad por categorías.



#### 4.1.1.2. Género.

La muestra estaba constituida por 83 hombres (74,1%) y 29 mujeres (25,9%) (Figura 12).

Figura 12. Diagrama de sectores para la variable género.

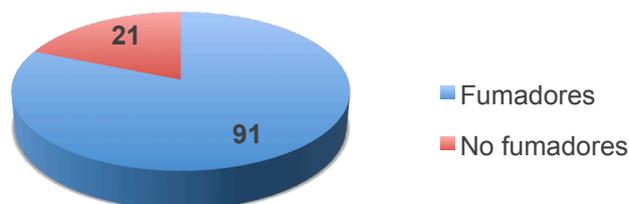


#### 4.1.2. Características clínico-epidemiológicas.

##### 4.1.2.1. Tabaquismo.

En la muestra, 91 pacientes eran fumadores (81,2%) y 21 pacientes se clasificaron como no fumadores (18,8%) (Figura 13). Entre los 91 pacientes fumadores, la mediana de años/paquete encontrada fue de 40, con una rango intercuantil (IQR) de 30-60, no ajustándose esta variable a una distribución normal.

Figura 13. Hábito tabáquico en la muestra (frecuencias).





#### 4.1.2.2. Año de intervención quirúrgica.

Se han incluido pacientes intervenidos entre enero de 2003 y diciembre de 2012. La mediana de casos operados por año fue de 13, con un mínimo de 4 casos los años 2004 y 2007 y un máximo de 25 casos en el año 2010 (Figura 14).

Figura 14. Diagrama de barras con numero de intervenciones por año (n).

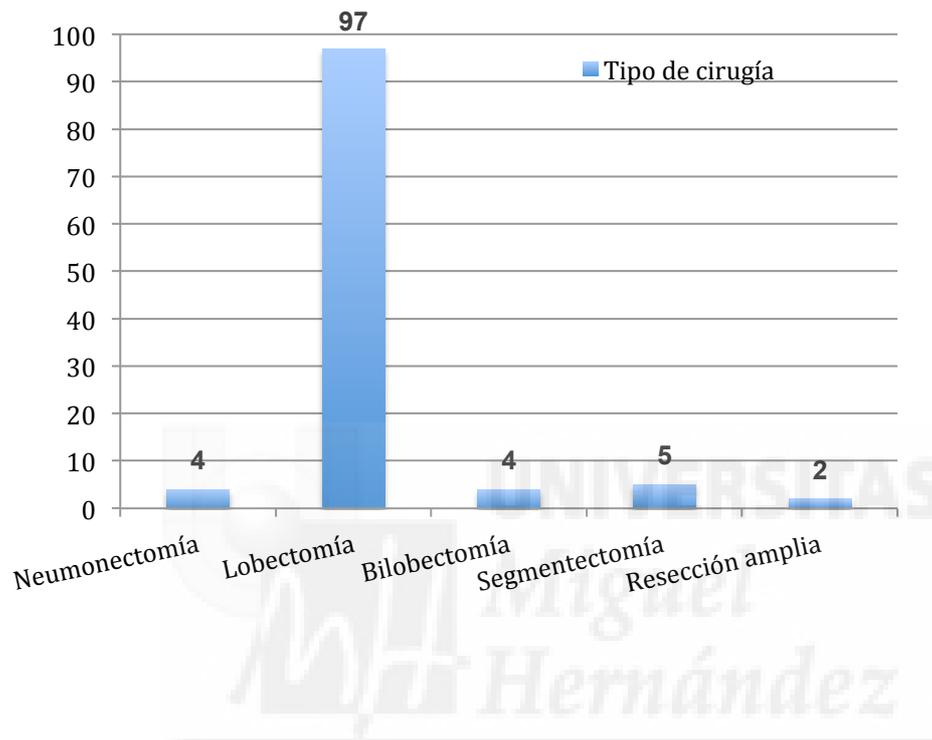


#### 4.1.2.3. Tipo de resección.

La mayoría de los pacientes (97) fueron sometidos a una lobectomía reglada (86,6%). Se realizó neumonectomía en 4 pacientes (3,6%), bilobectomía a otros 4 pacientes (3,6%), en 5 casos el tipo de intervención fue

una segmentectomía atípica (4,5%) y sólo 2 pacientes fueron operados mediante resección amplia (*wedge*) (1,8%) (Figura 15).

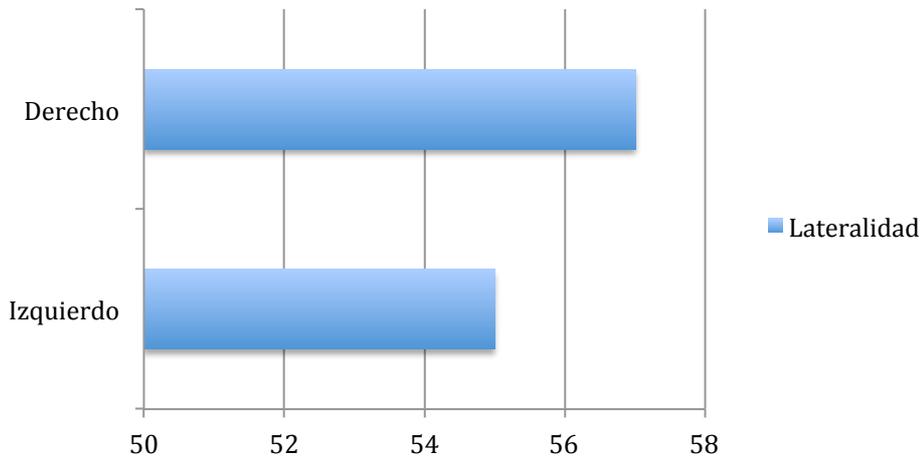
Figura 15. Diagrama de barras con el tipo de resección (n).



#### 4.1.2.4. Lateralidad del tumor.

Prácticamente no hubo diferencias en cuanto a la lateralidad de la neoplasia como se aprecia en la Figura 16. El 50,9% de los tumores se encontraban localizados en el pulmón derecho (57) mientras que 49,1% restante se hallaban en el pulmón izquierdo (55).

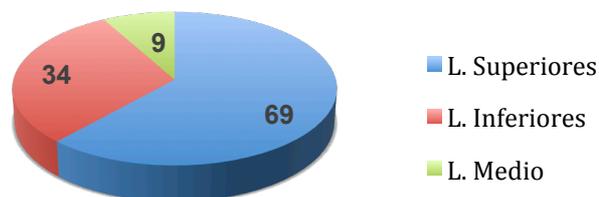
Figura 16. Distribución de neoplasias según lateralidad.

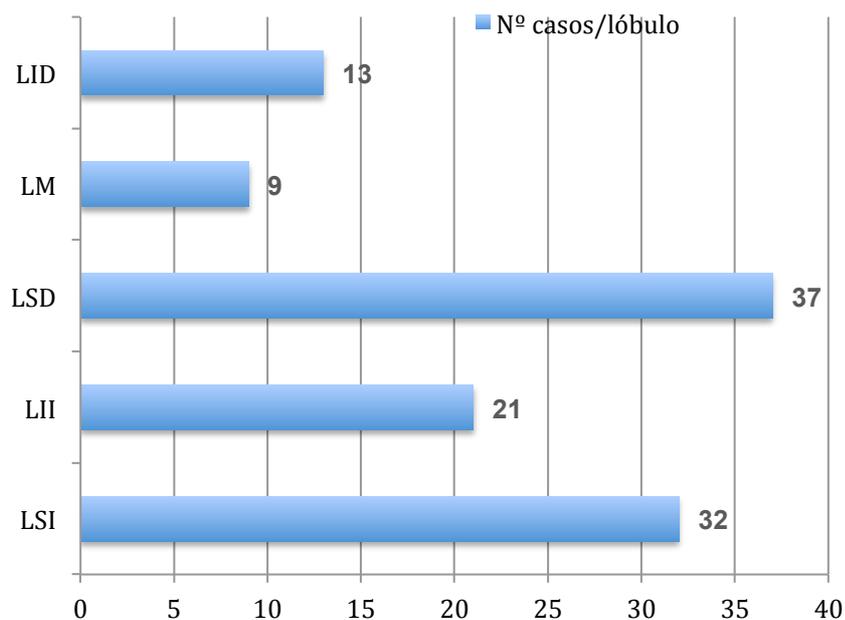


#### 4.1.2.5. Localización anatómica de la enfermedad.

En la muestra incluida, la mayoría de tumores estuvieron localizados en los lóbulos superiores (61,6%). Un 30,4% se distribuyeron por los lóbulos inferiores y, tan sólo 9 tumores (8%) fueron resecaados en el lóbulo medio (Figura 17).

Figura 17. Diagramas de sectores y barras de la distribución por lóbulos.





#### 4.1.2.6. Tamaño tumoral.

A través de los informes de anatomía patológica de la pieza resecada se pudo obtener el tamaño tumoral en todos los casos incluidos en la muestra (Tabla 10). Con un tamaño mínimo de 0,9 cm y un máximo de 10 cm, la media de tamaño tumoral en esta muestra fue de 3,13 cm (DE 1,62).

Tabla 10. Descriptivo del tamaño tumoral en la muestra.

Tamaño (cm)	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
N= 112	3,13	2,90	1,62	2,83 – 3,44	0,9	10

#### 4.1.2.7. Número de ganglios resecaados por intervención.

Se pudo obtener este dato en las 112 muestras de pacientes incluidos en el estudio. La media de ganglios obtenidos en la cirugía fue de 8,8 (DE 5,08) con un mínimo de 1 y un máximo de 24 ganglios (Tabla 11).

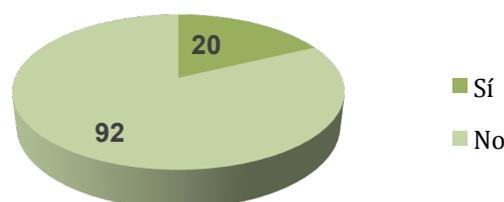
Tabla 11. Estadístico descriptivo del número de ganglios resecaados.

Nº Ganglios	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
N= 112	8,8	8	5,08	7,85 – 9,75	1	24

#### 4.1.2.8. Invasión pleural.

No hubo ningún dato perdido para esta variable, al encontrarse reflejado en el informe de AP de todos los casos de la muestra. En 20 casos (17,9%) se describió la existencia de invasión pleural por parte de la neoplasia. Mientras que en la mayoría de casos, 92 (82,1%) no existió invasión de la pleura (Figura 18).

Figura 18. Diagrama de sectores de la variable invasión pleural.

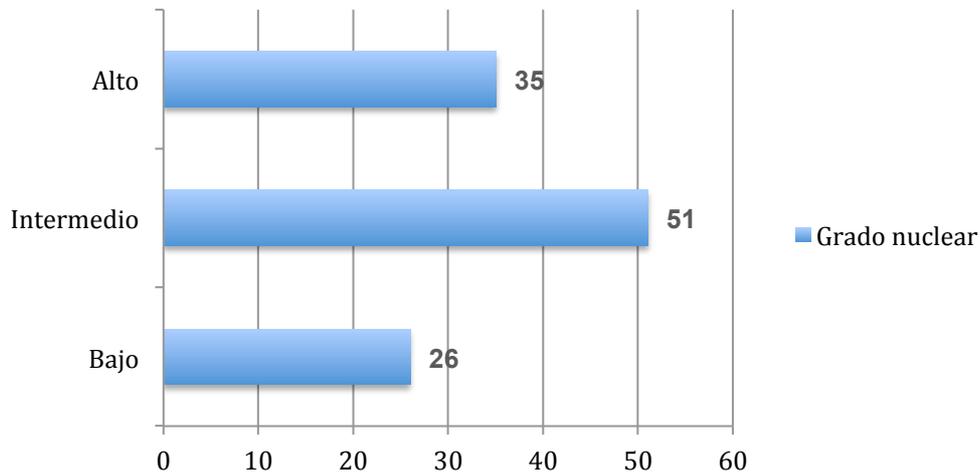


#### 4.1.2.9. Grado nuclear.

El grado nuclear de los adenocarcinomas estudiados se clasificó en tres categorías: bajo, intermedio y alto. Se encontraron 26 casos con grado nuclear

bajo (23,2%), 51 casos con grado intermedio (45,5%) y 35 casos con grado nuclear alto (31,3%) (Figura 19).

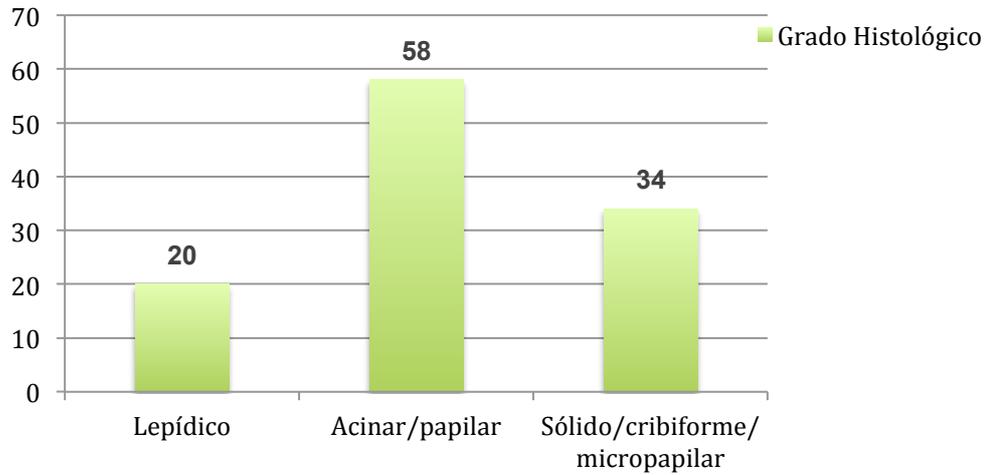
**Figura 19. Distribución de la muestra según grado nuclear (n).**



#### 4.1.2.10. Grado histológico.

Clasificados según los subtipos histológicos de la OMS (46). El grado mayoritario fue el tipo 2 (acinar/papilar) con 58 casos encontrados (51,8%), seguido de 34 casos de grado 3 (sólido/micropapilar) (30,3%). El de menor representación fue el grado 1 (lepídico) con 20 casos del total (17,9%) (Figura 20).

Figura 20. Diagrama de barras de la variable grado histológico (frecuencias).



4.1.2.11. Índice proliferativo Ki-67.

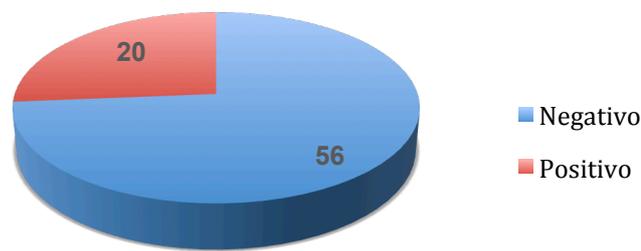
No se pudo obtener el dato en 36 de las 112 muestras (Tabla 12). La mediana de expresión de Ki-67 en las 76 muestras válidas fue de 18 (IQR 10-30).

Tabla 12. Estadístico descriptivo de la variable Ki-67.

Ki-67%	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
N= 76	21,17	18	15,05	17,73 – 24,61	2	75

Considerando como punto de corte 30, se encontraron en la muestra 20 casos positivos (26,3%) y 56 negativos (73,7%), representado en la Figura 21.

Figura 21. Diagrama de sectores de la variable Ki-67-p30 (frecuencias)



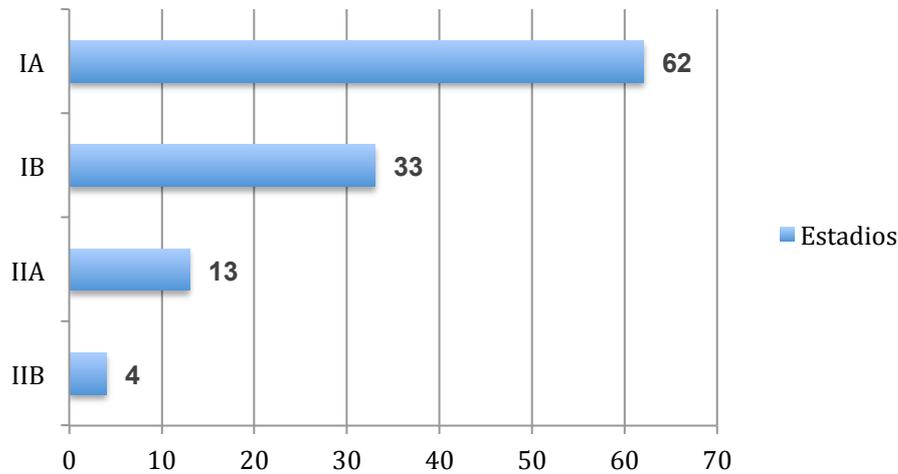
#### 4.1.2.12. Estadio patológico.

En este estudio se incluyeron pacientes con estadio IA, IB, IIA y IIB, es decir, tumores sin afectación ganglionar (pN0). En la Figura 22 y la Tabla 13 se describe su distribución.

Tabla 13. Distribución de pacientes según estadios patológicos (pTNM 7ªed AJCC)

pTNM (7ªed)	Estadio	Frecuencia	Porcentaje (%)
T1aN0M0	IA	35	31,2
T1bN0M0	IA	27	24,1
T2aN0M0	IB	33	29,5
T2bN0M0	IIA	13	11,6
T3N0M0	IIB	4	3,6

Figura 22. Diagrama de barras de la distribución por estadios (n).



#### 4.1.2.13. Recidiva tumoral y tipo de recidiva.

En la muestra del estudio se registraron 39 eventos en relación con recidiva de la enfermedad (34,8%) (Figura 23). De éstas, las más frecuentes según localización, fueron las recidivas a distancia (15 casos), seguidas por las locales (8 casos), siendo las menos habituales las que ocurrieron a nivel ganglionar exclusivo (1 caso). En la Figura 24 se detallan los datos según el lugar de recidiva por categorías y agrupadas en dos grupos pronósticos.

Figura 23. Diagrama de sectores para la variable recidiva (n).

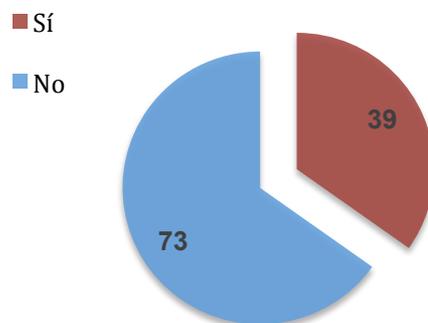
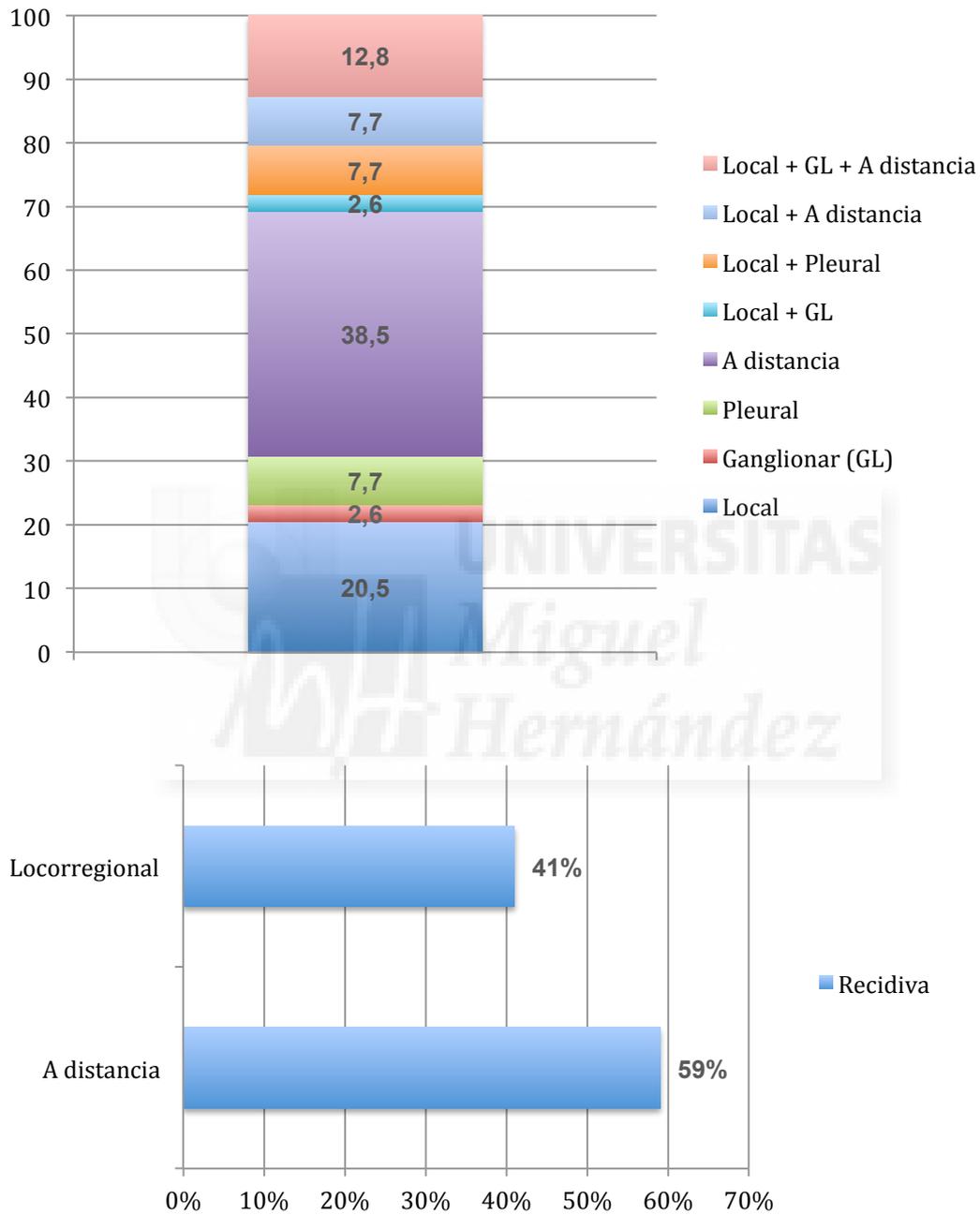


Figura 24. Diagrama de barras apiladas de la variable tipo de recidiva (%) y diagrama de barras para tipo de recidiva según grupos pronósticos (%).



#### 4.1.2.14. Resumen de las características demográficas y clínico-epidemiológicas de la muestra (Tabla 14).

Tabla 14. Tabla resumen de las características de la muestra.

Características	N	%
Edad (años)		
Media	66,51	
DE	8,38	
70 años o menos	74	66
Mayores de 70 años	38	34
Género		
Hombre	83	74
Mujer	29	26
Hábito Tabáquico		
Fumador	91	81,2
No fumador	21	18,8
Tipo de Cirugía		
Neumonectomía	4	3,6
Lobectomía	97	86,6
Bilobectomía	4	3,6
Segmentectomía atípica	5	4,5
Resección amplia	2	1,8
Lateralidad		
Derecho	57	50,9
Izquierdo	55	49,1
Localización anatómica		
LSI	32	28,6
LII	21	18,8
LSD	37	33
LM	9	8
LID	13	11,6
Tamaño (cm)		
Media	3,13	
DE	1,62	
Nº. GL resecaos		
Media	8,8	
DE	5,08	
Inv. Pleural		
Sí	20	17,9
No	92	82,1
Grado nuclear		
Alto	35	31,3
Intermedio	51	45,5
Bajo	26	23,2
Grado Histológico		
Lepídico	20	17,9
Acinar/papilar	58	51,8

Sólido/micropapilar	34	30,3
Ki-67 – p30		
Negativo	56	73,7
Positivo	20	26,3
Estadio		
IA	62	55,4
IB	33	29,5
IIA	13	11,6
IIB	4	3,6
Recidiva Tumoral		
Sí	39	34,8
No	73	65,2
Tipo de recidiva		
Local	8	20,5
Ganglionar (GL)	1	2,6
Pleural	3	7,7
A distancia	15	38,5
Local + GL	1	2,6
Local + PL	3	7,7
Local + A distancia	3	7,7
Local + GL + A distancia	5	12,8



## 4.2. Resultados del análisis de expresión IHQ de MTA3 y E-cadherina.

### 4.2.1. Resultados para la variable antígeno tumoral metastásico 3 (MTA3).

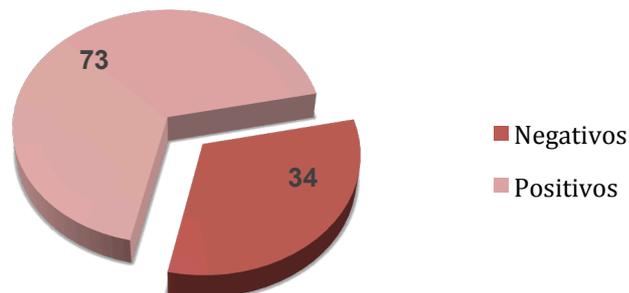
Se realizó el análisis por IHQ de MTA3 en las 112 muestras (Tabla 15). El análisis fue válido en el 95,53% de los casos (107 muestras de las 112 incluidas). En tres casos la técnica no fue valorable y en los otros dos no se encontró tejido tumoral en el corte de los TMAs seleccionados. Como ya se ha explicado, se realizó un análisis de frecuencias con los datos brutos obtenidos. La mediana de expresión nuclear de MTA3 fue 2,5 (IQR 0 - 27,50).

Tabla 15. Estadístico descriptivo de la expresión de MTA3 en la muestra

MTA3	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
(N=107)	27,55	2,5	52,70	17,45 – 37,65	0	240

Se interpretaron como positivos aquellos casos en los que se apreció tinción IHQ en las muestras, independientemente de su intensidad. De este modo, de los 107 casos válidos, 73 se categorizaron como positivos (68,2%) y 34 como negativos (31,8%) para la expresión de MTA3 (Figura 25).

Figura 25. Diagrama de sectores de la variable MTA3 cualquier intensidad (frecuencias).



#### 4.2.2. Resultados para la variable E-cadherina.

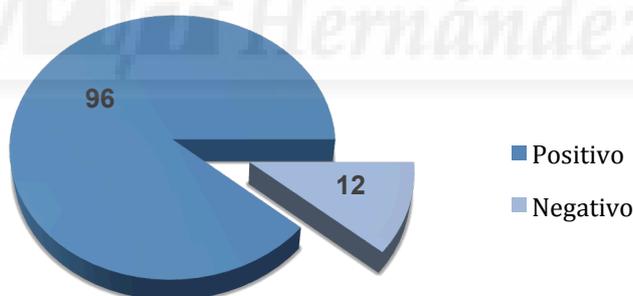
Se consiguió obtener datos válidos de la expresión IHQ de E-cadherina en el 96,4% de los 112 casos (hubo 4 casos perdidos). Una vez realizado el análisis de frecuencias, se obtuvo una mediana de expresión de 190 (IQR 130 – 250), con un mínimo de 0 y un máximo de 300 (Tabla 16).

Tabla 16. Análisis descriptivo de la expresión de E-cadherina en la muestra.

E-cadherina	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
N= 108	187,91	190	80,72	172,51 – 203,31	0	300

Considerando positivos los casos con expresión IHQ elevada (++ y +++), obtuvimos 96 casos positivos (89%) y 12 casos negativos (11%) (muestras con baja intensidad de tinción o sin tinción) (Figura 26).

Figura 26. Diagrama de sectores de la variable E-cadherina Intensidad alta (frecuencias).



#### 4.3. Relación entre las variables descriptivas con la expresión IHQ de MTA3 y E-cadherina.

En la población global de 112 pacientes se evaluó la asociación de las dos variables estudiadas con factores demográficos y clínico-epidemiológicos: edad, género, tabaquismo, estadios, invasión pleural, grado nuclear, grado

histológico, Ki-67 y tipo de recidiva. Algunos de estos son considerados factores pronósticos clínicos clásicos en cáncer de pulmón. Se estudió además, la relación entre la expresión IHQ de ambas variables (MTA3 y E-cadherina).

#### 4.3.1. Resultados para MTA3 (Cualquier intensidad):

De los 112 casos incluidos en el estudio, en 107 se pudo determinar la expresión de MTA3 (5 casos perdidos). De ellos, 73 casos (65,17 %) fueron considerados MTA3 positivos, según los criterios previamente descritos.

\* Edad: se valoró la edad en dos categorías: 70 años o menos frente a mayor de 70 años. Cuarenta y ocho de los 73 pacientes (65,8%) tenía 70 años o menos mientras que 25 pacientes (54,2%) eran mayores de 70 años. La Tabla 17 muestra los resultados de la asociación entre la edad y la expresión IHQ de MTA3. No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre ambas variables.

Tabla 17. Asociación MTA3 y Edad.

Edad (n)	OR	IC95%	p
70 años o menos (48)	1	1	0,847
Mayor de 70 años (25)	1,089	0,458 – 2,589	

\* Género: De los 73 pacientes con expresión positiva de MTA3, 54 (74%) fueron hombres frente a un 26% de mujeres (19). Al analizar la expresión de MTA3 según sexo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre su expresión y el hecho de ser hombre o mujer (Tabla 18).

Tabla 18. Asociación entre MTA3 y Género.

Género (n)	OR	IC95%	p
Mujer (19)	1	1	0,961
Hombre (54)	1,023	0,406 – 2,578	

\* Tabaquismo: Tan sólo 12 (16,4%) de los 73 pacientes con expresión positiva de MTA3 fueron no fumadores, el resto (61 pacientes, 83,6%) eran fumadores. Se analizó si la expresión de MTA3 se relacionaba con el hábito tabáquico, no existiendo tampoco una asociación significativa entre ambas variables (Tabla 19).

Tabla 19. Asociación entre MTA3 y Tabaquismo.

Tabaquismo (n)	OR	IC95%	p
No fumador (12)	1	1	
Fumador (61)	1,318	0,467 – 3,715	0,602

\* Estadio: La distribución por estadios de los 73 pacientes MTA3 positivo fue la siguiente: 39 (53,4%) pacientes con estadio IA, 23 (31,5%) estadio IB y 10 pacientes (13,7%) con estadio IIA. Tan sólo 1 de los 73 pacientes debutó con estadio IIB. Como se muestra en la Tabla 20, no se encontró ninguna asociación entre MTA3 positivo y los estadios.

Tabla 20. Asociación entre MTA3 y Estadio patológico.

Estadios (n)	OR	IC95%	p
IA (39)	1	1	
IB (23)	1,769	0,652 – 4,803	0,263
IIA (10)	1,795	0,445 – 7,242	0,411
IIB (1)	0,179	0,018 – 1,835	0,148

\* Invasión pleural: El 80,8% (59) de los pacientes MTA3 positivo no presentó invasión pleural por parte del tumor (Tabla 21), mientras que se

encontró afectación pleural en 14 pacientes (19,2%). No se pudo demostrar una asociación entre la positividad de MTA3 y la existencia de invasión pleural.

Tabla 21. Asociación entre MTA3 e Inv. Pleural.

Inv. pleural (n)	OR	IC95%	p
No (59)	1	1	
Sí (14)	1,107	0,385 – 3,186)	0,850

\* Grado nuclear: La mayoría de las muestras presentaron un grado nuclear bajo o intermedio (75,4%), distribuyéndose el total de casos de la siguiente manera: 21 casos (28,8%) de grado bajo, 34 casos (46,6%) de grado intermedio y 18 (24,7%) con un GN alto. Con respecto al GN bajo no se pudo demostrar que un mayor grado (ni intermedio ni alto) fueran un factor de riesgo para MTA3 positivo (Tabla 22).

Tabla 22. Asociación entre MTA3 y Grado nuclear.

Grado Nuclear (n)	OR	IC95%	p
Bajo (21)	1	1	
Intermedio (34)	0,476	0,153 – 1,483	0,200
Alto (18)	0,357	0,106 – 1,208	0,098

\* Grado histológico: La distribución de los pacientes según el grado histológico fue de 21,9% (16) con patrón lepidico, 46,6% (34 casos) con patrón acinar/papilar y un 31,5% (23 casos) con patrón sólido/micropapilar. No hubo

una relación estadísticamente significativa entre un mayor grado histológico y la expresión de MTA3 (Tabla 23). Se intuye una asociación inversa sin significación estadística.

Tabla 23. Asociación entre MTA3 y Grado histológico.

Grado Histol. (n)	OR	IC95%	p
Lepídico (16)	1	1	
Acinar/papilar (34)	0,290	0,076 – 1,112	0,071
Sólido/microp (23)	0,479	0,112 – 2,051	0,321

\* Ki-67-p30: En 74 casos se pudo determinar el estado de Ki-67, siendo 56 casos MTA3 positivo (Tabla 24). De estos, 40 (71,4%) resultaron negativos para Ki-67-p30 y los restantes 16 (28%) fueron Ki-67-p30 positivo. No se encontró asociación entre MTA3 positivo y una expresión de Ki-67 por encima de 30.

Tabla 24. Asociación entre MTA3 y Ki-67-p30.

Ki-67-p30 (n)	OR	IC95%	p
Negativo (40)	1	1	
Positivo (16)	2	0,509 – 7,859	0,321

\* Tipo de recidiva:

De los 35 casos que presentaron recidiva tumoral y en los que se pudo realizar la determinación IHQ de MTA3, 26 fueron etiquetados como MTA3 positivos: 20 pacientes presentaron recidiva a distancia (76,9%) y en 6 casos

(23,1%) la recidiva fue a nivel locorregional. La probabilidad de encontrar MTA3 positivo es 11,66 veces mayor en los casos que presentan recaída a distancia frente a los que recaen a nivel locorregional como se refleja en la Tabla 25. Esta asociación fue estadísticamente significativa.

Tabla 25. Asociación entre MTA3 y Tipo de recidiva.

Tipo recidiva (n)	OR	IC95%	p
Locorregional (6)	1	1	
A distancia (20)	11,66	1,896 – 71,796	0,008

#### 4.3.2. Resultados para E-Cadherina (intensidad alta):

De los 108 casos en los que se pudo determinar la expresión IHQ de E-cadherina (4 casos perdidos), 96 mostraron una expresión positiva para E-cadherina de intensidad alta y en 12 casos la expresión de E-cadherina se consideró negativa.

\* Edad: De los 96 casos con expresión positiva de E-cadherina, 65 (67,7%) pertenecían al grupo de 70 o menos años y 31 casos (32,3%) fueron mayores de 70 años. Respecto a los mayores de 70 años, los menores de 70 tienen un riesgo 1,498 veces mayor de ser E-cadherina positiva sin que esta asociación alcance la significación estadística (Tabla 26).

Tabla 26. Asociación entre E-cadherina y Edad.

Edad (n)	OR	IC95%	p
70 o menos años (65)	1,498	0,440- 5,097	0,518
Mayor de 70 años (31)	1	1	

\* Género: El 25,6% de los pacientes E-cadherina positivo (24 casos) fueron mujeres, frente a 72 hombres (75%). No se pudo demostrar una asociación estadísticamente significativa entre ser hombre y la expresión de E-cadherina (Tabla 27).

Tabla 27. Asociación entre E-cadherina y Género.

Género (n)	OR	IC95%	p
Mujer (24)	0,667	0,184 – 2,412	0,537
Hombre (72)	1	1	

\* Tabaquismo: El número de pacientes no fumadores con expresión positiva de E-cadherina fue de 16 (32,3%), y el resto (un 83,3%, 80 casos) eran fumadores. No se comprobó una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de E-cadherina y el hábito tabáquico (Tabla 28).

Tabla 28. Asociación entre E-cadherina y Tabaquismo.

Tabaquismo (n)	OR	IC95%	p
No fumador (16)	0,600	0,146 – 2,464	0,478
Fumador (80)	1	1	

\* Estadio: La mayoría de los casos (84,4%) fueron estadios I (81 pacientes: 57 con estadio IA (59,4%) y 24 (25%) con estadio IB). Quince pacientes presentaron estadio II (12 casos con estadio IIA y 3 con estadio IIB, representando cada uno el 12,5% y 3,1% del total). Con respecto a los pacientes con estadio IIB, aquellos con estadio IA presentaron una mayor probabilidad de tener expresión de E-cadherina, pero esta asociación no tuvo

significación estadística (OR 6,333, p 0,155) (Tabla 29). Para el resto de estadios tampoco se encontró ninguna asociación.

**Tabla 29. Asociación entre E-cadherina y Estadio patológico.**

Estadio (n)	OR	IC95%	p
IA (57)	6,333	0,498 – 80,593	0,155
IB (24)	1,143	0,102 – 12,784	0,914
IIA (12)	4	0,190 – 84,199	0,373
IIB (3)	1	1	

\* Invasión pleural: En 17 casos de los 96 con pérdida de expresión de E-cadherina se evidenció invasión pleural (17,7%), el resto (79 casos) no presentaron invasión de la pleura. Respecto a los que sí presentaron invasión pleural, aquellos sin afectación de la misma tenían un riesgo 1,549 veces mayor de tener expresión de E-cadherina, pero tampoco en este caso se alcanzó la significación estadística (Tabla 30).

**Tabla 30. Asociación entre E-cadherina e Invasión pleural.**

Inv. Pleural (n)	OR	IC95%	p
No (79)	1,549	0,379 – 6,331	0,542
Sí (17)	1	1	

\* Grado nuclear: El 25% (24 casos) de los pacientes con expresión de E-cadherina presentaron un grado nuclear alto (Tabla 31). Cuarenta y siete casos

se tipificaron como grado intermedio (49%) y 25 (26%) como grado nuclear bajo. Respecto a los que tiene GN alto, los que tiene un GN bajo tienen 7,292 veces mayor probabilidad de expresar E-cadherina (p 0,073). En el caso de los pacientes con GN intermedio, esta probabilidad es de 3,427 veces (p 0,068).

**Tabla 31. Asociación entre E-cadherina y Grado nuclear.**

Grado nuclear (n)	OR	IC95%	p
Bajo (25)	7,292	0,833 – 63,750	0,073
Intermedio (47)	3,427	0,913 – 12,871	0,068
Alto (24)	1	1	

\* Grado histológico: Entre los pacientes E-cadherina positivo predominó el subtipo acinar/papilar con 51 casos (53,1%). El segundo subtipo en frecuencia fue el sólido/micropapilar con 27 casos (28%), encontrando 18 casos (18,8%) con subtipo lepidico. La probabilidad de expresar E-cadherina es mayor en los subtipos lepidico y acinar/papilar respecto al subtipo sólido, pero la asociación no fue estadísticamente significativa (Tabla 32).

**Tabla 32. Asociación entre E-cadherina y Grado histológico.**

Grado Histol. (n)	OR	IC95%	p
Lepidico (18)	3,333	0,359 – 30,948	0,290
Acinar/papilar (51)	1,574	0,440 – 5,634	0,486
Sólido/micropap (27)	1	1	

\* Ki-67-p30: Para la muestra de 74 casos en los que se pudo determinar Ki-67-p30, 68 casos fueron E-cadherina positivo, distribuidos de la siguiente manera en función de Ki-67-p30: 51 casos (75%) negativos para Ki-67-p30 y 17 casos (25%) positivos. La Tabla 33 muestra como no se encontró una asociación entre E-cadherina positivo y Ki-67-p30.

Tabla 33. Asociación entre E-cadherina y Ki-67-p30.

Ki-67-p30 (n)	OR	IC95%	p
Negativo (51)	1,5	0,252 – 8,93	0,656
Positivo (17)	1	1	

\* Recidiva: En 31 pacientes de los 96 con expresión de E-cadherina se constató recidiva de la enfermedad, frente a 65 casos (67,7%) en los que no hubo recidiva. Aquellos que no presentaron recidiva de la neoplasia tuvieron una mayor probabilidad de expresar E-cadherina pero no fue estadísticamente significativa (Tabla 34).

Tabla 34. Asociación entre E-cadherina y recidiva.

Recidiva (n)	OR	IC95%	p
No (65)	1,498	0,440 – 5,097	0,518
Sí (31)	1	1	

#### 4.3.3. Resultados de la asociación entre MTA3 y E-cadherina.

De los 107 casos en los que se pudo analizar la expresión IHQ de MTA3, 73 presentaron expresión de MTA3 (68,2%). De estos, en 7 casos (9,6%) se evidenció pérdida de expresión de E-cadherina. No se ha encontrado en la muestra, una asociación entre la mayor expresión de MTA3 y la pérdida

de expresión de E-cadherina (Tabla 35).

Tabla 35. Asociación entre MTA3 y E-cadherina.

MTA3 positivo (n)	OR	IC95%	p
E-cadherina pos (66)	1	1	
E-cadherina neg (7)	0,795	0,216 – 2,925	0,730

#### 4.4. Resultados de supervivencia.

##### 4.4.1. Supervivencia libre de enfermedad (SLE).

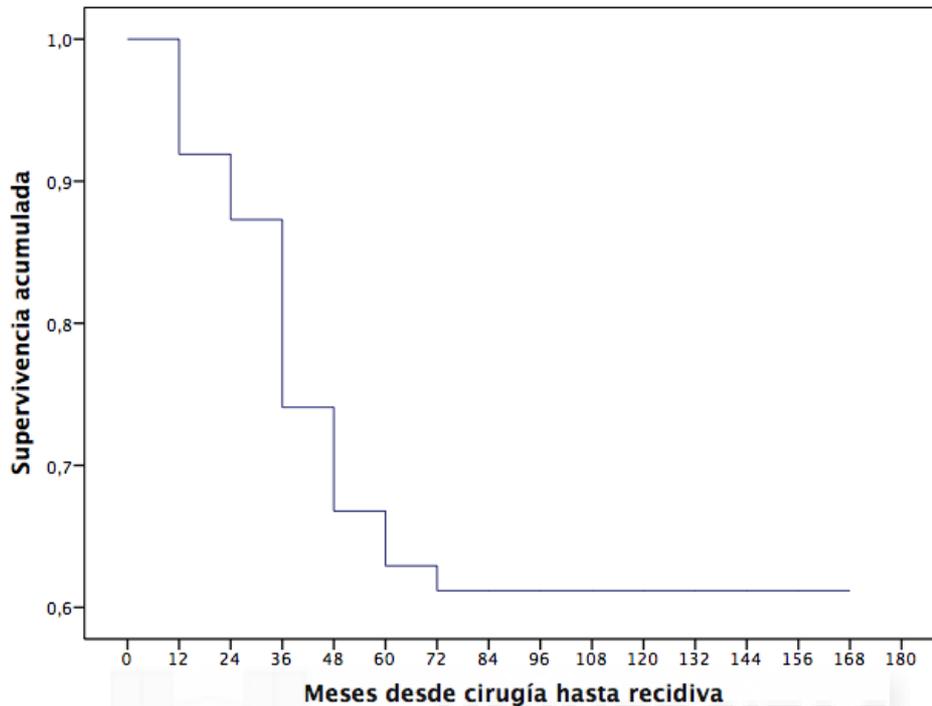
Se calculó la SLE como el tiempo transcurrido desde la fecha de la intervención hasta la fecha de la recidiva tumoral, en los casos en los que la hubo. Como se ha comentado en el apartado correspondiente, ocurrieron 39 eventos en relación con la recidiva. La mediana de SLE fue de 49,50 meses (IQR 27,21 – 71,75) (Tabla 36).

Tabla 36. Análisis descriptivo de la SLE.

SLE (ms)	Media	Mediana	DE	IC95%	Mínimo	Máximo
N= 112	55,50	49,50	36,01	48,75 – 62,24	1	161

La SLE a 1, 2 y 5 años fue de 92%, 87% y 63% respectivamente (Figura 27).

Figura 27. Curva de Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE).



#### 4.4.1.1. Influencia de las características descriptivas y de la expresión de MTA3 y E-cadherina en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) de la población.

Se evaluó la influencia de las características demográficas y clínico-epidemiológicas y de las variables en estudio en la supervivencia libre de enfermedad mediante curvas de Kaplan-Meier y prueba de los rangos logarítmicos (Tabla 37).

Para el análisis de la variable tipo de resección, se agrupó ésta en dos categorías (neumonectomía *versus* no neumonectomía) de acuerdo al papel pronóstico clásico adverso de la neumonectomía en cáncer de pulmón. Para la variable tipo de recidiva, se agrupó así mismo en locorregional *versus* a distancia.

**Tabla 37. Análisis univariante para la Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE) de las características descriptivas y de la expresión IHQ de MTA3 y E-cadherina.**

Variable	Análisis Univariante		
	HR	95% IC	p
Edad			0,589
70 años o menos	1	1	
Mayor de 70 años	1,198	0,622 - 2,305	
Género			0,679
Mujer	1	1	
Hombre	1,154	0,585 - 2,279	
Tabaquismo			0,050
No fumador	1	1	
Fumador	0,506	0,256 – 1,001	
Tipo de resección			0,923
Neumonectomía	1	1	
No neumonectomía	0,907	0,124 - 6,610	
Pleura			0,926
No	1	1	
Sí	1,037	0,476 – 2,260	
GN			0,869
Bajo	1	1	
Intermedio	0,811	0,371 – 1,772	0,599
Alto	0,897	0,387 – 2,078	0,800
GH			0,619
Lepídico	1	1	
Acinar/papilar	0,754	0,328 – 1,734	0,506
Sólido/micropapilar	1,050	0,435 – 2,535	0,913
Ki-67- p30			0,329
Negativo	1	1	
Positivo	0,638	0,259 – 1,572	
Estadio			0,592
IA	1	1	
IB	1,022	0,526 – 1,985	0,949
IIA	1,525	0,758 – 3,067	0,237
IIB	0,808	0,298 – 2,186	0,674
Tipo de recidiva			0,359
Locorregional	1	1	
A distancia	1,359	0,706 – 2,616	
MTA3 Cualq. Int.			0,192
Negativo	1	1	
Positivo	1,658	0,776 – 3,542	

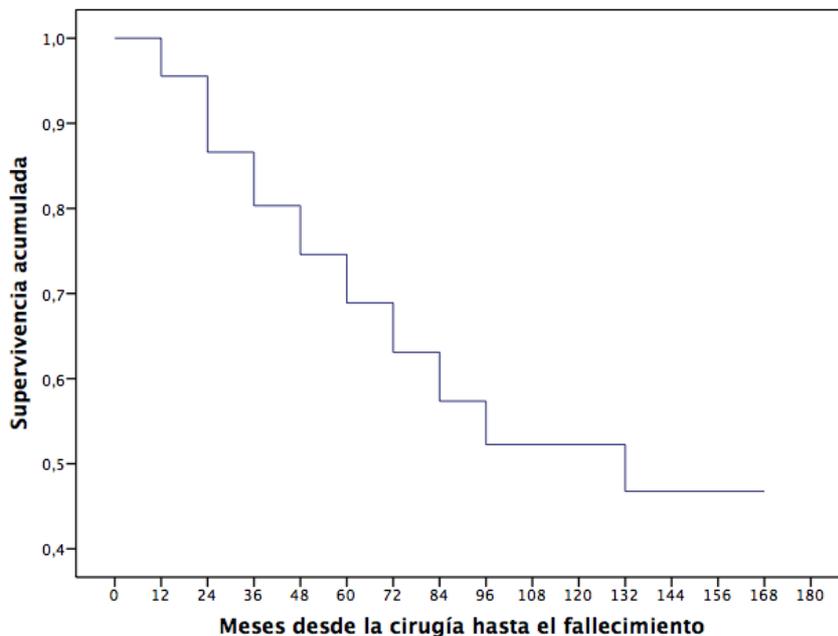
E-Cadherina Int. Alta			0,354
Positivo	1	1	
Negativo	1,565	0,608 – 4,030	

Ante estos resultados y, no habiendo encontrado ninguna asociación estadísticamente significativa, no se procedió a realizar el análisis multivariante de la relación entre las características y la SLE

**4.4.2. Supervivencia global (SG).**

Para el estudio de supervivencia se constató que, tras una mediana de seguimiento de 59,73 meses (IQR 44,78 – 82,65), 43 pacientes habían fallecido. No hubo ninguna pérdida de seguimiento. La supervivencia global de los 112 pacientes estudiados fue del 96%, 87% y 69%, al año, a los dos años y a los cinco años, respectivamente, con una mediana de supervivencia de 58,87 meses (IQR 44,14 – 81,46) (Figura 28).

Figura 28. Curva de Supervivencia Global (SG).



#### 4.4.2.1. Influencia de las características descriptivas y de la expresión de MTA3 y E-cadherina en la supervivencia global (SG) de la población.

De igual modo que para la SLE, se evaluó mediante curvas de Kaplan-Meier y prueba de los rangos logarítmicos, la influencia de las características especificadas en la supervivencia global (Tabla 38).

**Tabla 38. Análisis univariante para la Supervivencia Global de las características descriptivas y de la expresión IHQ de MTA3 y E-cadherina.**

Variable	Análisis Univariante		
	HR	95% IC	p
Edad			0,009
70 años o menos	1	1	
Mayor de 70 años	2,213	1,215 – 4,030	
Género			0,370
Mujer	1	1	
Hombre	1,385	0,680 – 2,820	
Tabaquismo			0,603
No fumador	1	1	
Fumador	1,229	0,566 – 2,670	
Tipo de resección			0,060
Neumonectomía	1	1	
No neumonectomía	0,322	0,099 – 1,047	
Pleura			0,769
Sí	1	1	
No	0,894	0,423 – 1,891	
GN			0,271
Bajo	1	1	
Intermedio	0,586	0,289 – 1,189	0,139
Alto	0,598	0,276 – 1,296	0,193
GH			0,452
Lepídico	1	1	
Acinar/papilar	0,780	0,339 – 1,796	0,560
Sólido/micropapilar	1,196	0,515 – 2,778	0,677
Ki-67- p30			0,072
Negativo	1	1	
Positivo	0,413	0,157 – 1,083	
Estadio			0,965
IA	1	1	
IB	0,915	0,487 – 1,718	0,783
IIA	1,044	0,534 – 2,042	0,900

IIB	1,125	0,503 – 2,519	0,774
Tipo de recidiva			0,076
Locorregional	1	1	
A distancia	2,069	0,926 – 4,622	
MTA3 Cualq. Int.			0,173
Negativo	1	1	
Positivo	1,646	0,803 – 3,372	
E-Cadherina Int. Alta			0,063
Positivo	1	1	
Negativo	2,173	0,959 – 4,925	

Sólo la edad demostró ser significativa para SG en el análisis univariante. El tipo de resección, tipo de recidiva y la expresión de E-cadherina rozaron la significación sin alcanzarla.

Tras estos resultados, se llevó a cabo un análisis de regresión de Cox con aquellas variables con  $p < 0,1$  en el análisis univariante, para identificar factores que pueden modificar la supervivencia en estos pacientes. Los resultados del análisis multivariante se muestran en la Tabla 39.

**Tabla 39. Análisis multivariante para la Supervivencia Global (SG) de las características descriptivas y de la expresión IHQ de MTA3 y E-cadherina.**

Variable	Análisis Multivariante		
	HR	95% IC	p
Edad			0,014
70 años o menos	1	1	
Mayor de 70 años	4,583	1,356 – 15,486	
Tipo de resección			0,043
Neumonectomía	1	1	
No neumonectomía	0,028	0,001 – 0,890	
Tipo de recidiva			0,026
Locorregional	1	1	
A distancia	5,843	1,238 – 25,577	
E-Cadherina Int. Alta			0,010
Positivo	1	1	
Negativo	10,099	1,734 – 58,800	

Las variables independientes estadísticamente significativas tras el análisis multivariante de regresión de Cox se resumen en la Tabla 40.

Tabla 40. Variables estadísticamente significativas en el análisis multivariante.

Variable	HR	Tipo de factor
Edad	4,583	Riesgo
Recidiva a distancia	5,843	Riesgo
E-cadherina Negativo	10,099	Riesgo
No neumonectomía	0,028	Protector

En las siguientes figuras (Figuras 29-32) se muestran las curvas de Kaplan-Meier de supervivencia para cada una de las variables significativas en el análisis multivariante.

Figura 29. Curvas Kaplan Meier con SG por grupos de edad.

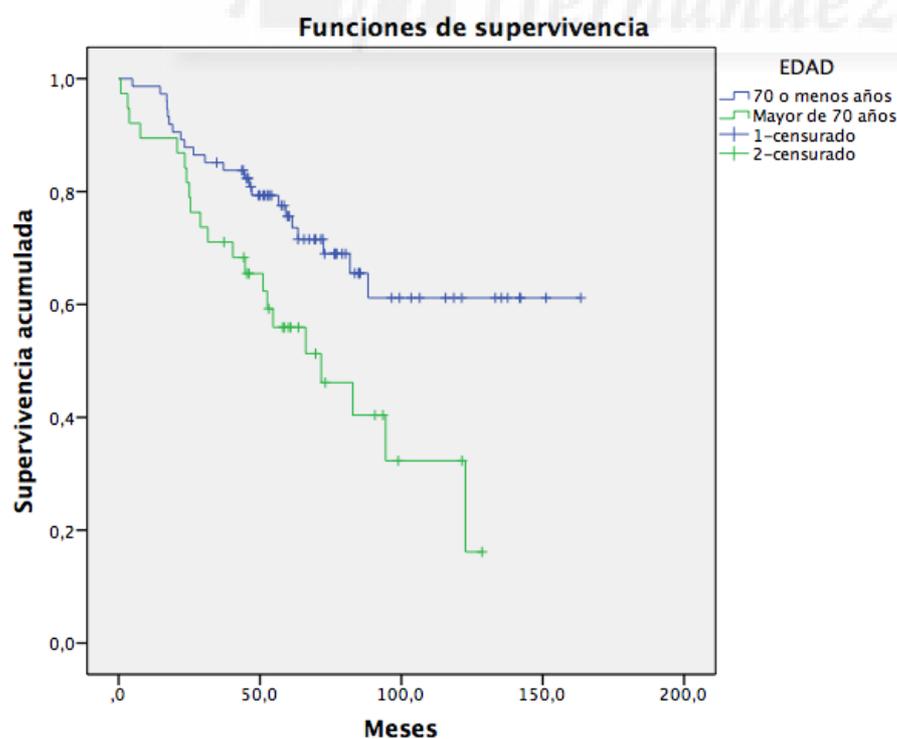


Figura 30. Curvas Kaplan Meier con SG según tipo de recidiva.

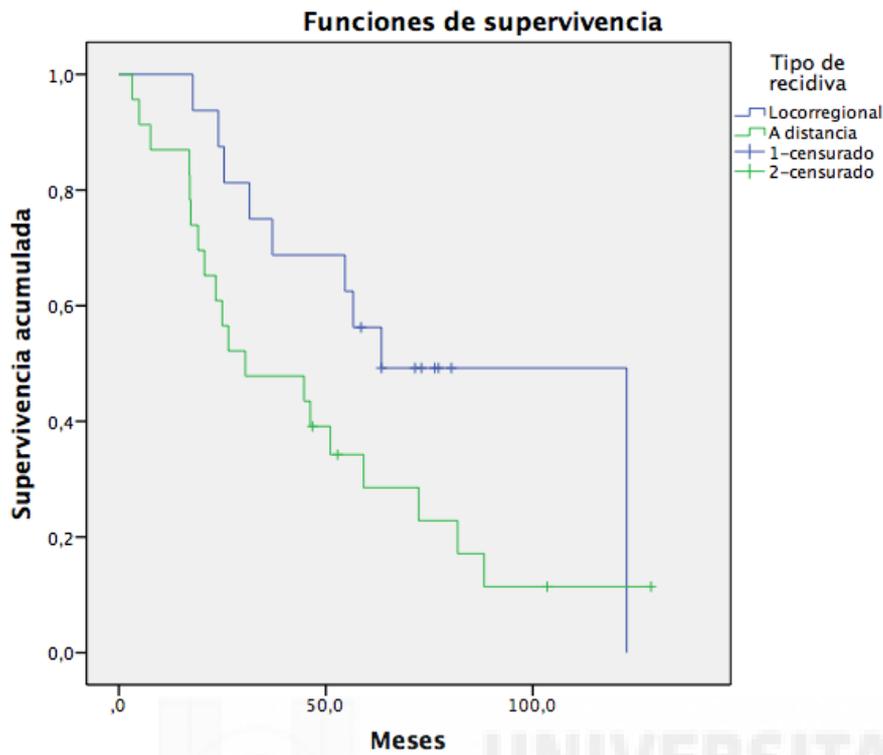


Figura 31. Curvas Kaplan Meier con SG según expresión de E-cadherina.

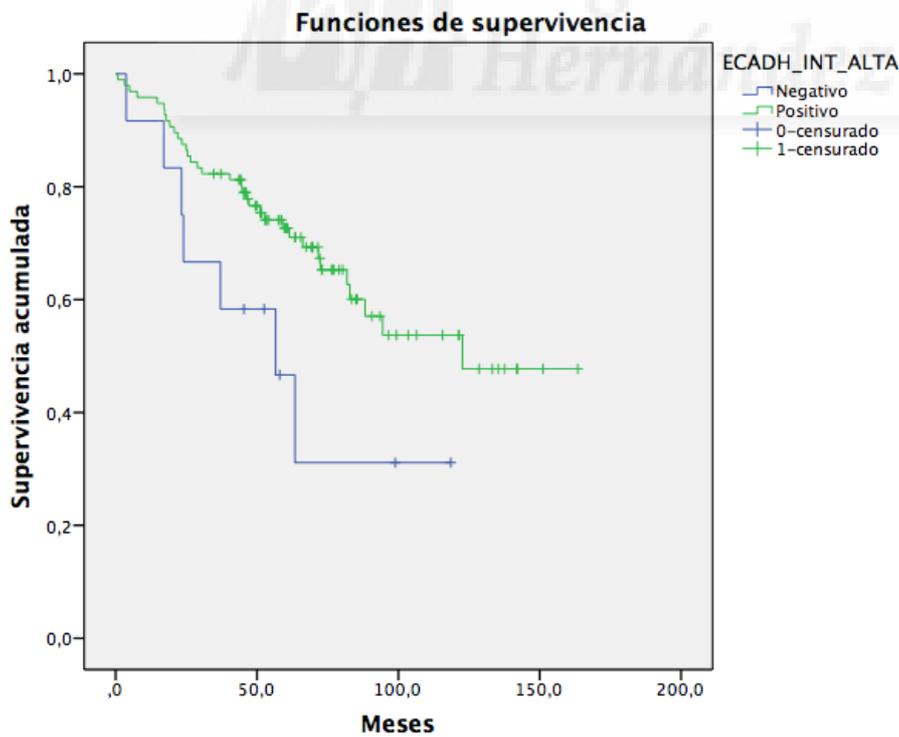
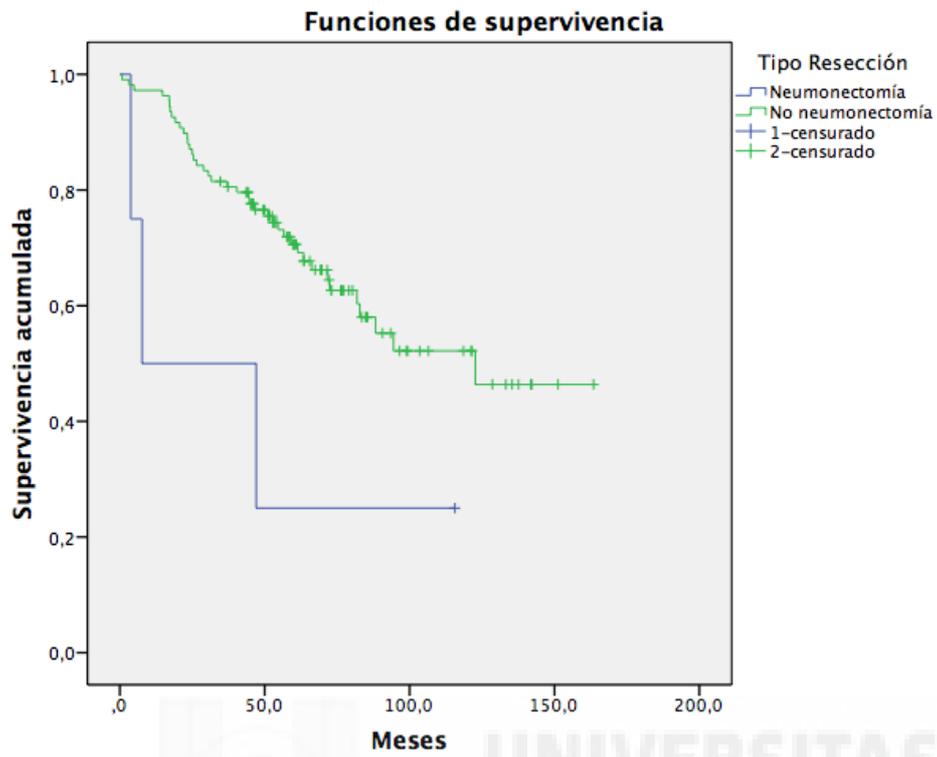


Figura 32. Curvas Kaplan Meier con SG según tipo de resección.





## 5.- DISCUSIÓN

---





El cáncer es, sin duda, un problema de salud global, afectando a millones de personas en el mundo y convirtiéndose en una de las principales causa de mortalidad.

Haciendo una breve reseña histórica, la paleopatología nos brinda alguna evidencia de lesiones compatibles con el cáncer en humanos desde hace 150.000 años (131), aunque también muestra que era una enfermedad poco frecuente, que se incrementó a consecuencia de los cambios medioambientales desde el siglo XVIII. En la literatura médica encontramos de forma reiterativa, que en dos de los llamados "papiros médicos", se reconoce el cáncer. Si leemos con detenimiento los textos apreciamos que las lesiones descritas en ambos más parecen corresponder a lesiones ulceradas (132). En el siglo IV a.C., en los escritos hipocráticos encontramos el origen etimológico de la palabra cáncer: lesiones ulcerosas crónicas, algunas endurecidas, que se desarrollan progresivamente y sin control (133) expandiéndose por los tejidos semejando las patas de un cangrejo, por lo que las denominó con la palabra griega *καρκίνοσ* (se lee karkinos). Los siglos XVIII y XIX fueron fundamentales para la ordenación de las lesiones cancerosas, la formulación de la teoría de que toda célula procede de otra célula, y los hitos posteriores como el carácter desordenado de las células cancerosas, la diseminación por los nódulos linfáticos y de allí a la circulación general y el rol de los émbolos sanguíneos pasando del tumor a los vasos y linfáticos (134, 135).

Con el aumento de la esperanza de vida de la población mundial, el cáncer constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad. Las estimaciones poblacionales indican que el número de casos nuevos aumente en las dos próximas décadas a 22 millones de casos nuevos al año. En España, el cáncer de pulmón constituye la tercera neoplasia en frecuencia en varones y la cuarta en mujeres. Sin embargo, es la principal causa de muerte por cáncer, con 21.220 fallecimientos en el año 2014 (136).

Sólo un 25% de los CPNCP se diagnostican en estadios precoces (I-II), con la posibilidad de someterse a tratamientos potencialmente curativos como la cirugía. Además, un 50% de los pacientes en estadios I-II experimentarían recaída de su enfermedad a lo largo de la evolución (137). Hasta un 30% de los pacientes con CPCNP estadio I que se han sometido a resección completa

recidivan y fallecen antes de los 5 años, fundamentalmente por la presencia de enfermedad micrometastásica en el momento de la resección (138), aunque no se conocen los mecanismos ni en qué pacientes se van a producir estas recurrencias. Poder identificar factores pronósticos en este ámbito será de vital importancia para asesorar en el pronóstico individual de un paciente, seleccionar el tratamiento más adecuado, definir nuevos criterios para clasificar a los pacientes según grupos de riesgo y ayudar a diseñar y orientar futuras investigaciones (75). A lo largo de las últimas décadas se han identificado más de un centenar de variables que han sido descritas como FP en el cáncer de pulmón y que pueden pertenecer al tumor, el paciente o el entorno.

En esta tesis se presentan los resultados de la relación entre la expresión IHQ de dos marcadores (MTA3 y E-cadherina) con la supervivencia de los pacientes con adenocarcinoma de pulmón resecado en estadios precoces. Se analizan además las características demográficas y clínico-epidemiológicas de esta población y su relación con la expresión de ambos marcadores moleculares y con la supervivencia.

## 5.1. Análisis de los resultados.

### 5.1.1. Discusión respecto al análisis de las características demográficas y clínico-epidemiológicas de la muestra.

Para la realización de este trabajo de tesis doctoral se han incluido los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de pulmón en estadios precoces (pN0) intervenidos por el S. Cirugía Torácica del Departamento de salud Alicante - Hospital General en el período descrito. La muestra está constituida por 112 casos. El primer paciente incluido fue operado en enero de 2003 y el último en diciembre de 2012. La media de casos operados por año fue 15, siendo 2010 y 2012 los casos con mayor número de pacientes intervenidos (25 y 21 casos, respectivamente) y 2004 y 2007 los años con menos pacientes sometidos a cirugía (4 casos en ambos años). En la cifra de **pacientes intervenidos por año** observamos una tendencia ascendente y se pudo calcular de forma aproximada la tasa bruta de incidencia por año (Tabla 41) considerando como población la de referencia en nuestro área (269.000

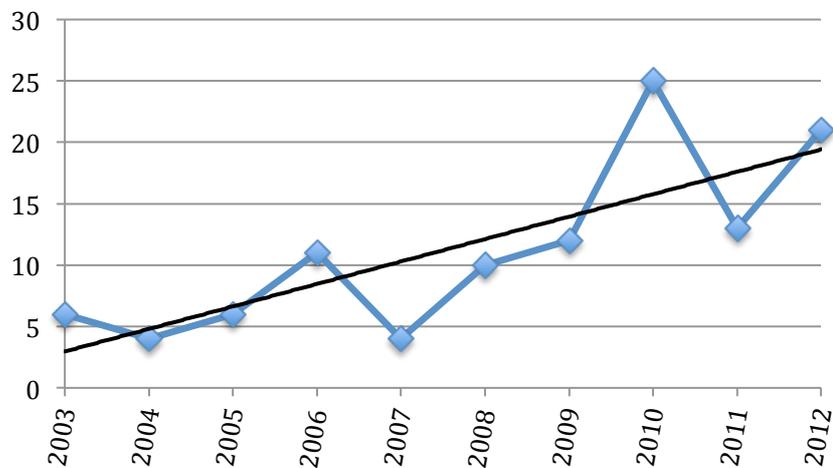
pacientes) (Figura 33).

Tabla 41. Tasa Bruta de intervenciones por año.

Año	Casos	Tasa Bruta *
2003	6	2,23
2004	4	1,49
2005	6	2,23
2006	11	4,09
2007	4	1,49
2008	10	3,72
2009	12	4,46
2010	25	9,29
2011	13	4,83
2012	21	7,81

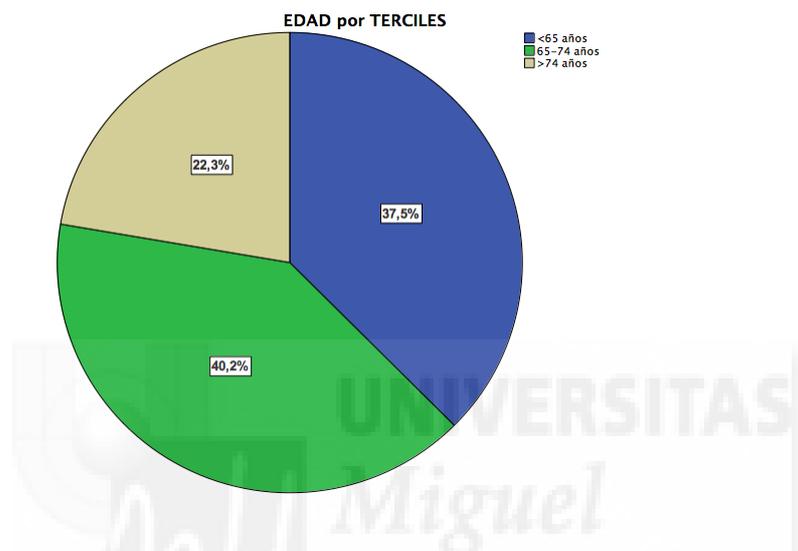
\* por 100.000 habitantes/año

Figura 33. Tendencia de la incidencia en la muestra (log).



La **edad** media encontrada en los pacientes de la muestra fue de 66,51 años (DE 8,38), concordante con los datos epidemiológicos publicados (65), en los que el rango varía entre los 55 y los 70 años. El grupo etario con mayor frecuencia en nuestra muestra fue el de 65-74 años (40,2% de la muestra) con un 77,7% de los casos por debajo de los 70 años en el momento de la intervención (Figura 34).

Figura 34. Distribución de la edad por terciles (%).



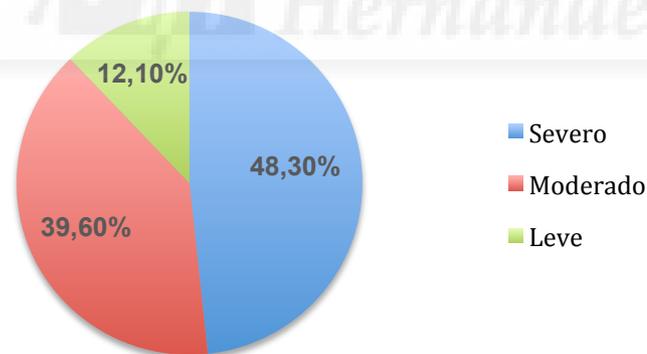
La distribución por **género** en la muestra fue de 83 hombres y 29 mujeres, lo que supone una ratio de 2,8:1, similar a lo publicado en otras series de pacientes intervenidos con estadios precoces (139,140). Cifras que difieren de las publicadas hace unos años cuando la ratio de distribución por género se estimaba en 4:1 (hombres:mujeres), reflejando la tendencia ascendente de la incidencia de esta neoplasia en mujeres (de predominio adenocarcinomas) frente a la incidencia en varones que ha ido en descenso (3).

En cuanto a la prevalencia del **hábito tabáquico** en nuestra muestra, encontramos que, del total de pacientes, más del 80% eran fumadores (91 pacientes) frente a 21 pacientes no fumadores. Hemos considerado fumadores a aquellos pacientes que habían fumado, al menos, 100 cigarrillos a lo largo de su vida, según la definición de la OMS (141). Los porcentajes encontrados son concordantes con los que se describen, entre otros, en ensayos clínicos de cáncer de pulmón en estadios precoces (142)(143). La prevalencia del tabaquismo en España, según datos de 2015, es del 33,9% de los hombres y

27,8% de las mujeres (144, 145). El tabaco es el principal factor de riesgo del cáncer de pulmón. El 90% de los nuevos casos se detectan en personas fumadoras (13, 16). El tabaco es el único producto de consumo que llega a matar a la mitad de sus consumidores cuando se usa de la forma recomendada por su fabricante. Constituye la principal causa de enfermedad y muerte evitable a nivel mundial. Afecta tanto a los fumadores como a los no fumadores (15).

Dentro del grupo de pacientes fumadores, casi la mitad de ellos (48,3%) tenían un hábito severo, es decir, más de 40 paquetes/año. Treinta y seis pacientes (39,6%) se clasificaron como fumadores moderados (21-40 paquetes/año) y menos del 12,1% eran fumadores leves, con entre 5-20 paquetes/año. Estos datos van en consonancia con lo que conocemos de otras publicaciones (13) y con el perfil clínico del paciente con cáncer de pulmón que, en más del 50% de los casos se ajusta a la categoría de grandes fumadores (Figura 35).

Figura 35. Distribución de los fumadores (%) según la intensidad del hábito tabáquico.



Según se especifica en las principales guías clínicas de manejo del CPNCP, el **tipo de resección quirúrgica** de elección en estadios precoces es la lobectomía o resección pulmonar anatómica (50, 146). En nuestro estudio, 97 de los 112 pacientes intervenidos (86,6%) se había sometido a una lobectomía y tan sólo 4 pacientes fueron operados mediante neumonectomía. En los 7 casos restantes, la técnica quirúrgica empleada había sido la

segmentectomía atípica o la resección amplia. Este tipo de resecciones se ha comparado en varios estudios con la lobectomía y, aunque habrá que esperar los resultados de los grandes ensayos prospectivos aleatorizados antes de dar unas recomendaciones definitivas, estas técnicas se pueden considerar adecuadas en casos particulares (lesiones pequeñas, mínimamente invasivas o con componente predominante en vidrio deslustrado) (147). De hecho, dos revisiones recientes y un metaanálisis (148, 149) concluyeron que, el uso bien seleccionado de la resección sublobar, alcanzó tasas similares de supervivencia y recidivas a las de la lobectomía.

La **distribución anatómica** de las neoplasias en esta muestra se detalla a continuación: prácticamente la mitad de los tumores intervenidos se encontraban localizados en el lado derecho (50,9%) y la otra mitad (49,1%) en el izquierdo. Existe una pequeña diferencia entre nuestros datos y los de otras series de pacientes intervenidos en estadios iniciales, en las que refieren un mayor porcentaje de tumores de localización derecha (entre 56 – 64%) sin poder encontrar una causa que lo justifique (90, 150, 151). En cuanto a la localización por lóbulos, encontramos en nuestro estudio un predominio en lóbulos superiores (61,6% frente al 30,4% localizados en lóbulos inferiores), que en este caso sí concuerda con los datos publicados. En estos, documentan entre un 48 y un 70% de tumores intervenidos en lóbulos superiores y entre un 24 y 40% de tumores operados en los lóbulos inferiores (90, 150-153).

Se llevó a cabo un análisis del **tamaño** de las neoplasias bronquiales reseçadas. La distribución de esta variable no siguió un patrón de normalidad. La mediana fue 2,90 cm con un intervalo intercuantil (IQR) de 1,85 – 4 cm. El tumor más pequeño reseçado medía 0,9 cm y el de mayor tamaño 10 cm. No hemos encontrado series comparables a la nuestra en la que especifiquen este dato. El tamaño tumoral puede ser inferido en algunos ensayos de los datos de estadificación patológica de la T según el sistema TNM. Los tumores de los pacientes incluidos en nuestra muestra habían sido estadificados de acuerdo a la 7ªed. TNM de 2009 (154). De acuerdo a esta clasificación y, en función exclusivamente del tamaño tumoral, los tumores se clasifican en: pT1a cuando es menor o igual a 2cm; pT1b cuando es mayor de 2 cm pero menor o igual a 3

cm; pT2a aquellos tumores con mas de 3 cm y hasta 5 cm; pT2b si son mayores de 5 cm pero menores o iguales a 7 cm; y pT3 si miden mas de 7 cm. En la siguiente tabla se detalla la distribución de los tumores de nuestra muestra en función de su tamaño (Tabla 42). El 88,4% de los tumores medían 5 cm o menos, siendo un tercio del total de tumores de 2 cm o menos.

Tabla 42. Distribución de los tumores según su tamaño de acuerdo a la 7ªed. TNM (n).

TNM 7ªed	pT1a	pT1b	pT2a	pT2b	pT3
N=112	36	28	35	12	1

Recientemente ha sido publicada la nueva clasificación TNM 8ª edición, con aplicación clínica desde 2017 (155). En la revisión específica del descriptor de la T en la 8ª edición cabe destacar que “cada centímetro importa”. Cuando analizan la supervivencia en función de los incrementos de 1 cm en el tamaño tumoral ( $\leq 1$  cm,  $>1$  a 2 cm,  $>2$  a 3 cm,  $>3$  a 4 cm,  $>4$  a 5 cm,  $>5$  a 6 cm,  $>6$  a 7 cm, y  $>7$  cm), observan una degradación progresiva de la misma por cada punto de corte de 1 cm. Es por ello que subclasifican T1 en tres categorías y T2 en dos categorías (siendo 5 cm el tamaño máximo en esta categoría), pasando los tumores de entre 5 y 7 cm a ser catalogados como T3. Así quedarían clasificados los tumores de nuestra muestra (Tabla 43).

Tabla 43. Tabla comparativa de la distribución según tamaño tumoral entre 7ª y 8ªed. TNM.

7ªed. TNM	N	8ªed. TNM	N
pT1a ( $\leq 2$ cm)	36	pT1a ( $\leq 1$ cm)	4
pT1b ( $>2 \leq 3$ cm)	28	pT1b ( $>1 \leq 2$ cm)	32
		pT1c ( $>2 \leq 3$ cm)	28
pT2a ( $>3 \leq 5$ cm)	35	pT2a ( $>3 \leq 4$ cm)	23
		pT2b ( $>4 \leq 5$ cm)	12
pT2b ( $>5 \leq 7$ cm)	12	pT3 ( $>5 \leq 7$ cm)	12
pT3 ( $>7$ cm)	1	pT4 ( $>7$ cm)	1

Se pudo obtener de la revisión de los informes de anatomía patológica de los tumores resecados, el **número de ganglios obtenidos por intervención**. En nuestra muestra, la media de ganglios encontrados fue de 8,8 (DE 5,08). Esta cifra es superior a las recomendaciones de la IASLC, que especifican que al menos se deben reseca 6 ganglios, tres de las estaciones N1 y otros 3 de las estaciones N2 (156, 157). Este es el requisito mínimo para poder diagnosticar N0 cuando los ganglios linfáticos son negativos (158). Sin embargo aún queda por resolver la cuestión a cerca del número mínimo de ganglios que deben ser patológicamente evaluados.

En la muestra estudiada, en 32 casos, el número de ganglios resecados fue menor de 6. En casi la mitad de la muestra (55 pacientes, 49%) el número de ganglios resecados se encontraba entre 6 y 12. En general se puede concluir que la estadificación pN0 de nuestros pacientes de acuerdo con la 7ªed. TNM, cumplió con los criterios de calidad exigidos por los organismos internacionales.

A pesar de los cambios realizados por la 8ª ed. TNM, se ha mantenido el principio de que el estadio ganglionar está basado en la localización anatómica de las metástasis linfáticas en el tórax y no en el número de ganglios afectados, a diferencia de lo que ocurre en otras neoplasias como el cáncer de mama o los tumores digestivos. El número en este caso es más una cuestión de calidad.

Respecto a la **invasión pleural (IP)**, en todos los informes de anatomía patológica revisados se especificaba, por protocolo, la presencia o ausencia de invasión pleural. En 17,9% de los casos se encontró que existía invasión pleural por parte del tumor. La mayoría de los tumores no presentaron invasión pleural (92 casos). La invasión de la pleura visceral se ha reconocido en las últimas décadas como un indicador de pronóstico adverso en CPNCP, y es por esto que se ha incluido en el sistema de estadificación TNM como un factor que debe escalar el descriptor T al siguiente nivel (159, 160). Hay publicados también datos de su asociación con las metástasis linfáticas. Sin embargo, es un factor difícil de caracterizar: se recomienda el uso de tinciones elásticas y el sistema de clasificación de Hammar (160, 161), aunque aún no son prácticas

completamente establecidas. En nuestra muestra, la invasión pleural está definida como cualquier distorsión de la capa elástica pleural por células malignas. En este estudio no hemos examinado el papel de la IP en la supervivencia global o libre de enfermedad, pues no era objeto de nuestro proyecto. La mayoría de datos que valoran el impacto de la invasión pleural en la supervivencia, provienen de series asiáticas. Como la de *Shimizu y colaboradores* (162), que encuentran en una muestra con más de 1.000 pacientes con CPNCP, que la invasión pleural es un factor adverso en tumores  $\leq 3$  cm frente a los que no la presentan. Sí que hemos podido comprobar que, las tasas de afectación pleural encontradas en nuestra muestra, son comparables a las publicadas por otros investigadores en población no asiática. El estudio de *David E., y colaboradores* (163) evalúa el impacto de la IP en la supervivencia global y SLE en pacientes con CPNCP pN0M0 tras lobectomía. Con más de 1.100 pacientes incluidos encuentran que el 18% presentaba invasión pleural, que presenta una asociación estadísticamente significativa con la histología adenocarcinoma y que, se asocia con el tamaño tumoral mayor de 5 cm (tumores pT2b) e impacta negativamente en la SLE.

La utilidad de un sistema de gradación basado en las características nucleares ya está establecido en otras neoplasias como el cáncer de mama, riñón y vejiga (164-166). Hay algunos estudios que también han demostrado el valor pronóstico de las características nucleares en el adenocarcinoma de pulmón (167, 168).

El **grado nuclear** en las muestras de nuestro estudio estaba definido en función del tamaño nuclear y la forma del núcleo. Los tumores se clasificaron en tres categorías: baja atipia, moderada y alta en función de la uniformidad de los núcleos y de la presencia o no de anisonucleosis. Predominó el subtipo intermedio con un 45,5% de los tumores, seguida por el grado alto (31,3%) y en tercer lugar el grado nuclear bajo (23,2%). Estos datos son equiparables a lo publicado en otras series tanto asiáticas como no asiáticas (167, 169). En el año 2010, *Barletta J.* publicó un estudio con 85 pacientes operados de un adenocarcinoma de pulmón que pretendía evaluar el significado pronóstico del grado nuclear y encontró, igual que en nuestra serie, un 47% de tumores

clasificados como grado intermedio, un 21,2% de grado bajo y el resto de alto grado nuclear. También en la serie asiática de *Kadota K.* (169) de 2012 con casi 500 pacientes, el subtipo predominante fue el intermedio.

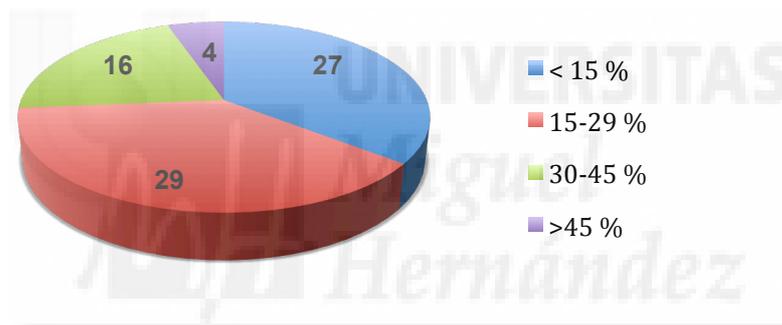
La clasificación de tipos histológicos de tumores de pulmón vigente en la actualidad es la publicada por la OMS en 2015 (46). Los cambios que afectan al adenocarcinoma con respecto a la clasificación previa (OMS 2004) versan sobre las sugerencias sobre clasificación del mismo que se hicieron en 2011 por la International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC), American Thoracic Society (ATS), y la European Respiratory Society (ERS). Respecto al adenocarcinoma invasivo lo divide en: lepidico, acinar, papilar, micropapilar y sólido. La nueva clasificación propone clasificar el adenocarcinoma por el tipo histológico predominante (el que constituya el % mayor de la lesión), especificando en el informe los otros tipos encontrados. Reconoce como entidad al tipo micropapilar, de mal pronóstico. Así, respecto a la gradación histológica, en base a su potencial metastásico, se subclasifican en: lepidico (grado 1), acinar/papilar (grado 2) o micropapilar/sólido (grado 3). En base al **grado histológico**, en nuestra serie, predominó el grado 2 con 58 casos, seguido del micropapilar/sólido que constituyó un tercio de la muestra, siendo el menos representado el grado 1 con sólo 20 casos del total. La predominancia del grado 2 concuerda con lo encontrado por *Kadota K.*, *Yoshizawa A.* y *Ujiiie H.* en sus estudios (77, 169-170) con porcentajes de grado intermedio que oscilan entre 56-76% y en los que el subtipo menos frecuentes es también el grado 1 (entre 11-15%), y en los que además encuentran una asociación entre el alto grado arquitectural y el mayor riesgo de recaída de la enfermedad para adenocarcinomas resecaados con estadio I.

Para el análisis del **índice de proliferación** en las muestras, se empleó **Ki-67**. El marcador Ki-67 es una proteína nuclear de unión al DNA, codificada por el gen MKI67 en el brazo largo del cromosoma 10 (10q25). Es un marcador celular de proliferación (171). Una alta tasa de proliferación celular se correlaciona con una mayor agresividad tumoral y con peor supervivencia. Ki-67 es un potente biomarcador con valor pronóstico y/o predictivo en cáncer de mama (172), próstata (173), y colorrectal (174).

Existen diferentes técnicas para evaluar la expresión de la proteína Ki-67, si bien habitualmente se emplean técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) mediante el uso de anticuerpos monoclonales (anti-Ki67 mAb, anti MIB-1 mAb), como ha sido nuestro caso. No existe un punto de corte establecido, si bien la mayoría de estudios oscilan entre el 25-30% (175).

En este proyecto, el índice de proliferación Ki67 se pudo obtener en 76 de las 112 muestras disponibles. Encontramos una mediana de expresión de 18% con IQR de entre 10% y 30%. Establecimos como punto de corte un 30% de expresión. De este modo, 20 casos fueron clasificados como positivos (26,3%) y 56 negativos (73,7%). En la Figura 36 se muestra la distribución de Ki-67 en cuartiles en nuestra muestra.

**Figura 36. Gráfico de sectores para la variable Ki67 según cuartiles.**



La elección del punto de corte se basó en la revisión de la literatura al respecto, centrándonos específicamente en lo publicado para los adenocarcinomas, con puntos de corte que oscilan entre 25 y 40% (175- 177). En el metaanálisis de *Wen y cols.* (178), con más de 5.600 pacientes incluidos, se observó una correlación estadísticamente significativa entre una expresión alta de Ki-67 y supervivencia global (HR 1.59, IC 95% 1.35-1.88,  $p < .001$ ). Ki-67 demostró ser un predictor de SG y SLE en los subtipos adenocarcinoma con estadios precoces. Estos datos eran superponibles a los del metaanálisis de *Warth y cols.* (177), publicado en 2014. En este caso encuentran que una mayor actividad proliferativa medida por Ki-67 se correlacionaba con peor SG y SLE en los adenocarcinomas, utilizando un punto de corte de Ki-67 del 25%

(Ki-67 $\leq$ 25%: SLE 60.3 meses, SG 71.3 meses; vs. Ki-67 $>$ 25%: SLE 54.3 meses, SG 56.4 meses).

En nuestro estudio se han incluido exclusivamente pacientes sin afectación ganglionar ni a distancia (pN0 – cM0). La **estadificación** de las neoplasias se ha llevado a cabo de acuerdo a la 7ª edición de la clasificación TNM (47). En cuanto al descriptor T, quedaron excluidos aquellos tumores que, independientemente de su tamaño, presentaran invasión de alguna de las siguientes estructuras: mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio recurrente laríngeo, esófago, cuerpo vertebral o carina; o la existencia de nódulos tumorales en distinto lóbulo del pulmón homolateral (pT4). Se incluyeron pacientes entre los estadios IA y IIB. El estadio mayoritariamente encontrado fue el IA, con 62 pacientes, seguido en este orden por el estadio IB con 33 casos, IIA con 13 casos y en último lugar el estadio IIB con 4 pacientes. La definición de estadios precoces incluye los estadios I y II. En estos casos, el tratamiento de elección es la cirugía con intención curativa (de elección la lobectomía o resección pulmonar anatómica con un nivel de evidencia IB) (50). En los estadios IA y IB no se recomienda el tratamiento adyuvante (ni la radioterapia ni la quimioterapia). Se recomiendan 4 ciclos de quimioterapia posoperatoria basada en platinos para los estadios II por su beneficio en términos de supervivencia (53). De los 17 pacientes con estadios II en los que estaba indicado el tratamiento adyuvante, tan sólo 2 no recibieron dicho tratamiento, siendo el motivo en ambos casos la existencia de un estado general medido por la escala ECOG de Zubrod de 2 sobre una puntuación total de 5 (Anexo I).

Los pacientes con CPNCP diagnosticados en estadios precoces tienen en general mejor pronóstico en términos de supervivencia, que los estadios avanzados. En general, la supervivencia global a cinco años para los estados I está en torno al 43-50% y para los estadios II es del 25-36% (67). El principal problema en estos pacientes es la aparición de recidivas sistémicas, motivo por el que fallecerán. En este estudio, de los 112 pacientes incluidos y que habían sido intervenidos, 39 presentaron **recidiva** de su enfermedad. La principal localización de dicha recidiva fue a distancia, suponiendo el 59% del total. En el 38,5% de los casos se trató exclusivamente de recidivas a distancia pero en el resto se combinó con recidivas locales o regionales. Conocer factores

pronósticos que permitan predecir qué pacientes tienen más probabilidades de recaer, y poder así seleccionar los mejores candidatos a tratamientos adyuvantes personalizados, conseguiría mejorar los resultados y aumentar las cifras de supervivencia.

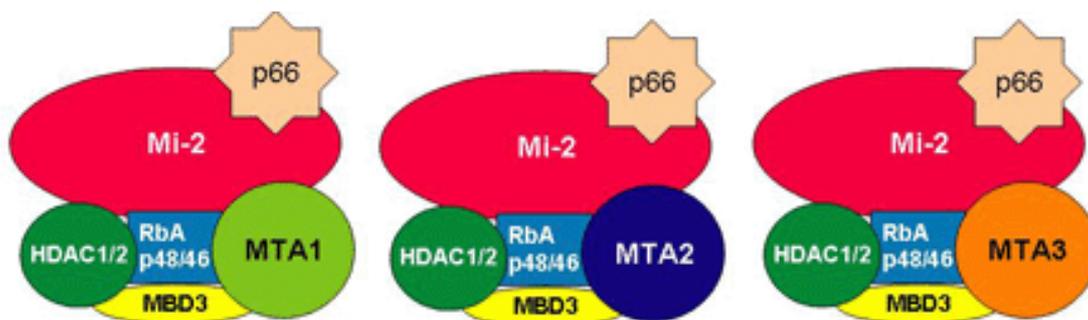
### 5.1.2. Discusión respecto al análisis de la expresión de MTA3 y E-cadherina en la muestra.

5.1.2.1. Análisis de la expresión de **MTA3** y su relación con variables demográficas y clínico-epidemiológicas.

Las proteínas asociadas a metástasis (MTA) pertenecen a una familia de correguladores de los receptores nucleares (RN). Los genes MTA constituyen una familia de genes, con tres componentes principales: MTA1, MTA2 y MTA3 (101). Son parte integrante de los complejos histona-desacetilasa, lo que justifica su papel en la remodelación de la cromatina (106, 107). MTA3 se identificó como un gen inducido por estrógeno que forma parte del complejo Mi2/NuRD (104).

El complejo Mi2/NuRD está implicado en la remodelación de la cromatina, tanto en estado fisiológico como patológico (101). Está compuesto por 7 subunidades. A pesar de la similitud en el modo de acción entre las subunidades (Figura 37), la especialización funcional de cada una está supeditada a la presencia de diferentes miembros de la familia de antígenos tumorales metastásicos (MTA) dentro del complejo NuRD (179).

Figura 37. Representación esquemática de las subunidades del complejo Mi2/NuRD: MTA1, MTA2 y MTA3.

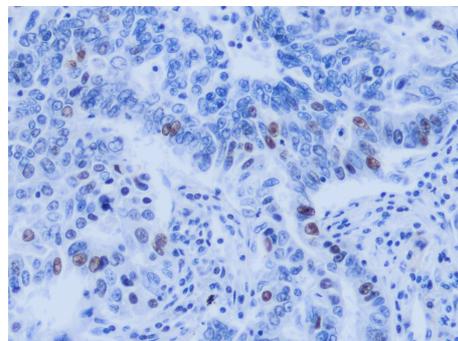
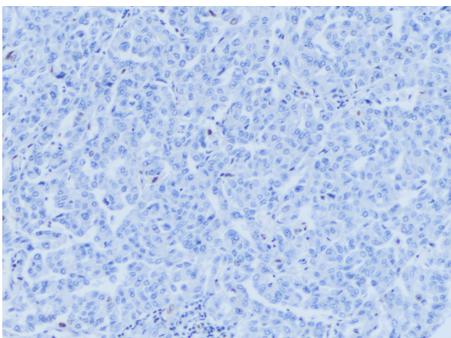


MTA1 fue el primer miembro identificado, expresado en líneas celulares de cáncer de mama (180). Es un correpresor transcripcional del receptor de estrógeno alfa (RE-alfa). MTA2 es también un correpresor del RE-alfa y su sobreexpresión lleva al crecimiento de células de cáncer de mama independientemente de los estrógenos. MTA3 contrariamente a MTA1, reprime la transcripción de genes implicados en la invasividad celular, como es el caso de *Snail* (104). MTA3 interacciona con el promotor del represor transcripcional *Snail* y regula a la baja su expresión, con un mecanismo dependiente de la desacetilación de histonas en líneas celulares de cáncer. *Snail* promueve la transición epitelio-mesénquima fundamentalmente mediante la expresión a la baja de E-cadherina. La represión de *Snail* inducida por MTA3 se ha asociado a la diferenciación y aumento de la expresión de E-cadherina en líneas celulares de cáncer de mama (104), jugando un papel primordial en la EMT de este tipo tumoral (101). Contrariamente a MTA1 y MTA2, cuyos niveles están generalmente sobreelevados en cáncer, MTA3 está infraexpresado. Esto se ha comprobado no sólo en cáncer de mama sino también en carcinoma de endometrio, ovario y tumores de la unión esofagogástrica. Por ejemplo, la disregulación de MTA3 se asocia a pobre diferenciación del cáncer de endometrio y mal pronóstico en términos de supervivencia del carcinoma uterino (181-183). En general, se puede afirmar que MTA3 es una molécula correguladora fundamental implicada en la carcinogénesis y progresión de diversos tumores malignos. Sin embargo, la expresión de MTA3 en cáncer de pulmón y su relación con otros factores clínico-patológicos no ha sido a penas evaluada y su papel biológico sobre las células del CPNCP es aún incierto.

Éste ha sido el propósito de esta investigación. Mediante las técnicas de IHQ previamente descritas, se valoró la expresión de MTA3 en las muestras de adenocarcinoma de pulmón resecado. La determinación de MTA3 se pudo llevar a cabo en 107 de las 112 piezas disponibles. La mediana de expresión obtenida en nuestra muestra fue de 2,5 (IQR 0 – 27,50 puntos) con un mínimo de 0 y un máximo de 240 (en una escala de puntuación combinada intensidad-porcentaje de entre 0 y 300 puntos). Considerando como MTA3 positivo la existencia de cualquier tipo de expresión (independientemente de su intensidad de tinción y del porcentaje de células teñidas,) encontramos que un 68,2% de

los casos fueron positivos. En 34 casos (31,8% del total) se evidenció una ausencia de expresión (MTA3 negativo) (Figura 38). Si revisamos en la literatura, son pocas las publicaciones que han valorado la expresión de MTA3 en CPNCP. Destacan la serie de *Li y cols.* (112) publicada en 2012 y la de *Zheng y cols.* (113) un año después. Ambos estudios se han llevado a cabo en población asiática. En la primera serie, con 108 pacientes con CPNCP incluidos, de los cuales el 59% fueron adenocarcinomas, encuentran un porcentaje de expresión de MTA3 del 50% en los adenocarcinomas, algo inferior al de nuestra muestra. Para ello realizan una escala semicuantitativa que combina intensidad y porcentaje de células teñidas, con una puntuación que oscila entre 0 y 8, considerando positivos aquellos casos con puntuación  $\geq 4$  puntos. En la serie de Zheng (113) se incluyeron 118 pacientes con CPNCP. El 58% de los casos fueron adenocarcinomas y el resto de tumores de histología escamosa. En este caso, los autores no especifican la metodología empleada para considerar positiva la expresión de MTA3. Obtienen, un 58% de adenocarcinomas que consideran MTA3 positivos frente al 42% de casos negativos. Estos han sido los primeros estudios de valoración de MTA3 en cáncer de pulmón en los que, contrariamente a lo publicado para otras neoplasias, encuentra una tasa de expresión de la proteína MTA3 significativamente mayor en muestras de CPNCP (59.32%) que en muestras no tumorales (0.00%).

**Figura 38. Tinción IHQ de MTA3 en secciones de adenocarcinoma de pulmón en la muestra (a. ausencia de tinción; b. tinción intensidad 2+).**



Los estudios que evalúan MTA3 en CPNCP, además de analizar su expresión en células tumorales, tratan de establecer si existe una relación entre dicha expresión y otras características clínico-patológicas. Los dos estudios con los que hemos comparado nuestros resultados, realizan el análisis sobre el total de pacientes con CPNCP, sin especificar por histologías. En su estudio, *Zheng* (113) encuentra una mayor tasa de MTA3 en pacientes con metástasis ganglionares frente a los que no presentan afectación ganglionar metastásica, asociación estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ). Por su parte, *Li y cols.* (112), no encuentran relación entre MTA3 elevado y edad ( $p 0,140$ ), género ( $p 0,868$ ), grado histológico ( $p 0,198$ ) ni estadio pT ( $0,156$ ). Sin embargo, observan una asociación significativa entre MTA3 y la existencia de metástasis ganglionares ( $p 0,0009$ ) y mayor estadio tumoral pTNM ( $p < 0,0001$ ). Nuestra muestra no incluye pacientes con afectación ganglionar metastásica en la evaluación patológica (pN0). Tras realizar los estudios de asociación con variables clínico-patológicas, no hemos encontrado relación entre MTA3-positivo y edad ( $p 0,847$ ), género ( $p 0,961$ ), tabaquismo ( $p 0,602$ ), estadio ( $p 0,263$ ;  $0,411$ ;  $0,148$ ), invasión pleural ( $p 0,850$ ), grado nuclear ( $p 0,200$ ;  $0,098$ ), grado histológico ( $p 0,071$ ;  $0,321$ ) ni Ki67 ( $p 0,321$ ). Si que resultó estadísticamente significativa la asociación entre MTA3-positivo y las recurrencias a distancia frente a las locorreccionales (OR 11,66; IC95% 1,896 – 71,796;  $p 0,008$ ).

#### 5.1.2.2. Análisis de la expresión de **E-cadherina** y su relación con variables demográficas y clínico-epidemiológicas.

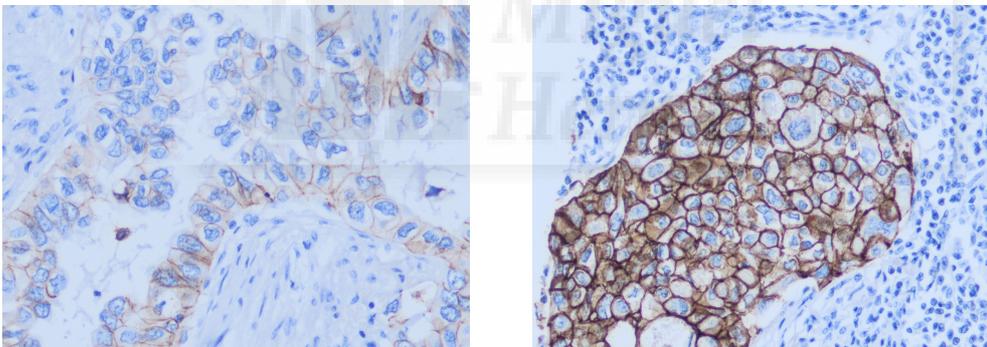
Dos de las principales características de las células malignas son el crecimiento invasivo y la tendencia a metastatizar. Un paso esencial en el proceso de crecimiento invasivo es la pérdida en las uniones intercelulares de las células tumorales (184). Las interacciones entre las células dependen de las moléculas de adhesión celular o CAMs por sus siglas en inglés. Las CAMs se agrupan en 4 familias: integrinas, selectinas, la superfamilia de las inmunoglobulinas y las cadherinas. Las cadherinas, son glicoproteínas

transmembrana que actúan como moléculas de adhesión célula-célula en presencia de calcio y que se unen al citoesqueleto a través de otras proteínas intermediarias, las cateninas. Varios ensayos clínicos en pacientes con diversas neoplasias malignas han demostrado que niveles de expresión reducidos de E-cadherina se asocian con peor grado de diferenciación y mayor capacidad de diseminación ganglionar metastásica (185-187). Sin embargo la relación entre la expresión de E-cadherina y la supervivencia del CPNCP y las variables clínico-patológicas aún no ha sido determinada debido a los resultados contradictorios obtenidos de diversos estudios (188, 189). La mayoría de estos estudios han encontrado una relación inversa entre los niveles de expresión de E-cadherina y la diferenciación celular, las metástasis ganglionares y la supervivencia (119).

En nuestro estudio se valoró mediante técnicas de tinción IHQ, los niveles de expresión de E-cadherina en células neoplásicas de muestras resecadas de adenocarcinoma de pulmón, mediante tinción de membrana. De los 112 pacientes incluidos en el estudio, la técnica pudo ser valorada en 108 muestras (96,5% de los casos). Obtuvimos una distribución normal de esta variable. Establecimos un puntuación (*score*) de 0-300 puntos que combinaba porcentaje de células teñidas e intensidad de tinción. La media de expresión fue de 187,91 puntos (DE 80,72). El 62% de los casos mostró una puntuación mayor a 150. Revisamos la literatura al respecto para establecer un punto de corte en base al cual catalogar los casos en E-cadherina positivo o negativo y encontramos criterios muy diversos e incluso estudios donde no se especificaba la metodología (119, 184, 189-192). En base a los datos que consideramos metodológicamente más correctos decidimos definir para nuestro estudio, un resultado E-cadherina positiva atendiendo exclusivamente a la intensidad de tinción (sin tener en cuenta el porcentaje de células teñidas). Una intensidad de tinción intermedia o alta (2+ y 3+) fue considerada E-cadherina positiva. El resto (1+ o ausencia de expresión) se definieron como casos negativos (Figura 39). Basándonos en este criterio, los pacientes de nuestro estudio se distribuyeron de la siguiente manera: 12 casos negativos (11,1% de la muestra) frente a 96 casos positivos (88,9%). Hemos encontrado un bajo porcentaje de casos en los que se ha perdido la expresión de E-

cadherina pues en la mayoría de series publicadas (193-195) y en el metaanálisis de *Yan y cols.* de 2014 (191) describen una tasa de expresión reducida de E-cadherina del 44-81%. Sin embargo no hay ningún estudio realizado exclusivamente en histología adenocarcinoma. No olvidemos además que los tumores incluidos en nuestra muestra corresponden a estadios muy precoces (pTNM I-II) sin afectación ganglionar, a diferencia de lo que ocurre en el resto de series donde se habían incluido pacientes cuyas neoplasias podían presentar afectación ganglionar metastásica confirmada histológicamente (pTNM I-IIIB). La E-cadherina, como receptor de unión célula-célula, juega un papel clave en la morfogénesis y adhesividad celular. Dado que la pérdida de cohesividad y conexión son primordiales en la capacidad de invasión tumoral, la infraexpresión o pérdida de E-cadherina puede facilitar la invasión tumoral y su metastatización (119) pero es quizá en estadios más precoces de la progresión tumoral donde más conservada esté su expresión.

**Figura 39. Tinción IHQ de E-cadherina en secciones de adenocarcinoma de pulmón en la muestra (a. Tinción de intensidad 1+; b. Tinción de intensidad 3+).**



De igual modo que hemos hecho con MTA3, hemos querido evaluar si existe alguna asociación entre la expresión de E-cadherina y otras características clínico-patológicas. En los estudios publicados en los que se ha evaluado esto, encuentran una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de E-cadherina y el grado de diferenciación (184, 188, 190), el estadio TNM (190) y la afectación ganglionar metastásica (184, 188, 190), siempre haciendo referencia al global de pacientes con CPNCP sin distinguir por histologías. Salvo en el estudio de *Bremnes y cols.*, con 193 pacientes con

estadios I-III (95 escamosos, 73 adenocarcinomas, 10 bronquioloalveolares y 15 carcinomas de célula grande) en el que, a pesar de observar una asociación entre diferenciación y expresión de E-cadherina para el global de pacientes, en el subanálisis por histologías no se pudo demostrar una asociación estadísticamente significativa para los adenocarcinomas (184). Esto mismo ya fue descrito por *Böhm M* en 1994, en un estudio con 52 pacientes con CPNCP en los que describió una asociación entre expresión de E-cadherina y diferenciación tumoral en los tumores escamosos pero no en los adenocarcinomas (196).

En nuestra muestra, no se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa entre la expresión de E-cadherina y edad, género, tabaquismo, estadio patológico, invasión pleural, grado histológico, grado nuclear, Ki67 ni recidiva. Al no incluir pacientes con afectación ganglionar metastásica no se ha valorado esta asociación que con tanta frecuencia se describe en la literatura.

## **5.2. Discusión respecto al análisis de supervivencia.**

### **5.2.1. Discusión respecto al análisis de la supervivencia libre de enfermedad (SLE).**

La mediana de tiempo de seguimiento en el estudio fue de 59,73 meses (IQR 44,78 – 82,65). Se definió la SLE como el tiempo transcurrido desde la intervención quirúrgica hasta la recidiva tumoral, metástasis o fallecimiento del paciente. La mediana de SLE fue de 49,5 meses. En el global de pacientes la SLE a 1, 2 y 5 años fue de 92, 87 y 63 % respectivamente. Durante el seguimiento, se registraron 39 eventos en relación con recidiva de la enfermedad (39 recidivas de 112 casos, 35%). De estos, el 72% (28 casos) fallecieron por su enfermedad, 4 están vivos con enfermedad (10%) y 7 (18%) fueron tratados con éxito de sus recidivas.

En el 41% de los pacientes que recidivaron (16 casos), la recidiva ocurrió durante los dos primeros años tras la intervención. De estas, el 75% (12 casos) fueron recidivas a distancia, y sólo en 4 casos la recidiva fue

locorregional. La incidencia de recurrencias fue disminuyendo con el tiempo (sólo se registró una recidiva cinco o más años después de la intervención quirúrgica). Según los datos disponibles, entre el 20%-40% de los pacientes que se someten a una resección completa con estadios patológicos IA-IIIB de CPNCP desarrollaran recidiva locorregional o a distancia. Estos pacientes tienen una *hazard ratio* constante de recurrencia de la enfermedad del 6-7% por paciente y año durante los primeros 4 años, cayendo al 2% por paciente y año posteriormente (197).

Tratamos de comparar nuestros resultados con los publicados hasta el momento. Ha sido difícil encontrar series de pacientes con similares características. La mayoría de estudios publicados están realizados sobre población asiática y/o incluyen todas las histologías de CPNCP. Entre los estudios en población occidental, destaca el publicado en 1995 por *Martini N.* (198) del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center de Nueva York. Es un amplio estudio con casi 600 pacientes con CPNCP resecado en estadio I. Evalúan, entre otras cosas, los patrones de recurrencia y la supervivencia libre de enfermedad y encuentran una tasa de recidivas del 27% (inferior a la encontrada en nuestra serie), que ocurren fundamentalmente en los dos primeros años tras la intervención. Respecto al tipo de recidiva, en un 72% de los casos ésta fue a distancia, similar a la registrada en nuestra serie. Ya centrados en población oriental, encontramos publicaciones que describen unas tasas de recidiva que oscilan entre el 25-50% (199, 200), predominantemente a distancia (60%) con una SLE a 5 años de entre 61-84% en pacientes con CPNCP resecados en estadios iniciales (pN0). En el estudio coreano de *Koo Hk y cols.* (201), analizan además el papel de la histología como factor pronóstico de recurrencia y encuentran una mayor tasa de recurrencia para el subtipo adenocarcinoma (OR, 2.74; 95% CI, 1.14-6.58; P=0.024) frente al resto de histologías lo que quizá ayude a justificar la tasa de recidiva del 41% que encontramos en nuestro estudio.

Realizamos un **análisis univariante** para identificar posibles factores pronósticos que influyen en la supervivencia libre de enfermedad de nuestra muestra. No encontramos ninguna resultado estadísticamente significativo en ninguna de las variables clínico-patológicas. No ocurre igual en los estudios

que hemos revisado sobre recidiva en estadios precoces. En ellos la presencia de invasión pleural, la histología de adenocarcinoma (200, 201), el tipo de resección (sublobar), el descriptor T mayor (78, 198) y el subtipo histológico (sólido) se han asociado a un mayor riesgo de recidiva. Se han publicado incluso estudios que evaluaban el papel de nomogramas con escalas de riesgo para predecir recidiva en adenocarcinomas resecaos en estadios precoces (202). Quizá el pequeño tamaño muestral de nuestro estudio no permita detectar esta asociación. Dado que ninguna variable resultó significativa, no tuvo cabida un análisis multivariante.

### 5.2.2. Discusión respecto al análisis de la supervivencia global (SG).

La supervivencia global se define como el tiempo transcurrido desde la intervención hasta el fallecimiento del paciente o pérdida de seguimiento. Al menos el 50% de los pacientes tuvieron un seguimiento de 5 o más años desde la intervención. Durante el período de seguimiento se registraron 43 fallecimientos. La principal causa de muerte fue el tumor (65% de los casos), 19 de los cuales habían presentado metástasis a distancia. Un tercio de los pacientes no fallecieron por motivos directamente relacionados con la enfermedad. La tasa de supervivencia a 1, 2 y 5 años fue del 96, 87 y 69%, con una mediana de SG de 58,87 meses, rozando los 5 años. La supervivencia en nuestra muestra es equiparable a la publicada en datos epidemiológicos de 2012 para CPNCP (67) en los que la mediana de SG a 5 años oscila entre 58-73% para estadios I (pTNM) y 36-46% para estadios II. La principal causa de muerte en los pacientes con CPNCP son la recidivas a distancia de la enfermedad, más frecuentes durante los 4 primeros años (197).

Se llevó a cabo un **análisis univariante** en busca de factores pronósticos que se asocien a la supervivencia de nuestros pacientes. Los resultados de este análisis nos mostraron diferencias estadísticamente significativas en una variable relacionada con el paciente como fue la edad.

La **edad** tuvo impacto en la supervivencia, de forma que a edad más avanzada aumenta el riesgo de muerte en nuestra serie de forma estadísticamente significativa (HR 2,213, p 0,009). La edad es un factor pronóstico de

supervivencia controvertido en la actualidad, por la disparidad de resultados encontrados hasta la fecha. En el estudio holandés de *van Rens* se evaluó el pronóstico de más de 2.300 pacientes con CPNCP operados con estadios I-IIIa (203). Analizan el impacto de la estadificación TNM y otros factores clínicos en la supervivencia. Con respecto a la edad encuentran que, hasta los primeros cuatro años tras la intervención, la edad no impacta en la supervivencia; sin embargo, tras cinco años, los pacientes mayores de 65 años tienen una significativa menor supervivencia. Otros estudios, como el canadiense de *Pelletier y cols.*, o el de *Lyons G.*, no encuentran en el análisis univariante para el subgrupo de pacientes resecaos pN0, que la supervivencia sea significativamente afectada por la edad (204, 205). En nuestra serie, los pacientes mayores de 70 años tienen un mayor riesgo de muerte.

El resto de variables, dependientes del tumor o del tratamiento, no se asociaron significativamente con la supervivencia en el análisis univariante. Sin embargo, el tipo de resección quirúrgica, el tipo de recidiva y la expresión de E-cadherina mostraron una tendencia de asociación con nivel  $p < 0.1$ . Debido a la relevancia que estas variables han demostrado en cuanto a su asociación con el pronóstico de los estadios precoces de cáncer de pulmón (78, 198, 204), decidimos incluirlas junto con la edad en el análisis multivariante.

En cuanto al tipo de resección quirúrgica llevada a cabo, la lobectomía ha demostrado menor mortalidad perioperatoria y mayor supervivencia a largo plazo frente a la neumonectomía (Lobectomía 58.43%, vs neumonectomía 32.14%  $p = 0.0002$ ) (206).

Las recidivas a distancia son la principal causa de mortalidad por CPNCP, incluso en estadios precoces de la enfermedad. La mayoría tienen lugar en los primeros dos años tras la resección (197).

Las E-cadherinas son glicoproteínas transmembrana encargadas de la adhesión intercelular. Su expresión regulada controla la polaridad celular y la morfología tisular. Para mantener la integridad y el fenotipo epitelial, es necesaria la expresión constitutiva de las E-cadherinas. Su expresión reducida se ha podido comprobar en diversas neoplasias, incluido el CPNCP, y en éste, se ha asociado a la desdiferenciación tumoral, la metastatización ganglionar y un peor pronóstico en términos de supervivencia (188, 189, 207, 208).

Con esto, se completó el **análisis multivariante** e identificamos 4 variables que son factores independientes con efecto sobre la supervivencia de forma estadísticamente significativa.

En nuestro estudio, son factores que condicionan un peor pronóstico en términos de supervivencia la edad, la recidiva a distancia y la baja expresión de E-cadherina. El tipo de cirugía distinto a la neumonectomía es un factor protector asociado a mejor supervivencia en nuestra serie (Tabla 44).

**Tabla 44. Variables estadísticamente significativas en el análisis multivariante para SG.**

Variable	HR	Tipo de factor
Edad	4,583	Riesgo
Recidiva a distancia	5,843	Riesgo
E-cadherina Negativo	10,099	Riesgo
No neumonectomía	0,028	Protector

### 5.3. Debilidades del estudio.

Conviene tener en cuenta una serie de circunstancias en el momento de interpretar nuestros resultados. Circunstancias que pueden limitar el valor de los mismos.

Se trata de un estudio retrospectivo, observacional y unicéntrico, lo que puede condicionar que la muestra seleccionada no sea representativa de una población normal de adenocarcinoma de pulmón y, se halle entonces sujeta a sesgos de selección. No obstante, es conveniente remarcar que las características de nuestra población fueron globalmente similares a las descritas en la literatura.

Se debe tener en cuenta también, que el tamaño de la muestra es pequeño (n=112) debido, entre otros, a limitaciones relacionadas con el tamaño de la población del área de referencia, y a los estrictos criterios de selección aplicados. A pesar de ello se han obtenido diferencias significativas en algunas

variables a estudio.

Como ya se comentó anteriormente, alguno de los marcadores empleados en nuestro estudio son de aplicación exclusiva en investigación, por lo que su utilización en la práctica clínica no está estandarizada.

#### **5.4. Fortalezas del estudio.**

No obstante lo anterior, el estudio posee algunas características que hacen que sus resultados merezcan ser tenidos en cuenta y puedan ser replicados en otras series.

A pesar de sus limitaciones, un estudio observacional y retrospectivo tiene, entre otras ventajas, la capacidad de medir frecuencias (incidencia) de las variables a estudio así como la fuerza de asociación entre ellas.

La revisión de historias clínicas para la obtención de datos ha sido realizada por un único investigador, con el objetivo de conseguir la máxima homogeneidad de los criterios subjetivos y mejorar la consistencia de los datos.

El seguimiento de los pacientes se ha llevado a cabo con absoluto rigor, no existiendo además pérdidas de seguimiento y, en los casos en los que fue necesario, se completó la información clínica con llamadas telefónicas a pacientes.

Para corregir el efecto de las comparaciones múltiples se ha llevado a cabo el test más exigente, la prueba de Bonferroni, por lo que los hallazgos significativos encontrados es muy probable que realmente lo sean.



## 6.- CONCLUSIONES

---





1. En los pacientes con adenocarcinoma de pulmón reseado en estadios precoces predomina la expresión de MTA3 aunque ésta es de baja intensidad (mediana 2,5 puntos, rango 0-240).
2. Los pacientes con adenocarcinoma de pulmón reseado en estadios precoces presentan una elevada expresión de E-cadherina.
3. Las características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio se asemejan a las descritas en otras series publicadas.
4. La mayor expresión de MTA3 no se asocia con la supervivencia de los pacientes.
5. La menor expresión de E-cadherina no muestra ninguna asociación con la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes.
6. Se demuestra que la menor expresión de E-cadherina está asociada con una peor supervivencia global, de forma que los individuos con una baja expresión de la misma presentan una menor tasa de supervivencia que los que tienen una alta expresión, en la población con adenocarcinoma de pulmón reseado en estadios precoces (HR 10,099 IC95% HR 1,734 – 58,800 p 0,010).
7. La expresión de MTA3 presenta una asociación estadísticamente significativa con la recidiva a distancia de la enfermedad. Los pacientes con recidiva a distancia tienen mayor probabilidad de expresar MTA3 que los que presentan recidiva locorregional exclusiva (HR 11,66 IC95% HR 1,896 – 71,796 p 0,008).
8. La menor expresión de E-cadherina no se asoció con ninguna de las variables clínicas ni patológicas analizadas.
9. No existe una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de MTA3 y la menor expresión de E-cadherina.



## 7.- BIBLIOGRAFÍA

---





1. Janssen-Heijnen MLG, Coebergh JWW. The changing epidemiology of lung cancer in Europe. Vol. 41, Lung Cancer. 2003. p. 245–58.
2. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ, et al. Second ESMO consensus conference on lung cancer: Pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2014;25(9):1681–90.
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase. No. 11 [Internet]. Vol. 11, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2013. p. <http://globocan.iarc.f>.
4. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics , 2012. *CA Cancer J Clin*. 2012;62:10–29.
5. Galcerán J, Ameijide A, Carulla M, et al. Estimaciones de la incidencia y la supervivencia del cáncer en España y su situación en Europa. *Redecan*. 2014; *Clin Trans Oncol* 2015;
6. Gandini S, Botteri E, Iodice S, et al. Tobacco smoking and cancer: A meta-analysis. *Int J Cancer*. 2008;122(1):155–64.
7. Cancer IA for R on. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. Monograph. 2004;83.
8. Siemiatycki J. Investigating cancer risks related to asbestos and other occupational carcinogens. *Occup Environ Med* 2007;64(8):500–1.
9. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE-5;a population-based study. *Lancet Oncol* 2016;15(1):23–34.
10. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, et al. EURO CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer*. 2009;45(6):931–91.
11. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer. *Chest* 2003;123(1 Suppl):21S–49S.

12. Doll R, Hill AB. Smoking and Carcinoma of the Lung. *Br Med J* 1950;2(4682):739–48.
13. Doll R, Peto R, Boreham J, et al. Mortality from cancer in relation to smoking: 50 years observations on British doctors. *Br J Cancer* [Internet] 2005;92(3):426–9. Disponible en: <http://www.bmj.com>.
14. Boffetta P, Harris RE, Wynder EL. Case-control study on occupational exposure to diesel exhaust and lung cancer risk. *Am J Ind Med* 1990;17(5):577–91.
15. Samet JM. Health benefits of smoking cessation. *Clin Chest Med*. 1991;12(4):669–79.
16. Newcomb PA, Carbone PP. The health consequences of smoking. *Cancer. Med Clin North Am*. 1992;76(2):305–31.
17. Blumenschein GR, Reckamp K, Stephenson GJ, et al. Phase 1b study of motesanib, an oral angiogenesis inhibitor, in combination with carboplatin/paclitaxel and/or panitumumab for the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(1):279–90.
18. Janerich DT, Thompson WD, Varela LR, et al. Lung cancer and exposure to tobacco smoke in the household. *N Engl J Med* 1990;323(10):632–6.
19. Mahabir S, Spitz MR, Barrera SL, et al. Dietary zinc, copper and selenium, and risk of lung cancer. *Int J Cancer* 2007;120(5):1108–15.
20. Pope CA, Bates DV, Raizenne ME. Health effects of particulate air pollution: Time for reassessment? *Environ Health Perspect* 1995;103(5):472–80.
21. Olsson A, Gustavsson P, Zaridze D, et al. Lung Cancer Risk Attributable to Occupational Exposures in a Multicenter Case-Control Study in Central and Eastern Europe 2011. *J Occup Environ Med*. 2011;53:1262–7.
22. Darby S, Hill D, Auvinen A, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ* 2005;330(7485):223.

23. Grosche B, Kreuzer M, Kreisheimer M, et al. Lung cancer risk among German male uranium miners: a cohort study, 1946-1998. *Br J Cancer* 2006;95(9):1280-7.
24. Badorrey MI, Monso E, Teixido A, et al. Frequency and risk of bronchopulmonary neoplasia related to asbestos. *Med Clin* 2001;117(1):1-6.
25. Hammond EC, Selikoff IJ, Seidman H. Asbestos exposure, cigarette smoking and death rates. *Ann N Y Acad Sci.* 1979;330(1):473-790.
26. Miller AB, Altenburg H-P, Bueno-de-Mesquita B, et al. Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer* 2004;108(2):269-76.
27. The ATBC Cancer Prevention Study Group. The alpha-tocopherol, beta-carotene lung cancer prevention study: design, methods, participant characteristics, and compliance. The ATBC Cancer Prevention Study Group. *Ann Epidemiol* 1994;4(1):1-10.
28. Cutler GJ, Nettleton JA, Ross JA, et al. Dietary flavonoid intake and risk of cancer in postmenopausal women: The Iowa Women's Health Study. *Int J Cancer* 2008;123(3):664-71.
29. Brennan P, Hsu CC, Moullan N, et al. Effect of cruciferous vegetables on lung cancer in patients stratified by genetic status: A mendelian randomisation approach. *Lancet.* 2005;366(9496):1558-60.
30. Holick CN, Michaud DS, Stolzenberg-Solomon R, et al. Dietary carotenoids, serum b-carotene, and retinol and risk of lung cancer in the alpha-tocopherol, beta-carotene cohort study. *Am J Epidemiol.* 2002;156(6):536-47.
31. Olson JE, Yang P, Schmitz K, et al. Differential association of body mass index and fat distribution with three major histologic types of lung cancer: evidence from a cohort of older women. *Am J Epidemiol.* 2002;156(7):606-15.
32. Hubbard R, Venn A, Lewis S, et al. Lung cancer and cryptogenic fibrosing

- alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):5–8.
33. Gianni G, Chimlan R, Qiao Z. CYP2D6 and GSTM1 genetic polymorphism and lung cancer susceptibility. *Chinese J Oncol*. 1998;20(3):185–6.
  34. Matakidou A. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. *Br J Cancer* 2005;93(7):825–33.
  35. Jonsson S, Thorsteinsdottir U, Gudbjartsson DF, et al. Familial risk of lung carcinoma in the Icelandic population. *JAMA* 2004;292(24):2977–83.
  36. Seifert EJ. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 5th Edition Vincent T. DeVita, Jr., Samuel Hellman, Steven A. Rosenberg. *JNCI J Natl Cancer Inst* 1997;89(6):353–353.
  37. Patel AM, Peters SG. Clinical manifestations of lung cancer. *Mayo Clin Proc*. 1993;68:273–7.
  38. Chute CG. GE. Presenting conditions of 1539 population-based lung cancer patients by cell type and stage in New Hampshire and Vermont. *Cancer J*. 1985;56(8):2105–7.
  39. Chen H-C, Jen Y-M, Wang C-H, et al. Etiology of vocal cord paralysis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2007;69(3):167–71.
  40. Chernow B, Sahn SA. Carcinomatous involvement of the pleura. An analysis of 96 patients. *Am J Med*. 1977;63(5):695–702.
  41. Kvale, PA, Simoff M, PU et al. Lung cancer. Palliative care. *Chest*. 2003;123:284S–311S.
  42. Rowell NP, Gleeson F V. Steroids, radiotherapy, chemotherapy and stents for superior vena caval obstruction in carcinoma of the bronchus: A systematic review. Vol. 14, *Clinical Oncology*. 2002. p. 338–51.
  43. Yeung S-CJ, Habra MA, Thosani SN. Lung cancer-induced paraneoplastic syndromes. *Curr Opin Pulm Med* 2011;17(4):260–8.
  44. García-Campelo R, Bernabé R, Cobo M, et al. SEOM clinical guidelines

- for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) 2015. *Clin Transl Oncol*. 2015;17(12):1020–9.
45. Donado JR. En: *Guía Clínica. Diagnóstico y tratamiento del cáncer de pulmón*. Oncosur Grup Trab oncológico centros Hosp del sur Madrid. 2007.
  46. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *J Thorac Oncol* 2015;10(9):1243–60.
  47. Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The Revised TNM Staging System for Lung Cancer. Vol. 15, *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2009. p. 4–9.
  48. Sánchez de Cos J, Hernández Hernández J, Jiménez López MF, et al. Normativa SEPAR sobre estadificación del cancer de pulmon. *Arch Bronconeumol*. 2011;47(9):454–65.
  49. Mountain CF, Dresler CM. Regional lymph node classification for lung cancer staging. *Chest* 1997;111(6):1718–23.
  50. Ginsberg RJ, Rubinstein L V. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 1995;60(3):615–23.
  51. El-Sherif A, Gooding WE, Santos R, et al. Outcomes of Sublobar Resection Versus Lobectomy for Stage I Non-Small Cell Lung Cancer: A 13-Year Analysis. *Ann Thorac Surg*. 2006;82(2):408–16.
  52. Wang EH, Corso CD, Rutter CE, et al. Postoperative Radiation Therapy Is Associated With Improved Overall Survival in Incompletely Resected Stage II and III Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2015;33(25):2727–34.
  53. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti G V, et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: A pooled analysis by the LACE collaborative group. *J Clin Oncol*. 2008;26(21):3552–9.

54. Song DY, Kavanagh BD, Benedict SH, et al. Stereotactic body radiation therapy. Rationale, techniques, applications, and optimization. *Oncology (Williston Park)* 2004;18(11):1419-30, 1432, 1435-6.
55. Katoh N., Soda I. TH et al. Clinical outcomes of stage I and IIA non-small cell lung cancer patients treated with stereotactic body radiotherapy using a real-time tumor-tracking radiotherapy system. *Radiat Oncol.* 2017;12(1):3.
56. Powell JW, Dexter E, Scalzetti EM, et al. Treatment advances for medically inoperable non-small-cell lung cancer: emphasis on prospective trials. *The Lancet Oncology.* 2009;10:885-94.
57. Aupérin A, Le Péchoux C, Rolland E, et al. Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(13):2181-90.
58. Pritchard RS, Anthony SP. Chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone in the treatment of locally advanced, unresectable, non-small-cell lung cancer. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1996;125(9):723-9.
59. Burdett S, Stewart L, Rydzewska. Chemotherapy and surgery versus surgery alone in non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(3).
60. Kelly K, Chansky K, Gaspar LE, et al. Phase III trial of maintenance gefitinib or placebo after concurrent chemoradiotherapy and docetaxel consolidation in inoperable stage III non-small cell lung cancer. SWOGS0023. *J Clin Oncol.* 2008;26:2450-6.
61. Rapp E, Pater JL, Willan A, et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer--report of a Canadian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol.* 1988;6(4):633-41.
62. Rosell R, Viteri S, Molina MA, et al. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as first-line treatment in advanced nonsmall-cell lung cancer. *Curr Opin Oncol* 2010;22(2):112-20.

63. Rosell R, Moran T, Carcereny E, et al. Non-small-cell lung cancer harbouring mutations in the EGFR kinase domain. *Clin Trans Oncol*. 2010;12:75–80.
64. Rosell R, Moran T, Cardenal F, et al. Predictive biomarkers in the management of EGFR mutant lung cancer. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1210(1):45–52.
65. Feuer EJ CK (eds). National Cancer Institute SEER Cancer Statistics Review 1975-2012. *Natl Cancer Inst* 2015;103(7):1975–2012.
66. Tanoue LT, Detterbeck FC. New TNM classification for non-small-cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2009;9(4):413–23.
67. Paesmans M. Prognostic and predictive factors for lung cancer. *Breathe*. 2012;9(2):113–22.
68. Marcos M, Martínez E, Meiriño R, et al. Factores pronósticos del cáncer de pulmón Prognostic factors in lung cancer. 2001;24:83–97.
69. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987;40(5):373–83.
70. Braun DP, Gupta D, Staren ED. Quality of life assessment as a predictor of survival in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2011;11:353.
71. Nakamura H, Ando K, Shinmyo T, et al. Female gender is an independent prognostic factor in non-small-cell lung cancer: A meta-analysis. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2011;17(5):469–80.
72. Ban W, Lee JM, Ha JH, et al. Dyspnea as a Prognostic Factor in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. 2016;57(5):1063–9.
73. CF. M. Lung cancer classification: the relationship of disease extent and cell type to survival in clinical trials population. *J Surg Oncol*. 1987;35:147–56.
74. Strand T-E, Rostad H, Møller B, et al. Survival after resection for primary lung cancer: a population based study of 3211 resected patients. *Thorax*.

- 2006;61(8):710–5.
75. Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer: A decade of progress. *Chest* 2002;122(3):1037–57.
  76. Chansky K, Sculier J-P, Crowley JJ, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project. *J Thorac Oncol* 2009;4(7):792–801.
  77. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Mod Pathol* 2011;24(5):653–64.
  78. Warth A, Muley T, Meister M, et al. The novel histologic International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification system of lung adenocarcinoma is a stage-independent predictor of survival. *J Clin Oncol*. 2012;30(13):1438–46.
  79. Paesmans M. Facteurs pronostiques du cancer bronchique. *Rev Mal Respir [Internet]*. 2005;22:8S760-80. Disponible en: <http://www.em-consulte.com/rmr/article/157304>.
  80. Yanagi S, Sugiura H, Morikawa T, et al. Tumor size does not have prognostic in stage Ia NSCLC [Abstract]. *Anticancer Res*. 2000;20(2B):1155–8.
  81. Pujol J-L, Molinier O, Ebert W, et al. CYFRA 21-1 is a prognostic determinant in non-small-cell lung cancer: results of a meta-analysis in 2063 patients. *Br J Cancer* 2004;90(11):2097–105.
  82. Sato Y, Fujimoto D, Uehara K, et al. The prognostic value of serum CA 19-9 for patients with advanced lung adenocarcinoma. *BMC Cancer*. 2016;16(1):890.
  83. Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, et al. Primary tumor standardized uptake value measured on fluorodeoxyglucose positron emission tomography is of prognostic value for survival in non-small cell lung

- cancer: update of a systematic review and meta-analysis by the European Lung Cancer Working Part. *J Thorac Oncol* 2010;5(5):612–9.
84. García Luján R, Conde Gallego E, López Ríos F, et al. Prognostic value study of lung cancer molecular markers. *Med Clin (Barc)* 2009;132(14):529–36.
85. Oka S, Uramoto H, Shimokawa H, et al. The expression of Ki-67, but not proliferating cell nuclear antigen, predicts poor disease free survival in patients with adenocarcinoma of the lung. *Anticancer Res [Internet]*. 2011;31(12):4277–82.
86. Chen H-Y, Yu S-L, Chen C-H, et al. A five-gene signature and clinical outcome in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2007;356(1):11–20.
87. Zhu CQ, Shih W, Ling CH, et al. Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation. *J Clin Pathol*. 2006;59:790–800.
88. Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O, et al. K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 1990;323(9):561–5.
89. Inoue D, Suzuki T, Miitsuishi Y, et al. P62/SQSTM1 accumulation is associated with poor prognosis of lung adenocarcinoma patients. *Cancer Sci*. 2012; 103:760-766.
90. Yang P, Allen MS, Aubry MC, et al. Clinical features of 5,628 primary lung cancer patients: Experience at Mayo Clinic from 1997 to 2003. *Chest*. 2005;128(1):452–62.
91. Youn BS, Kim CH, Smith FO, et al. TECK, an efficacious chemoattractant for human thymocytes, uses GPR-9-6/CCR9 as a specific receptor. *Blood [Internet]*. 1999;94(7):2533–6.
92. Svensson M, Agace WW. Role of CCL25/CCR9 in immune homeostasis and disease. *Expert Rev Clin Immunol [Internet]*. 2006;2:759–73.

93. Uehara S, Grinberg A, Farber JM, et al. A role for CCR9 in T lymphocyte development and migration. *J Immunol*. 2002;168(6):2811–9.
94. Singh R, Stockard CR, Grizzle WE, et al. Expression and histopathological correlation of CCR9 and CCL25 in ovarian cancer. *Int J Oncol*. 2011;39(2):373–81.
95. Johnson EL, Singh R, Singh S, et al. CCL25-CCR9 interaction modulates ovarian cancer cell migration, metalloproteinase expression, and invasion. *World J Surg Oncol* 2010;8:62.
96. Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [Abstract]. *Nature* 2001;410(6824):50–6.
97. Gupta P, Sharma PK, Mir H, et al. CCR9/CCL25 expression in non-small cell lung cancer correlates with aggressive disease and mediates key steps of metastasis. *Oncotarget* 2014;5(20):10170–9.
98. Li B, Wang Z, Zhong Y, et al. CCR9-CCL25 interaction suppresses apoptosis of lung cancer cells by activating the PI3K/Akt pathway. *Med Oncol*. 2015;32(3):66.
99. Zhong Y, Jiang L, Lin H, et al. Expression of CC chemokine receptor 9 predicts poor prognosis in patients with lung adenocarcinoma. *Diagn Pathol* 2015;10:101.
100. Fan J, Zhang L, Wang QL, et al. Chemokine receptor 9 high-expression involved in the migration and invasion of the non-small-cell lung cancer cells. *Asian Biomed*. 2011;5(1).
101. Manavathi B, Singh K, Kumar R. MTA family of coregulators in nuclear receptor biology and pathology. *Nucl Recept Signal* 2007;5:e010.
102. Nicolson GL. Differential organ tissue adhesion, invasion, and growth properties of metastatic rat mammary adenocarcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat [Abstract]*. 1988;12(2):167–76.
103. Nicolson GL. Organ specificity of tumor metastasis: role of preferential adhesion, invasion and growth of malignant cells at specific secondary

- sites [Abstract]. *Cancer metastasis Rev.* 1988;7(2):143–88.
104. Fujita N, Jaye DL, Kajita M, et al. MTA3, a Mi-2/NuRD complex subunit, regulates an invasive growth pathway in breast cancer. *Cell* 2003;113(2):207–19.
  105. Fujita N, Kajita M, Taysavang P, et al. Hormonal regulation of metastasis-associated protein 3 transcription in breast cancer cells. *Mol Endocrinol* 2004;18(12):2937–49.
  106. Zhang Y, LeRoy G, Seelig HP, et al. The dermatomyositis-specific autoantigen Mi2 is a component of a complex containing histone deacetylase and nucleosome remodeling activities. *Cell*. 1998;95:279–89.
  107. Xue Y, Wong J, Moreno GT, et al. NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell* 1998;2(6):851–61.
  108. Mishra SK, Talukder AH, Gururaj AE, et al. Upstream determinants of estrogen receptor- $\alpha$  regulation of metastatic tumor antigen 3 pathway. *J Biol Chem*. 2004;279(31):32709–15.
  109. Shi Y, Wu H, Zhang M, et al. Expression of the epithelial-mesenchymal transition-related proteins and their clinical significance in lung adenocarcinoma. *Diagn Pathol* 2013;8(1):89.
  110. Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, et al. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol*. 2006;172(7):973–81.
  111. Kang Y, Massagué J. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. *Cell*. 2004;118:277–9.
  112. Li H, Sun L, Xu Y, et al. Overexpression of MTA3 Correlates with Tumor Progression in Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS One*. 2013;8(6).
  113. Zheng S, Du Y, Chu H, et al. Analysis of MTA3 gene expression in NSCLC. *Diagn Pathol* 2013;8(1):166.
  114. Kalluri R, Weinberg RA. Review series The basics of epithelial-

- mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2009;119(6):1420–8.
115. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003;112:1776–84.
  116. Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009;119:1429–37.
  117. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002;2(6):442–54.
  118. Tepass U, Truong K, Godt D, et al. Cadherins in embryonic and neural morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2000;1(2):91–100.
  119. Qiu Z-X, Zhao S, Li L, et al. Prognostic value and clinicopathological significance of epithelial cadherin expression in non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer* 2015;6(5):589–96.
  120. Nass SJ, Herman JG, Gabrielson E, et al. Aberrant methylation of the estrogen receptor and E-cadherin 5 CpG islands increases with malignant progression in human breast cancer. *Cancer Res*. 2000;60(16):4346–8.
  121. Ihara A, Koizumi H, Hashizume R, et al. Expression of epithelial cadherin and alpha- and beta-catenins in nontumoral livers and hepatocellular carcinomas. *Hepatology* [Internet]1996;23:1441–7. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/hep.510230621/asset/510230621ftp.pdf?v=1&t=j2px7klj&s=f19e792d1619a9dc8acf12b2a3d3e6f666fb9ea1>.
  122. Birchmeier W, Behrens J. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. *Biochim Biophys Acta* 1994;1198:11–26.
  123. Gottardi CJ, Wong E, Gumbiner BM. E-cadherin suppresses cellular transformation by inhibiting  $\beta$ -catenin signaling in an adhesion-independent manner. *J Cell Biol*. 2001;153(5):1049–59.
  124. Blanco MJ, Moreno-Bueno G, Sarrio D, et al. Correlation of Snail expression with histological grade and lymph node status in breast

- carcinomas. *Oncogene* 2002;21(20):3241–6.
125. Yokoyama K, Kamata N, Hayashi E, et al. Reverse correlation of E-cadherin and snail expression in oral squamous cell carcinoma cells in vitro. *Oral Oncol.* 2001;37(1):65–71.
  126. Surgeons SS of T. STS General Thoracic Surgery Database Data Specifications version 2.3. [Internet] 2011. Disponible en: <https://www.sts.org/quality-research-patient-safety/national-database/database-managers/general-thoracic-surgery-databa-1>.
  127. Herbert WH. Cigarette smoking and arteriographically demonstrable coronary artery disease. *Chest.* 1975;67(1):49–52.
  128. Rimm DL, Camp RL, Charette LA. Tissue microarray: a new technology for amplification of tissue resources. *Cancer J.* 2001;7(1):24–31.
  129. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. “Arrays of tissue pieces (1000 samples/array)” Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med.* 1998;4(7):844–7.
  130. Parsons M, Grabsch H. How to make tissue microarrays. *Diagnostic Histopathol.* 2009;15(3):142–50.
  131. Halperin EC. Paleo-oncology: the role of ancient remains in the study of cancer. *Perspect Biol Med.* 2004;47(1):1–14.
  132. Lain P. *Historia de la Medicina*. Masson, editor. 1998.
  133. Hipocrates. *Sobre las enfermedades de las mujeres. Tratados Hipocráticos Vol IV*. Madrid: Ed. Gredos; 1988.
  134. Virchow R. Ueber Makroglossie und pathologische Neubildung quergestreifter Muskelfasern [Abstract]. *Arch für Pathol Anat und Physiol und für Klin Med.* 1854;7(1):126–38.
  135. J. C. Ueber entzündung und eiterung. *Path Anat Physiol Klin Med.* 1867;40:1–79.
  136. *Las Cifras del cáncer en España. 2017 SEOM*. Depósito Legal: M-2172-

- 2017.
137. Baldwin DR, White B, Schmidt-Hansen M, et al. Diagnosis and treatment of lung cancer: summary of updated NICE guidance. *Br Med J* 2011;342(apr27 1):d2110.
  138. Tsuboi M, Ohira T, Saji H, et al. The present status of postoperative adjuvant chemotherapy for completely resected non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2007;13(2):73–7.
  139. Lyons G, Quadrelli S, Chimondegy D, et al. Tumor size and survival in lung cancer, stage IA. *Medicina (B Aires)* 2008;68(1):23–30.
  140. Ceribelli A, Pino MS. Gender differences: implications for clinical trials and practice. *J Thorac Oncol.* 2007;2(5 Suppl):S15-8.
  141. Wünsch Filho V, Mirra AP, López RVM, et al. WHO report on the global tobacco epidemic: Raising taxes on tobacco. *World Heal Organ* 2010;13(1):175–87.
  142. Butts CA, Ding K, Seymour L, et al. Randomized phase III trial of vinorelbine plus cisplatin compared with observation in completely resected stage IB and II non-small-cell lung cancer: Updated survival analysis of JBR-10. *J Clin Oncol.* 2010;28(1):29–34.
  143. Arriagada R, Dunant A, Pignon JP, et al. Long-term results of the international adjuvant lung cancer trial evaluating adjuvant cisplatin-based chemotherapy in resected lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(1):35–42.
  144. Sendino R, Álvares E, Brime B, et al. Informe 2015: Alcohol, Tabaco y Drogas ilegales en España. *Obs Español la Drog y las Toxicom Minist Sanid y Serv Soc* 2016;72.
  145. Ministerios de Sanidad SS e I. Encuesta Nacional de Salud de España 2011/12. Ministerios de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. 2011.
  146. Vansteenkiste J, Crino L, Dooms C, et al. 2nd ESMO consensus conference on lung cancer: Early-stage non-small-cell lung cancer consensus on diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.*

- 2014;25(8):1462–74.
147. Van Schil PE, Asamura H, Rusch VW, et al. Surgical implications of the new IASLC/ ATSE/ERS adenocarcinoma classification. *Eur Respir J* 2012;39:478–86.
  148. Rami-Porta R, Tsuboi M. Sublobar resection for lung cancer . *Eur Respir J*. 2009;33:426–35.
  149. Fan J, Wang L, Jiang G-N, et al. Sublobectomy Versus Lobectomy for Stage I Non-Small-Cell Lung Cancer, A Meta-Analysis of Published Studies. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:661–8.
  150. Yang XN., Zhao ZR, Zhong WZ, et al. A lobe-specific lymphadenectomy protocol for solitary pulmonary nodules in non-small-cell lung cancer. *Chin J Cancer Res*. 2015;27(6):538–44.
  151. Shien K, Toyooka S, Soh J, et al. Lower lobe origin is poor prognostic factor in locally advanced non-small-cell lung cancer patients treated with induction chemoradiotherapy. *Mol Clin Oncol*. 2015;3(3):706–12.
  152. Puri V, Garg N, Engelhardt EE, et al. Tumor location is not an independent prognostic factor in early stage non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2010;89(4):1053–9.
  153. Ichinose Y, Kato H, Koike T, et al. Completely resected stage IIIA non-small cell lung cancer: the significance of primary tumor location and N2 station. *J Thorac Cardiovasc Surg* [2001;122(4):803–8.
  154. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of Malignant Tumours. *J Thorac Oncol*. 2007;2(8):706–14.
  155. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. The IASLC lung cancer staging project: Proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM Classification for lung cancer. *J Thorac Oncology* 2016;11:39–51.

156. Ramirez RA, Wang CG, Miller LE, et al. Incomplete intrapulmonary lymph node retrieval after routine pathologic examination of resected lung cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(23):2823–8.
157. Sobin L, Gospodarowicz M WC. *TNM Classification of Malignant Tumours*, 7th Edition. Wiley 2009.
158. Asamura H., Chansky K., Crowley J. et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the N Descriptors in the Forthcoming 8th Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. 2015. 2015;10(12):1675–84.
159. Butnor KJ. Travis WD. Recent advances in our understanding of lung cancer visceral pleural invasion and other forms of minimal invasion: implications for the next TNM classification. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2013;43(309–311).
160. Travis, WD, Brambilla, E., Rami-Porta R et al. Visceral pleural invasion: pathologic criteria and use of elastic stains: proposal for the 7th edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2008;3:1384–1390.
161. Hammar S. Common tumors. Pulmonary pathology. D.H. Dail (Ed.) *Pulmonary pathology*. Springer-Verlag, New York; 1994. 1994.
162. Shimizu K, Yoshida J, Nagai K, et al. Visceral pleural invasion is an invasive and aggressive indicator of non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* [Internet] 2005;130:160–5. Disponible en: [http://www.jtcvsonline.org/article/S0022-5223\(04\)01623-X/fulltext](http://www.jtcvsonline.org/article/S0022-5223(04)01623-X/fulltext).
163. David E, Thall PF, Kalhor N, et al. Visceral pleural invasion is not predictive of survival in patients with lung cancer and smaller tumor size. *Ann Thorac Surg*. 2013;95(6):1872–7.
164. Meyer JS, Alvarez C, Milikowski C, et al. Breast carcinoma malignancy grading by Bloom-Richardson system vs proliferation index: reproducibility of grade and advantages of proliferation index. *Mod Pathol*.

- 2005;18(8):1067–78.
165. Rioux-Leclercq N, Karakiewicz PI, Trinh QD, et al. Prognostic ability of simplified nuclear grading of renal cell carcinoma [Abstract]. *Cancer*. 2007;109(5):868–74.
166. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiainen K et al. Independent clinical, histological and quantitative prognostic factors in transitional-cell bladder tumours, with special reference to mitotic frequency. *Int J Cancer*. 1992;51:396–40.
167. Barletta JA, Yeap BY, Chirieac LR. Prognostic significance of grading in lung adenocarcinoma. *Cancer*. 2010;116(3):659–69.
168. Asamura H, Ando M, Matsuno Y, et al. Histopathologic prognostic factors in resected adenocarcinomas: Is nuclear DNA content prognostic? *Chest*. 1999;115(4):1018–24.
169. Kadota K., Suzuki K, Kachala S, et al. A grading system combining architectural features and mitotic count predicts recurrence in stage I lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2012;25(8):117–1127.
170. Ujii H, Kadota K, Chaft JE, et al. Solid predominant histologic subtype in resected stage I lung adenocarcinoma is an independent predictor of early, extrathoracic, multisite recurrence and of poor postrecurrence survival. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2877–84.
171. Jakobsen JN, Sørensen JB. Clinical impact of ki-67 labeling index in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2013;79:1–7.
172. Luporsi E, Andre F, Spyrtos F, et al. Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;132(3):895–915.
173. Khor LY, Bae K, Paulus R, et al. MDM2 and Ki-67 predict for distant metastasis and mortality in men treated with radiotherapy and androgen deprivation for prostate cancer: RTOG 92-02. *J Clin Oncol*. 2009;27(19):3177–84.

174. Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH, et al. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: A National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. *J Clin Oncol*. 2003;21(2):241–50.
175. Ahn HK, Jung M, Ha SY, et al. Clinical significance of Ki-67 and p53 expression in curatively resected non-small cell lung cancer. *Tumor Biol*. 2014;35(6):5735–40.
176. Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH, et al. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: A National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. *J Clin Oncol* [Internet]. 2003;21(2):241–50. Disponible en: [http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2003.05.044?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3dpubmed](http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2003.05.044?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed).
177. Warth A, Cortis J, Soltermann A, et al. Tumour cell proliferation (Ki-67) in non-small cell lung cancer: a critical reappraisal of its prognostic role. *Br J Cancer* 2014;111(6):1222–9.
178. Wen S, Zhou W, Li CM, et al. Ki-67 as a prognostic marker in early-stage non-small cell lung cancer in Asian patients: a meta-analysis of published studies involving 32 studies. *BMC Cancer*. 2015;15.
179. Zhang H, Singh RR, Talukder AH, et al. Metastatic tumor antigen 3 is a direct corepressor of the Wnt4 pathway. *Genes Dev*. 2006;20(21):2943–8.
180. Pencil, SD, Toh, Y, Nicolson GL. Candidate metastasis-associated genes of the rat 13762NF mammary adenocarcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 1993;25:165–74.
181. Bruning A, Juckstock J, Blankenstein T, et al. The metastasis-associated gene MTA3 is downregulated in advanced endometrioid adenocarcinomas. *Histol Histopathol* 2010;25: 1447–1456.
182. Mylonas I BA. The metastasis-associated gene MTA3 is an independent

- prognostic parameter in uterine non-endometrioid carcinomas. *Histopathology*. 2012;60:665–70.
183. Dong H, Guo H, Xie L, et al. The Metastasis-Associated Gene MTA3, a Component of the Mi-2/NuRD Transcriptional Repression Complex, Predicts Prognosis of Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma. *PLoS One*. 2013;8(5):e62986.
184. Bremnes RM., Veve R., Gabrielson E. et al. High-throughput tissue microarray analysis used to evaluate biology and prognostic significance of the E-cadherin pathway in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20(10):2417–28.
185. Siitonen SM, Kononen JT, Helin HJ, et al. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 1996;105(4):394–402.
186. Schipper JR, Frixen UH, Behrens J, et al. E-Cadherin Expression in Squamous Cell Carcinomas of Head and Neck: Inverse Correlation with Tumor Dedifferentiation and Lymph Node Metastasis. *Cancer Res*. 1991;51:6328–37.
187. Kadowaki T, Shiozaki H, Inoue M, et al. E-cadherin and alpha-catenin expression in human esophageal cancer. *Cancer Res*. 1994;54(1):291–6.
188. Sulzer MA, Leers MPG, Van Noord JA, et al. Reduced E-cadherin expression is associated with increased lymph node metastasis and unfavorable prognosis in non-small cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(4 PART I):1319–23.
189. Liu D, Huang C, Kameyama K, et al. E-cadherin expression associated with differentiation and prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2001;71(3):949-54-5.
190. He L, Zhang H, Wang ZK, et al. Diagnostic and prognostic significance of E-cadherin and Ki-67 expression in non-small cell lung cancer patients. 2016;3812–7.
191. Yan B, Zhang W, Jiang L, et al. Reduced E-Cadherin expression is a

- prognostic biomarker of non-small cell lung cancer: a meta-analysis based on 2395 subjects. 2014;7(11):4352–6.
192. Lim SC, Jang IG, Kim YC, et al. E-cad and NSCLC. *Journal of Korean Medical Science* [Internet]. 2000;15:501–6. Disponible en: <http://images.biomedsearch.com/11068984/11068984.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIBOKHYOLP4MBMRGQ&Expires=1494979200&Signature=yVde%2Bfw%2BczgQoZgrDRF24X8kJqQ%3D>.
193. Xu X, Jiang G, Fan C, et al. Promoter methylation-mediated silencing of b-catenin enhances invasiveness of non-small cell lung cancer and predicts adverse prognosis. *PLoS One*. 2014;9(11).
194. Fan C, Miao Y, Zhang X, et al. Btbd7 contributes to reduced E-cadherin expression and predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2014;14(1):704.
195. Dong S, Zhao J, Wei J, et al. F-box protein complex FBXL19 regulates TGF $\beta$ 1-induced E-cadherin down-regulation by mediating Rac3 ubiquitination and degradation. *Mol Cancer* [Internet] 2014;13(1):76. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3994216/pdf/1476-4598-13-76.pdf>.
196. Böhm M, Totzeck B, Wieland I. Differences of E-cadherin expression levels and patterns in human lung cancer. *Ann Hematol* 1994;68(2):81–3.
197. Lou F, Huang J, Sima CS, et al. Patterns of recurrence and second primary lung cancer in early-stage lung cancer survivors followed with routine computed tomography surveillance. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2013;145(1):75–82.
198. Martini N, Bains MS, Burt ME, et al. Incidence of local recurrence and second primary tumors in resected stage I lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109(1):120–9.
199. Hung JJ, Jeng WJ, Hsu WH, et al. Prognostic significance of the extent of

- visceral pleural invasion in completely resected node-negative non-small cell lung cancer. *Chest*. 2012;142(1):141–50.
200. Maeda R, Yoshida J, Ishii G, et al. Poor prognostic factors in patients with stage IB non-small cell lung cancer according to the seventh edition TNM classification. *Chest*. 2011;139(4):855–61.
201. Koo H-K, Jin S-M, Lee C-H, et al. Factors associated with recurrence in patients with curatively resected stage I-II lung cancer. *Lung Cancer* 2011;73(2):222–9.
202. Yang HC, Kim HR, JS et al. Recurrence Risk-Scoring Model for Stage I Adenocarcinoma of the Lung. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(12):4089–97.
203. Van Rens MT, de la Rivière AB, EH. Prognostic assessment of 2,361 patients who underwent pulmonary resection for non-small cell lung cancer, stage I, II, and IIIA. *Chest*. 2000;117(2):374–9.
204. Pelletier MP, Edwardes MD. Prognostic markers in resectable non-small cell lung cancer: a multivariate analysis. *Can J Surg*. 2001;44(3):180–8.
205. Lyons G, Quadrelli S, SC. Analysis of Survival in 400 Surgically Resected Non-small Cell Lung Carcinomas: Towards a Redefinition of the T Factor. *J Thorac Oncol* [Internet]. 2008;3(9):989–93. Disponible en: [http://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)30477-9/fulltext](http://www.jto.org/article/S1556-0864(15)30477-9/fulltext).
206. Park JS, Yang HC, KH. Sleeve lobectomy as an alternative procedure to pneumonectomy for non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2010;5(4):517–20.
207. Shibamura H, Hirano T, Tsuji K et al. Influence of E-cadherin dysfunction upon local invasion and metastasis in non small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1998. *Lung Cancer*. 1998;22:85–95.
208. Frixen UH, Behrens J, Sachs M et al. E-cadherin-mediated cell–cell-adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. *J Cell Biol*. 1991;113:173–85.
209. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of

- the Eastern Cooperative Oncology Group [Abstract]. *Am J Clin Oncol*. 1982;5(6):649–55.
210. INE: Instituto Nacional de Estadística [Internet]. *Mujeres y Hombres en España* (actualizado 2 de junio de 2016). 4.1. Esperanza de vida. Disponible en <https://ine.es/ss>.
211. Kerr KM, Nicolson MC. Prognostic factors in resected lung carcinomas. *EJC Suppl*. 2013;11(2):137-149.
212. Pfannschmidt J, Muley T, Bulzebruck H, et al. Prognostic assesment after surgical resection for non-samll cell lung cancer: experiences in 2083 patients. *Lung Caancer* 2007;55:371-5.
213. Asamura H, Goya T, Koshiishi Y, et al. A Japanese lung cancer registry study. Prognosis in 13.010 resected lung cancers. *J Thorac Oncol* 2008;3:46-52.
214. Kris M, Lau C, And D, et al. Initial results of LC-MAP: An institutional program to routinely profile tumor specimens for the presence of mutations in targetable pathways in all patientes with lung adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2010;28:516s.
215. Paik PK, Arcila ME, Fara M, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinoma harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol* [Internet] 2011;29:2046-2051. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3107760/>.
216. Shiona S, Abiko M, Sato T. Positron emission tomography/computed tomography and lymphovascular invasión predict recurrence in stage I lung cancers. *J Thorac Oncol* 2011;6:43-47.
217. Cuaron J, Dunphy M, Rimner A. Role of FDG-PET scans in staging, response assesment and follow-up care for non-small cell lung cancer. *Front Oncol* 2013;2:208.



## 8.- ANEXOS

---





## ANEXO I: ESCALA ECOG, WHO O ZUBROD. (209)

GRADO	ECOG
0	Totalmente activo, capaz de realizar todas las actividades previas a la enfermedad sin restricciones.
1	Restricciones en las actividades físicamente intensas, pero ambulatorio y capaz de realizar trabajos de tipo sedentario.
2	Ambulatorio y capaz de atender todas sus necesidades personales, pero incapaz de realizar cualquier actividad de trabajo. Levantado hasta y aproximadamente más del 50% del tiempo de vigilia.
3	Capaz de atender sus necesidades personales con algunas limitaciones, sentado o encamado más del 50% del tiempo de vigilia.
4	Completamente discapacitado. No puede atender ninguna de sus necesidades personales. Totalmente encamado o sentado.
5	Muerto.

ECOG	KARNOFSKY	DEFINICIÓN
0	100	Asintomático
1	80-90	Con síntomas. Ambulatorio
2	60-70	Con síntomas. En cama menos del 50% del día
3	40-50	Con síntomas. En cama más del 50% del día
4	20-30	Postrado en cama

\* ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.

## ANEXO II: Sistema Internacional de estadificación TNM – estadíos, 2009 (7ª edición). (47)

### 1. DESCRIPTORES TNM

#### T (Tumor Primario)

##### • TX

Tumor primario que no puede ser evaluado, o tumor probado por la existencia de células tumorales malignas en esputo o lavados bronquiales pero no visualizado por métodos de imagen o broncoscopia

##### • T0

Sin evidencia de tumor primario

##### • Tis

Carcinoma in situ

##### • T1

Tumor  $\leq 3$  cm en su mayor diámetro, rodeado por pulmón o pleura visceral, sin evidencia broncoscópica de invasión más proximal del bronquio lobar (es decir: no hay invasión en el bronquio principal)<sup>a</sup>

##### • T1a

Tumor  $\leq 2$  cm en su mayor diámetro

##### • T1b

Tumor  $> 2$  cm pero  $\leq 3$  cm en su mayor diámetro

##### • T2

Tumor  $> 3$  cm pero  $\leq 7$  cm en su mayor diámetro o tumor con cualquiera de las siguientes características (Los tumores T2 con estas características se clasificarán como T2a si su diámetro es  $\leq 5$  cm): afecta al bronquio principal, distante 2 cm o más de la carina principal; invade la pleura visceral; asociado con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende hasta la región hiliar pero no afecta al pulmón entero

Tumor  $> 3$  cm pero  $\leq 5$  cm en su mayor diámetro

##### • T2a

Tumor  $> 5$  cm pero  $\leq 7$  cm en su mayor diámetro

##### • T2b

##### • T3

Tumor  $> 7$  cm o de cualquier tamaño que invada directamente cualquiera de las siguientes estructuras: pared torácica (incluyendo los tumores del sulcus superior), diafragma, nervio frénico, pleura mediastínica, pericardio parietal; o un tumor a menos de 2 cm de la carina principal pero sin invadirla; o asociado a atelectasia o neumonitis obstructiva del pulmón entero o existencia de nódulo(s) tumoral(es) separado(s) del tumor primario, en su mismo lóbulo

##### • T4

Tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de las siguientes estructuras: mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio recurrente laríngeo, esófago, cuerpo vertebral, carina; o existencia de nódulo(s) tumoral(es) separado(s) del tumor primario, en un lóbulo diferente del pulmón homolateral

#### N (ganglios linfáticos regionales)

##### • NX

Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados

##### • N0

No existen metástasis ganglionares linfáticas regionales

##### • N1

Metástasis en ganglios linfáticos peribronquiales homolaterales y/o hiliares homolaterales e intrapulmonares, incluyendo la afectación por extensión directa

##### • N2

Metástasis en ganglios linfáticos mediastínicos homolaterales y/o subcarinales

##### • N3

Metástasis ganglionares linfáticas mediastínicas contralaterales, hiliares contralaterales, escalénicas homolaterales o contralaterales, o supraclaviculares

#### M (metástasis a distancia)

##### • MX

Las metástasis a distancia no pueden ser evaluadas

##### • M0

No existen metástasis a distancia

##### • M1

Existen metástasis a distancia

##### • M1a

Existencia de nódulo(s) tumoral(es) separado(s) del tumor primario, en un lóbulo del pulmón contralateral; tumor con nódulos pleurales o derrame pleural (o pericárdico) maligno<sup>b</sup>

##### • M1b

Existen metástasis a distancia

### 2. Estadíos

Carcinoma oculto	TX	N0	M0
Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio IA	T1 a,b	N0	M0
Estadio IB	T2a	N0	M0
Estadio IIA	T1 a,b	N1	M0
	T2a	N1	M0
	T2b	N0	M0
Estadio IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Estadio IIIA	T1, T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
	T4	N0, N1	M0
Estadio IIIB	T4	N2	M0
	Cualquier T	N3	M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1a,b

Nota: Se destacan **en cursiva** los cambios con respecto a la clasificación TNM previa.

<sup>a</sup> La poco frecuente diseminación superficial de un tumor de cualquier tamaño con su componente invasivo limitado a la pared bronquial, el cual puede extenderse proximalmente hasta el bronquio principal, se clasifica también como T1.

<sup>b</sup> La mayoría de los derrames pleurales (y pericárdicos) asociados al cáncer de pulmón son debidos al tumor. Sin embargo, hay algunos pacientes en quienes múltiples estudios citopatológicos del líquido pleural (o pericárdico) son negativos para tumor, el líquido no es hemático y no es un exudado. Cuando estos elementos y el juicio clínico indiquen que el derrame no está relacionado con el tumor, el derrame debe ser excluido como elemento de estadificación y el paciente debe ser clasificado como T1, T2, T3 o T4.

## ANEXO III: NIVELES DE EVIDENCIA.

NIVEL DE EVIDENCIA	TIPO DE ESTUDIO
IA	Revisión sistemática de ensayos clínicos controlados (homogéneos entre sí)
IB	Ensayos clínicos controlados (con intervalo de confianza estrecho)
IIA	Revisión sistemática de estudios de cohortes (homogéneos entre sí)
IIB	Estudio individual de cohortes / Ensayo clínico aleatorizado individual de baja calidad
IIIA	Revisión sistemática de casos y controles (homogéneos entre sí)
IIIB	Estudio individual de casos y controles
IV	Series de casos, estudios de cohortes / casos y controles de baja calidad
V	Opiniones de expertos basados en revisión no sistemática de resultados o esquemas fisiopatológicos.



## ANEXO IV: Cuaderno de recogida de datos ( CRD ).

VARIABLE	VALOR	CÓDIGO
Núm. historia	---	
Edad	---	
Género	---	1. Mujer 2. Hombre
Fumador	---	0. No 1. Sí
Tabaquismo	---	Años/paquete
Fecha de cirugía		---
Tipo de cirugía	---	1. Neumonectomía. 2. Lobectomía. 3. Bilobectomía. 4. Segmentectomía. 5. Resección amplia.
Lado	---	1. Izquierdo 2. Derecho
Tamaño (cm)		---
Situación	---	1. Central 2. Periférico
Lóbulo	---	1. Lóbulo superior izqd 2. Lóbulo inferior izqd 3. Lóbulo superior dch 4. Lóbulo medio 5. Lóbulo inferior dch
Pleura	---	1. No 2. Sí
Tipo histológico	---	1. Carcinoma escamoso 2. Adenocarcinoma 3. Carcinoma Bronquioloalveolar 4. Carcinoma de célula grande 5. Carcinoma de célula pequeña 6. Carcinoma adenoescamoso 7. Neuroendocrino 8. Otros 9. Metástasis
Grado nuclear	---	1. Bajo: Núcleos con tamaño uniforme, con nucleolos

		<p>uniformes y baja actividad mitótica.</p> <p>2. Intermedio: Mayor pleomorfismo nuclear y anisonucleosis.</p> <p>3. Alto: Gran pleomorfismo nuclear y nucléolos gigantes.</p>
<b>Grado histológico</b>	---	<p>1. Lepídico.</p> <p>2. Acinar/ Papilar.</p> <p>3. Sólido/Micropapilar.</p>
<b>Número de ganglios</b>		---
<b>Ganglios positivos</b>		---
<b>pN</b>	---	<p>0: No evidencia de metástasis ganglionares.</p> <p>1: Metástasis en ganglios linfáticos peribronquiales homolaterales y/o hiliares homolaterales e intrapulmonares, incluyendo la afectación por extensión directa.</p> <p>2: Metástasis en ganglios linfáticos mediastínicos homolaterales y/o subcarinales.</p> <p>3: Metástasis en ganglios linfáticos mediastínicos contralaterales, hiliares contralaterales, escalénicos homolaterales o contralaterales, o supraclaviculares.</p>
<b>pTNM</b>	---	7ª ed. AJCC
<b>Recaída</b>		<p>1. Sí</p> <p>2. No</p>
<b>Fecha de recaída</b>		---
<b>Tipo de recaída</b>		<p>1. Local.</p> <p>2. A distancia.</p> <p>3. Ganglionar.</p> <p>4. Pleural.</p> <p>5. Local + ganglionar.</p> <p>6. Local + pleural.</p> <p>7. Local + ganglionar + a distancia.</p> <p>8. Ganglionar + a distancia.</p> <p>9. Local + a distancia.</p>
<b>SLE (meses)</b>		---

<b>Estado del paciente</b>		1.Vivo. 2.Muerto. 3.Desconocido.
<b>Fecha de último seguimiento</b>		---
<b>Fecha de <i>exitus</i></b>		---
<b>SG (meses)</b>		---



## ANEXO V – DOCUMENTACION DE AUTORIZACIÓN DEL CEIC.



Departamento de Elda

**COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA  
DEL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ELDA**  
Ctra. Elda-Sax, s/n. 03600-Elda. <http://www.elda.san.gva.es>  
Tfno: 96 698 9019 Fax: 96 697 5148. email: [ceic\\_helda@gva.es](mailto:ceic_helda@gva.es)

**(ST-3a) DICTAMEN DE EVALUACIÓN DEL CEIC  
PARA EC / EPA**  
(Modelo del PECME, Conselleria de Sanidad)

Dr. D. Alejandro Lizaur Utrilla.  
Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital General Universitario de Elda.

**CERTIFICA:**

Que en relación al protocolo de investigación:

**Promotor:**

**Código de protocolo:** PRONO-PUL.

**Titulado:**

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE CCR9 Y MAT3 Y SU POSIBLE PAPEL COMO FACTORES PRONÓSTICOS EN ADENOCARCINOMA DE PULMÓN RESECADO.

Este CEIC, en su reunión de fecha 25/01/2016, tras la evaluación realizada de la propuesta del promotor relativa al estudio especificado, y teniendo en consideración las siguientes cuestiones:

1. Cuestiones relacionadas con la adecuación a los postulados éticos.
2. Cuestiones relacionadas con el procedimiento de información y obtención del consentimiento informado y el plan de reclutamiento.
3. Consideraciones generales del ensayo.
4. Cuestiones relacionadas con la idoneidad del investigador y de sus colaboradores
5. Cuestiones relacionadas con la idoneidad de las instalaciones.
6. Cuestiones relacionadas con las cantidades y, en su caso, previsiones de remuneración o compensación para los investigadores y sujetos del ensayo y los aspectos relevantes de cualquier acuerdo entre el promotor y el centro, que han de constar en el contrato previsto en el artículo 30 del R. D. 223/2004 y en la Resolución de 16.07.2009 de la Conselleria de Sanidad.

Este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE** para su realización en el Servicio de Oncología del Hospital General Universitario de Elda, por la Dra. Elisa Gálvez Muñoz como investigadora principal.

Lo que firmo en Elda a 25 de enero de 2016.

Fdo., El Presidente.

Dr. D. Alejandro Lizaur Utrilla.



Departamento de Elda

**COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA  
DEL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ELDA**  
Ctra. Elda-Sax, s/n. 03600-Elda. <http://www.elda.san.gva.es>  
Tfno: 96 698 9019 Fax: 96 697 5148. email: ceic\_helda@gva.es

**(ST-4) CONFORMIDAD DE LA GERENCIA DEL DEPARTAMENTO DE ELDA  
PARA LA REALIZACIÓN DE UN ENSAYO CLÍNICO**

Dña. **Vicenta Tortosa Urrea**, Gerente del Departamento de Salud de Elda y Director del Hospital General Universitario de Elda,

**CERTIFICA:**

1. Que conoce la propuesta para la realización en este Centro del Estudio postautorización, titulado:

**ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE CCR9 Y MAT3 Y SU POSIBLE PAPEL COMO FACTORES PRONÓSTICOS EN ADENOCARCINOMA DE PULMÓN RESECADO.**

con código de protocolo: PRONO-PUL,

cuyo investigador principal en este Centro es la Dra. Elisa Gálvez Muñoz,

del Servicio de Oncología del Hospital General Universitario de Elda.

2. Que se me ha remitido el DICTAMEN FAVORABLE del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital General Universitario de Elda, siendo aprobado en su reunión del día 25/01/2016, con Acta nº 2016/01.

3. Que acepta la realización de dicho Estudio postautorización en este Centro.

Lo que firmo en Elda, a 25 de enero de 2016.

Fdo., La Gerente



## ABREVIATURAS

---





## ABREVIATURAS

AJCC	American Joint Committee on Cancer
AP	Anatomía Patológica
ATS	American Thoracic Society
BRAF	Isoforma B de la proteína Raf
CCR9	Receptor 9 de la quimioquina cc
CEA	Antígeno carcinoembrionario
CPCP	Cáncer de pulmón de célula pequeña
CPNCP	Cáncer de pulmón no de célula pequeña
CYFRA21-1	Fragmento 19 de la citoqueratina
DNA	Ácido desoxirribunucleico (inglés)
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR	Receptor para el factor de crecimiento epidérmico (inglés)
EMT	Transición epitelio-mesénquima
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ERS	European Respiratory Society
FP	Factores pronóstico
HER2	Receptor para el factor de crecimiento epidérmico tipo 2 (inglés)
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer
IHQ	Inmunohistoquímica
LCC	Carcinoma de célula grande
MMPS	Metaloproteinasas de la matriz
MTA	Proteínas asociadas a metástasis
NuRD	Complejos nucleosomas de remodelación/desacetilación
OMS (WHO)	Organización Mundial de la Salud
PAAF	Punción-aspiración con aguja fina
PAHS	Hidrocarburos aromáticos polinucleares
PET	Tomografía por emisión de positrones
Pi3K/Akt	Vía de las fosfoinositol 3 quinasas
PORT	Radioterapia posoperatoria
PS	Performance status / estado general
QT	Quimioterapia
QTRT	Quimiorradioterapia
RN	Receptores nucleares
SBRT	Radioterapia esterotáxica
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results
SEPAR	Sociedad Española de Patología Respiratoria
SIADH	Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética
TC	Tomografía computarizada
TGF-B	Factor de crecimiento transformante beta
UICC	Unión Internacional para el Control del Cáncer

