

Facultad de medicina Universidad de Antioquia

Especialización en Patología

Proyecto

Caracterización de casos de adenocarcinoma gástrico: microambiente tumoral y evidencia de infección por el virus Epstein Barr

Investigadores

Cynthia Delgado Soto, Residente de patología. Universidad de Antioquia.

Maycos Leandro Zapata, MD *Oncología Clínica*.

María Cristina Navas, Bacterióloga, MSc Virología, PhD Virología. *Universidad de Antioquia*.

Camilo Vallejo, MD Oncología Clínica, San Vicente Fundación.

Tania Liseth Pérez Cala, *MSc Ciencias Básicas biomédicas. Universidad de Antioquia.*

Germán Osorio Sandoval, MD Patólogo, docente. Universidad de Antioquia.

Laura Camila Lopera, Estudiante Medicina Joven Investigador. *Universidad de Antioquia.*

Director

German Osorio Sandoval. MD Patólogo, docente del Departamento de Patología.

Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

Asesor metodológico

Sigifredo Ospina O. MD Epidemiólogo, Profesor Facultad de Medicina.

Universidad de Antioquia

Medellín 2022

Caracterización de casos de adenocarcinoma gástrico: microambiente tumoral y evidencia de infección por el virus Epstein Barr

Cynthia Delgado Soto¹, Maycos Leandro Zapata², María Cristina Navas³, Camilo Vallejo Yepes⁴, Tania Liseth Pérez Cala⁵, Laura Camila Lopera⁶, Germán Osorio Sandoval⁷.

1. *Residente de patología. Universidad de Antioquia.*
2. *MD Oncología Clínica, Clínica Las Américas.*
3. *Bacterióloga, MSc Virología, PhD Virología. Universidad de Antioquia.*
4. *MD Oncología Clínica, Hospital San Vicente Fundación.*
5. *MSc Ciencias Básicas biomédicas. Universidad de Antioquia.*
6. *Estudiante Medicina Joven Investigador. Universidad de Antioquia.*
7. *MD Patólogo, docente. Universidad de Antioquia.*

Resumen:

Introducción: El virus Epstein Barr ha sido asociado con múltiples malignidades tanto linfoproliferativas como sólidas. Recientemente el Atlas del Genoma del cáncer propuso una clasificación molecular del cáncer gástrico en 4 grupos: inestabilidad microsatélital, genómicamente estable, inestabilidad cromosómica y el asociado a la infección por EBV, éste último con hallazgos clínico-patológicos heterogéneos entre los estudios y alteraciones moleculares distintivas como amplificación del cromosoma 9p24, donde se encuentran los genes que codifican para PD-L1 y PD-L2, pero con. Recientemente muchos investigadores han reportado la sobreexpresión del PD-L1 en el cáncer gástrico asociado al Epstein Barr, pero los efectos de esta sobreexpresión, así como de los linfocitos intratumorales sobre el pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico difiere entre los estudios.

Objetivo: Determinar la frecuencia de infección latente por virus Epstein Barr, las características de la infiltración linfocitaria y la sobreexpresión de PD-L1 en pacientes con adenocarcinoma gástrico atendidos en la IPS Universitaria sede Clínica León XIII desde el año 2012 al 2016 y de la sede hospitalaria San Vicente Fundación Medellín 2018-2019.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo/prospectivo transversal. La población de estudio estuvo conformada por 35 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico sometidos a gastrectomía parcial o total, con disponibilidad de los bloques de parafina del tumor primario, atendidos en la IPS Universitaria entre los años 2012-2016 y el Hospital San Vicente Fundación de Medellín entre los años 2018-2019, a los cuales se les realizó inmunohistoquímica para CD4, CD8 y PD-L1 y se detectó la presencia o ausencia del virus Epstein Barr en las células tumorales mediante la detección de ARNs no codificantes (EBER1 y EBER2) por medio de hibridación in situ a partir de muestras de tejido fijadas en formol y embebidas en parafina.

Resultados: Se estudiaron 35 pacientes, la edad promedio fue de 64,5 años y el 80% fueron de sexo masculino. El carcinoma gástrico de tipo difuso fue el más frecuente, diagnosticado en un 51,4%. El 68,6% de los casos fue pobremente diferenciado, afectando principalmente el cuerpo gástrico en un 66%. El 77,1% de los pacientes tuvieron estadios tumorales avanzados y un 69% con metástasis a ganglios linfáticos regionales. Todos los casos mostraron abundante cantidad de linfocitos que infiltran el tumor, de los cuales en el 91,5% presentaron mayor cantidad de linfocitos CD4+ que CD8+.

Conclusiones: El cáncer gástrico con estroma linfoide tuvo un predominio del tipo difuso de la clasificación de Lauren, al igual que predominó una pobre diferenciación. Se presentó principalmente en pacientes de sexo masculino y afectó en su mayor parte el tercio medio y proximal del estómago. En concordancia con otros estudios en diferentes países subdesarrollados, se encontró un predominio de estadios tumorales avanzados, lo cual contrasta con los resultados en países desarrollados, por lo cual se requieren de más estudios y poblaciones de mayor tamaño para dar respuesta a estas diferencias. El microambiente tumoral estuvo conformado en su mayor parte por linfocitos T CD4+ y CD8+, los cuales se espera correlacionar con la detección del virus Epstein Barr mediante hibridación in situ y con los resultados de inmunohistoquímica para PD-L1, estos dos últimos aún pendientes para determinar su valor pronóstico en un análisis combinado.

Palabras Clave: Cáncer gástrico, Epstein Barr virus, hibridación in situ, TILs, microambiente

Introducción

El virus del Epstein Barr (EBV por sus siglas en inglés), llamado también herpes virus tipo 4, fue el primer virus que se asoció a malignidades; fue aislado inicialmente en linfoma de Burkitt en 1964 y para 1990 Burke y colaboradores reportaron por primera vez un carcinoma gástrico asociado al EBV (1). Recientemente el Atlas del Genoma del Cáncer propuso una clasificación molecular del cáncer gástrico que lo divide en 4 tipos: el asociado a inestabilidad microsatélital, el genómicamente estable, asociado a inestabilidad cromosómica y finalmente como un grupo aparte, el asociado a la infección por EBV (2). Varios estudios reportaron en este último grupo la ausencia del silenciamiento epigenético o escasa presentación en las proteínas de reparación del ADN, especialmente MLH1 en este tipo de cáncer lo que sugiere una vía carcinogénica independiente de la inestabilidad microsatélital, donde intervienen mutaciones en *PIK3CA* (fosfoinositol 3-quinasa), hipermetilación del ADN y amplificación de *JAK2*, *PD-L1* y *PD-L2*, permitiendo así la ampliación del panel terapéutico y terapias individualizadas (2) (3).

Las características histopatológicas del cáncer gástrico asociado al EBV aún no están bien definidas y existen controversias al respecto. En un estudio del 2015 Fukayama y colaboradores dividen las características histológicas en dos grupos grandes, el primer grupo de tipo linfopitelioma-like consistente en un carcinoma pobremente diferenciado asociado a un denso infiltrado linfoide; más del 80% de los casos que tienen esta morfología son

positivos para el EBV. El segundo grupo de tipo adenocarcinoma convencional, el cual es bien o moderadamente diferenciado, con una cantidad variable de linfocitos, requiriéndose del EBER-ISH para poder identificar la presencia del virus en las células tumorales (1)(5). En un estudio más reciente, Marina Pereira y colaboradores encontraron que el carcinoma pobremente diferenciado y el carcinoma indeterminado, según la clasificación de Lauren, era el tipo histológico predominante en el cáncer gástrico asociado al EBV (4). En contraste el estudio D1D2 mostró que un 63,4% eran de tipo intestinal de la clasificación de Lauren versus un 4,9% de tipo difuso (5). Se han propuesto otro subtipo llamado “carcinoma con reacción linfoide similar a la enfermedad de Crohn”, caracterizado por presentar 3 o más folículos linfoides con centros germinales activos y la cantidad de linfocitos es menor de células tumorales, con formación de túbulos y se acompaña de mínima o ninguna desmoplasia; se ha considerado que éste representa una morfología intermedia entre el tipo linfopitelioma-like y el adenocarcinoma convencional (1) (5).

El microambiente tumoral del cáncer gástrico asociado al EBV juega un rol clave en el control local del cáncer y los linfocitos que infiltran el tumor (TILs por sus siglas en inglés, tumor infiltrating lymphocytes) principalmente CD8+ constituyen su principal componente celular. Está compuesto por linfocitos T CD4+, CD8+, linfocitos B, linfocitos Treguladores FOXP3+, fibroblastos asociados al cáncer, células naturales killer y células dendríticas (6). Varios estudios han mostrado que un gran número de TILs se ha asociado a un mejor pronóstico en las malignidades asociadas al EBV, a su vez que muestran un aumento en la expresión de PD1 y PD-L1, lo que puede contribuir a mejorar la supervivencia de los pacientes con cáncer gástrico y predecir respuesta a la inmunoterapia (7)(8); sin embargo, hay relativamente pocos estudios principalmente en etnicidades latinoamericanas que hayan estudiado el impacto de los TILs en el cáncer gástrico.

PD-L1 es un ligando de muerte programada, correceptor de linfocitos T maduros CD4+ y CD8+ y se expresa principalmente en la superficie de linfocitos B, linfocitos T y varias células tumorales. Parece que el cáncer gástrico asociado al Epstein Barr evade el reconocimiento inmunológico, en parte gracias a interacciones PD-1/ PD-L1, lo cual puede llevar a agotamiento de las células T (“células T exhaustas”) (7)(9). La sobreexpresión del PD-L1 ha arrojado resultados controversiales (9) (10), asociándose a peor pronóstico en algunos estudios y en otros a buen pronóstico (11) (12) (13). Esto puede estar en relación con las características del microambiente tumoral y el estatus de infección del EBV ya que se ha demostrado que en tumores con sobreexpresión del PD-L1 de la célula tumoral y abundantes linfocitos CD8+/PD-L1 + se ha relacionado con buen pronóstico, y por el contrario su sobreexpresión con baja cantidad de linfocitos CD8+ /PD-L1 - se ha asociado a pobre pronóstico, lo que hace necesario más estudios para esclarecer el impacto de estos fenotipos (9).

El propósito de este estudio fué identificar los factores clínico-patológicos que se relacionan con la infección por EVB, evaluar las características de la infiltración linfocitaria, la sobreexpresión de PD-L1 en pacientes con adenocarcinoma gástrico, lo que permitirá conocer la frecuencia del virus en la población estudiada y podría contribuir a definir protocolos de diagnóstico en grupos de pacientes con características específicas.

2.MATERIALES Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo/prospectivo y transversal.

2.1 Población de referencia:

Se incluyeron biopsias e información clínica de pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico a quienes se les realizó gastrectomía parcial o total en el Hospital San Vicente Fundación Medellín entre los años 2018-2019 y en la IPS Universitaria entre los años 2012-2016, que tuvieran la disponibilidad de los bloques del tumor primario e información de seguimiento completa. No se tuvieron en cuenta pacientes quienes recibieron terapias neoadyuvantes.

A partir de la población seleccionada se escogió una muestra por conveniencia de 35 pacientes que cumplieran además de los criterios previamente mencionados, con una histología que fuera compatible con casos de adenocarcinoma gástrico asociado al virus del Epstein Barr. La selección de la muestra estuvo a cargo de un patólogo experto en patología gastrointestinal y dos residentes de la misma especialidad.

Los especímenes quirúrgicos estaban fijados con formalina bufferada al 10 % y fueron evaluados de acuerdo con el protocolo del Colegio Americano de Patólogos.

Los procedimientos realizados fueron los siguientes:

Tejido:

Se revisaron todas las placas teñidas con Hematoxilina y Eosina. De cada caso se seleccionó la lámina con mayor cantidad de tumor para realización de nuevos cortes de 4 micras de grosor para la realización de inmunohistoquímica para CD4, CD8 y el PD-L1. Este último aún pendiente de su realización; así como la detección y análisis de la presencia del virus Epstein Barr mediante hibridación in situ (EBER 1 y 2), el cual también se encuentra pendiente por realizar.

- Inmunohistoquímica:

La tinción de inmunohistoquímica es precedida por la recuperación de antígeno (20 minutos), logrado al vaporizar secciones desparafinadas y rehidratadas en Tris-EDTA, pH 9. Las secciones fueron incubadas con el anticuerpo monoclonal anti CD4 o anti CD8 durante la noche a 4°C; el anticuerpo unido fue detectado usando peroxidasa y DAB, diaminobenzidina. Como control para inmunohistoquímica se emplearán muestras de mucosa gástrica de otras áreas que microscópicamente no tienen tumor.

2.4 Interpretación de la Inmunohistoquímica:

La inmunohistoquímica para CD4 y CD8 fue evaluada de forma cualitativa, determinando el predominio de linfocitos T CD4+, predominio CD8+ o si fueron equiparables.

El PD-L1 será considerado positivo cuando la membrana de la célula tumoral tiña y sea observada en por lo menos 1% de la población celular tumoral. La intensidad de marcación se registrará 0 (negativo), 1 (débil), 2 (moderada) o 3 (fuerte). El porcentaje de células positivas se categorizará como 0 (menos del 1%), 1 (1-10%), 2 (11-50%), 3 (51-80%) y 4 (mayor 80%).

2.5 Detección del virus Epstein Barr:

La detección de la infección latente por el VEB se realizará en cortes de tejido embebido en parafina utilizando un estuche comercial (EBER-PNA EnVision flex probe, Dako). Se realizará la detección de dos ARN no codificantes (EBER-1 y EBER-2 por sus siglas en inglés, RNAs Epstein-Barr encoding region)

Luego de la desparafinación de los cortes de 4 μ m se realiza un tratamiento con Proteinasa K por 10 min y se procede a realizar la hibridación a 60 oC con las sondas específicas para EBER-1 y EBER-2 (Sonda conjugada con fluoresceína). Los cortes serán visualizados utilizando un anticuerpo Anti-FITC/AP. Se considerará positiva un caso para VEB cuando se detecten los ARN no codificantes en mínimo 5% de las células tumorales. La intensidad del marcaje y el porcentaje de células positivas será evaluada por un patólogo y dos residentes de la especialidad.

Análisis estadístico:

De las variables categóricas se obtuvo la distribución de frecuencias absolutas, relativas y razones. A las variables cuantitativas se les determinó medidas de dispersión y de tendencia central, promedio, desviación estándar y moda. El análisis de comparación para medidas no repetidas entre los grupos utilizando análisis de varianza (ANOVA) seguida de análisis post hoc con el test de Turkey's.

Para el análisis de mediciones repetidas en el tiempo o que no cumplan la normalidad estadística se utilizaron técnicas no paramétricas como el test de Friedman. Se consideró la significancia estadística en las pruebas de hipótesis valores de P menor o igual a 0.05. Todos los análisis se realizaron utilizando el software STATA 11.0.

Este estudio fue avalado por el comité de ética de ambas instituciones hospitalarias.

Resultados:

Se estudiaron 35 biopsias de igual número de pacientes a quienes se les realizó gastrectomía parcial o total por adenocarcinoma gástrico. La edad promedio fue de 64,5 años (DE:11,2), con un mínimo de 42 y un máximo de 85 años. El 80% (28) fueron del sexo masculino.

El síntoma inicial fue el dolor abdominal en el 63 % (22) de los pacientes, seguido por signos de hemorragia digestiva superior (melenas y/o hematemesis) en el 23% (8).

El procedimiento quirúrgico más realizado fue la gastrectomía subtotal en el 57.3%(20) de los pacientes (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de los pacientes según procedimiento realizado.

Procedimiento	Frecuencia	Porcentaje
Gastrectomía Subtotal	20	57,3
Gastrectomía total	12	34,0
Esofagogastrectomía	3	8,7
Total	35	100

La mediana del tamaño tumoral fue de 4,5 cm, con un mínimo de 2 y un máximo de 17cm.

Desde el punto de vista histológico y según la clasificación de Lauren, hubo un predominio del cáncer gástrico tipo difuso, en un 51,4% (18) de los pacientes (Gráfico 1).

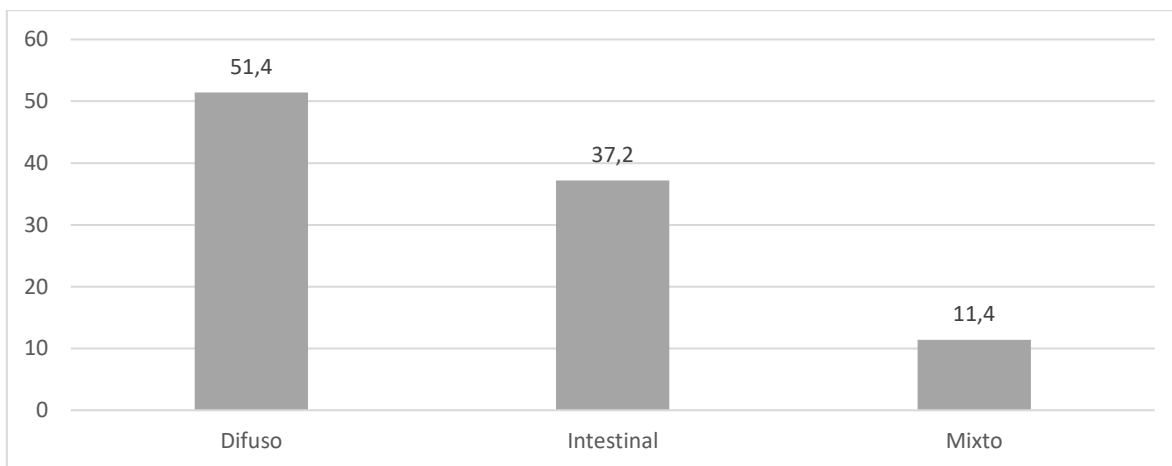


Gráfico 1. Clasificación de casos de cáncer gástrico según Lauren.

En cuanto al grado de diferenciación, el 68,6 % (24) de los pacientes presentó un carcinoma pobremente diferenciado (tabla 2).

Tabla 2. Grado de diferenciación.

Grado de diferenciación	Frecuencia	Porcentaje
Grado 3	24	68,6
Grado 1	6	17,1
Grado 2	5	14,3
Total	35	100

En el gráfico 2 se muestra la distribución anatómica del adenocarcinoma gástrico

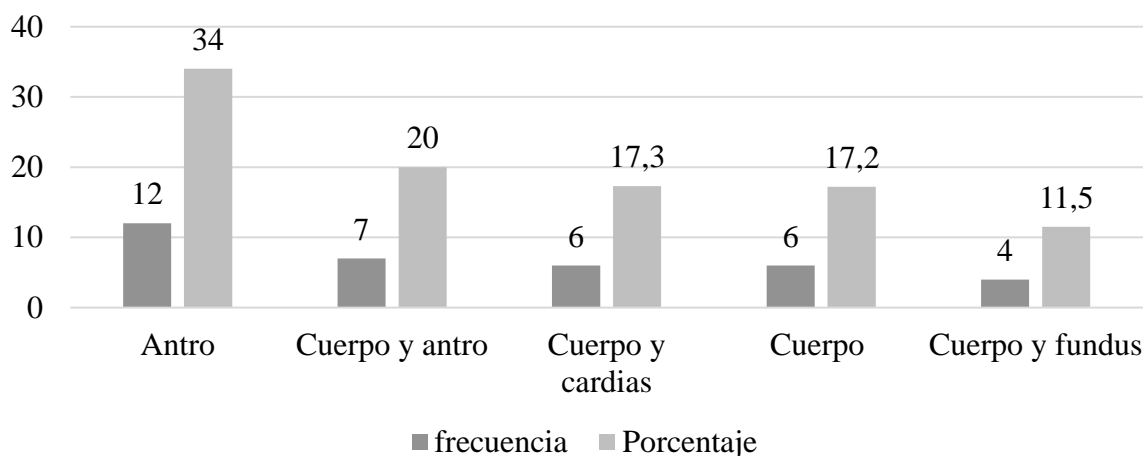


Gráfico 2. Distribución anatómica del adenocarcinoma gástrico

El 77,1 % de los pacientes tuvieron estadios avanzados de la enfermedad, con un 42,9 % comprometiendo hasta el tejido conectivo subseroso (pT3) y el 34,2 % (12) con compromiso de la serosa o más allá de la misma (pT4a). El 8,6 % tuvo una profundidad tumoral hasta la

muscular propia (pT2), con la misma proporción de casos (8,6%) invadiendo órganos adyacentes (pT4b). Solo 2 pacientes (5,7%) tenían una profundidad tumoral hasta la submucosa (pT1b) y no se encontró ningún caso con compromiso intramucoso de la neoplasia.

El 69% de los pacientes tuvieron compromiso metastásico a ganglios linfáticos regionales. Un 23% con compromiso entre 7 a 15 ganglios linfáticos (pN3a) e igual proporción con más de 16 ganglios linfáticos comprometidos (pN3b). Cuatro pacientes (11,5%) tuvieron entre 3 y 6 ganglios comprometidos (pN2) y un mismo número de casos presentó compromiso entre 1 a 2 ganglios linfáticos (pN1). El 31,4% de los pacientes no tuvo compromiso metastásico a ganglios linfáticos regionales (pN0).

La invasión linfovascular y perineural se identificó en el 71,5 % y 65,8% de los pacientes respectivamente.

Todos los casos mostraron abundante cantidad de linfocitos que infiltran el tumor, de los cuales en el 91,5% presentaron mayor cantidad de linfocitos CD4+ que CD8+.

Tabla 3. CD4/CD8.

CD4/CD8	Frecuencia	Porcentaje
CD4 > CD8	32	91,5
CD4 = CD8	2	5,7
CD8 > CD4	1	2,9
Total	35	100

Discusión:

El cáncer gástrico asociado al virus Epstein Barr es una proliferación monoclonal de células cancerígenas, las cuales tienen una infección latente por dicho virus (1).

Dentro de los estudios más grandes que analizan las características clínicopatológicas del carcinoma gástrico asociado a Epstein Baar, la gran mayoría han mostrado un predominio en el sexo masculino. Desde 1999 Takano y colaboradores en un estudio donde analizan 513 casos de carcinoma gástrico de los cuales el 6,4% estaban asociados al virus Epstein Baar

encontraron que tenía una asociación con el sexo masculino, con una relación hombre: mujer de 28:5 (14). Varios metanálisis también han encontrado un mayor predominio en los hombres que en las mujeres con una relación de 2:1 y este hallazgo ha sido consistente entre los diferentes estudios a través de los años (15). Nuestro estudio encontró de igual forma un predominio en el sexo masculino en un 80 % de los pacientes estudiados.

En el presente estudio los tumores se localizaron principalmente en el tercio medio y proximal del estómago, lo cual también es un hallazgo consistente entre los diferentes estudios. Park y colaboradores en un estudio donde se analizaron 756 casos de adenocarcinoma gástrico de los cuales 64 casos fueron asociados al virus Epstein Baar, encontraron que un 84,4 % (54 pacientes) de los tumores asociados a virus, estaban localizados en la región media y superior del estómago (16).

Las características histológicas de los tumores gástricos asociados al virus Epstein Baar han tenido resultados variables entre los estudios. Choi y colaboradores en su estudio del 2020 encontraron un predominio del tipo difuso de la clasificación de Lauren en un 63% de los casos versus 38 % de tipo intestinal (9). En contraste el estudio D1D2 mostró que un 63,4% eran de tipo intestinal versus un 4,9% de tipo difuso (5). En Colombia un estudio realizado en el Hospital Universitario del Valle en el 2003 evaluó 178 casos de cáncer gástrico de los cuales 23 de ellos estaban asociados al virus Epstein Barr y no encontraron una correlación estadísticamente significativa con la clasificación de Lauren (17). En concordancia con las observaciones de Choi y colaboradores, nosotros encontramos un predominio del tipo difuso en el 51,4 % de los casos. Respecto al grado de diferenciación, diferentes estudios han mostrado un predominio por tumores pobremente diferenciados, así mismo el 68,6% de nuestra cohorte fueron pobremente diferenciados.

La mayoría de nuestros casos (77,1%) se encontraron en estadios avanzados al momento de la gastrectomía, lo cual contrasta con otros estudios realizados en donde los carcinomas gástricos asociados al virus Epstein Barr se encuentran usualmente en estadios tempranos. Camargo y colaboradores evaluaron 13 series de casos con un total de 4599 pacientes de los cuales 375 (8,5%) tenían positividad para el virus Epstein Barr. Cada componente de la estadificación del TNM fue inversamente asociada con la positividad del virus (18). Así mismo Song y colaboradores, también encontraron una asociación a estadios mas tempranos del cáncer gástrico cuando éste estaba asociado al virus Epstein Barr con una $p < 0,002$ (19). Los hallazgos en nuestro estudio podrían deberse a una falta de una adecuada tamización para cáncer gástrico en nuestro país, a la falta de educación en países en vía de desarrollo que no le permita al paciente consultar oportunamente o a un sistema de salud con deficiencias y demoras en trámites administrativos y autorizaciones; sin embargo, se requiere de más estudios en países en vía de desarrollo para confirmar o descartar estas hipótesis.

Beek y colaboradores en el 2004 reportaron una menor frecuencia de compromiso nodal en el cáncer gástrico asociado al EBV con una $p < 0,026$ (20). Así mismo Choi y colaboradores también encontraron un menor compromiso en ganglios linfáticos regionales con un 31% en los tumores asociados al virus en comparación con un 41% en el cáncer gástrico convencional versus un 53% en el cáncer gástrico asociado a inestabilidad microsatélital (9). A pesar de

que el cáncer gástrico relacionando con EBV se ha asociado a un menor compromiso nodal, en nuestro estudio un 46% presentaron compromiso nodal en estadios pN3a y pN3b, es decir entre 7 a 15 y 16 o más ganglios linfáticos respectivamente, lo cual puede estar en relación con los estadios avanzados en los que se encontraron los tumores, al igual que un mayor compromiso linfovascular y perineural.

El microambiente tumoral del cáncer gástrico asociado al EBV juega un rol clave en el control local del cáncer mediante el reclutamiento de células inmunosupresoras y anti-inflamatorias como los linfocitos T reguladores, linfocitos T CD4+, células dendríticas, linfocitos Th17, macrófagos M2 asociados al tumor, fibroblastos asociados al tumor; e inhibiendo células efectoras inmunes como los linfocitos T CD8+ y Natural Killer, lo cual lleva al establecimiento de un microambiente tumoral inmunosupresivo (6). Varios estudios han mostrado que un gran número de linfocitos intratumorales se ha asociado a un mejor pronóstico en las malignidades asociadas al EBV, a su vez que muestran un aumento en la expresión de PD1 y PD-L1 lo que puede contribuir a mejorar la supervivencia de los pacientes con cáncer gástrico y predecir respuesta a la inmunoterapia (7)(8). En nuestro estudio, al ser una muestra por conveniencia, todos los casos tienen de moderada a alta cantidad de linfocitos intratumorales, en donde en el 91,5% de los casos hubo mayor cantidad de linfocitos CD4+, sin embargo, la cantidad de linfocitos T CD8 + también fue abundante. Estos resultados encontrados, deben evaluarse en conjunto con el estatus de la infección por el virus Epstein Barr (aun no realizada) ya que en algunos estudios como el de Shao y colaboradores se encontró que carcinomas gástricos con estroma linfoide pero negativos para la detección del virus, tienen un pronóstico similar a los carcinomas gástricos convencionales (7).

Los adenocarcinomas gástricos con infección por el VEB presentan duplicación de la región cromosomal 9p24.1. En este locus se encuentran ubicados los genes *CD274* y *PDCD1LG2* que codifican los ligandos para la proteína de muerte celular programada (PD-L1 y PD-L2). Así, el PD-L1 puede estar sobreexpresado tanto por amplificación del cromosoma 9p24.1, como en respuesta a citoquinas proinflamatorias y al interferón gamma liberados por los linfocitos que infiltran el tumor. Estos ligandos son conocidos por inducir una respuesta inmunomoduladora negativa al unirse al receptor (PD-1 y PD-2) localizado en la membrana celular de las células T influyendo en el balance entre la activación y la tolerancia en la respuesta al estímulo antigénico (7). Los efectos de la expresión del PD-L1 sobre el pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico ha diferido entre los estudios, esto podría explicarse por el uso de diferentes anticuerpos para su detección, pero también se ha visto que su pronóstico está relacionado a la cantidad de linfocitos que infiltran el tumor y al estatus de la infección por el virus Epstein Barr, así una sobre expresión del PD-L1 en la célula tumoral asociado a abundantes linfocitos T CD8 + y EBV+ se han considerado los de mejor pronóstico y los cuales se beneficiarían de inmunoterapia. En contraste los que tiene PD-L1 sobreexpresado en células tumorales asociado a pocos linfocitos infiltrantes del tumor CD8+ se han asociado a pobre pronóstico (21). Sin embargo, se requieren más estudios para poder establecer unos criterios inmunológicos específicos para determinar un verdadero

beneficio de la inmunoterapia. En el presente estudio se realizará un análisis combinado de estos factores, sin embargo, la realización del PD-L1 aún está pendiente.

Las limitaciones de este estudio fueron un tamaño pequeño de la muestra, la cual fue escogida por conveniencia y dificultades logísticas secundario a la pandemia por COVID-19, lo cual condujo a limitaciones y retrasos en procesos técnicos, además de un presupuesto limitado. Por esta razón se presentan en este artículo los primeros resultados del estudio, teniendo en cuenta que varios de los hallazgos encontrados y su respectiva interpretación podrían cambiar una vez se analicen en conjunto con los hallazgos de la inmunohistoquímica para PD-L1 y la detección de los ARN no codificantes del virus por hibridación in situ (EBER1 y EBER2) que son las pruebas pendientes.

REFERENCIAS

1. Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review). *Int J Oncol* [Internet]. 2015 [citado el 17 de mayo de 2022];46(4):1421–34. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25633561/>. DOI: [10.3892/ijo.2015.2856](https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2856)
2. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* [Internet]. 2014 [citado el 17 de mayo de 2022];513(7517):202–9. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature13480>, DOI: [10.1038/nature13480](https://doi.org/10.1038/nature13480)
3. Fukayama M, Kunita A, Kaneda A. Gastritis-infection-cancer sequence of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2018 [citado el 17 de mayo de 2022];1045:437–57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29896679/>. DOI: [10.1007/978-981-10-7230-7_20](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7230-7_20)
4. Pereira MA, Ramos MFKP, Faraj SF, Dias AR, Yagi OK, Zilberstein B, et al. Clinicopathological and prognostic features of Epstein-Barr virus infection, microsatellite instability, and PD-L1 expression in gastric cancer. *J Surg Oncol* [Internet]. 2018 [citado el 17 de mayo de 2022];117(5):829–39. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29534305/>. <https://doi.org/10.1002/jso.25022>.
5. Naseem M, Barzi A, Brezden-Masley C, Puccini A, Berger MD, Tokunaga R, et al. Outlooks on Epstein-Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2018 [citado el 17 de mayo de 2022];66:15–22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29631196/>. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.03.006>.
6. Bauer M, Jasinski-Bergner S, Mandelboim O, Wickenhauser C, Seliger B. Epstein-Barr virus-associated malignancies and immune escape: The role of the tumor microenvironment and tumor cell evasion strategies. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 [citado el 17 de mayo de 2022];13(20):5189. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/20/5189>, <https://doi.org/10.3390/cancers13205189>.

7. Cho CJ, Kang HJ, Ryu Y-M, Park YS, Jeong HJ, Park Y-M, et al. Poor prognosis in Epstein-Barr virus-negative gastric cancer with lymphoid stroma is associated with immune phenotype. *Gastric Cancer* [Internet]. 2018 [citado el 17 de mayo de 2022];21(6):925–35. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29627937/> <https://doi.org/10.1007/s10120-018-0820-3>.
8. Gong L-P, Chen J-N, Xiao L, He Q, Feng Z-Y, Zhang Z-G, et al. The implication of tumor-infiltrating lymphocytes in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Hum Pathol* [Internet]. 2019 [citado el 17 de mayo de 2022];85:82–91. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30448221/>, <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.11.002>
9. Choi E, Chang MS, Byeon S-J, Jin H, Jung KC, Kim H, et al. Prognostic perspectives of PD-L1 combined with tumor-infiltrating lymphocytes, Epstein-Barr virus, and microsatellite instability in gastric carcinomas. *Diagn Pathol* [Internet]. 2020;15(1):69. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13000-020-00979-z>.
10. Vrána D, Matzenauer M, Neoral Č, Aujeský R, Vrba R, Melichar B, et al. From tumor immunology to immunotherapy in gastric and esophageal cancer. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 [citado el 17 de mayo de 2022];20(1):13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20010013>.
11. Zhang L, Qiu M, Jin Y, Ji J, Li B, Wang X, et al. Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression on gastric cancer and its relationship with clinicopathologic factors. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(9):11084–91. PMID: [26617827](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26617827/)
12. Thompson ED, Zahurak M, Murphy A, Cornish T, Cuka N, Abdelfatah E, et al. Patterns of PD-L1 expression and CD8 T cell infiltration in gastric adenocarcinomas and associated immune stroma. *Gut* [Internet]. 2017 [citado el 17 de mayo de 2022];66(5):794–801. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26801886/>, <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310839>
13. Kim JW, Nam KH, Ahn S-H, Park DJ, Kim H-H, Kim SH, et al. Prognostic implications of immunosuppressive protein expression in tumors as well as immune cell infiltration within the tumor microenvironment in gastric cancer. *Gastric Cancer* [Internet]. 2016 [citado el 17 de mayo de 2022];19(1):42–52. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25424150/>, <https://doi.org/10.1007/s10120-014-0440-5>.
14. Takano Y, Kato Y, Saegusa M, Mori S, Shiota M, Masuda M, et al. The role of the Epstein-Barr virus in the oncogenesis of EBV(+) gastric carcinomas. *Virchows Arch* [Internet]. 1999 [citado el 10 de junio de 2022];434(1):17–22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10071230/>.
15. Murphy G, Pfeiffer R, Camargo MC, Rabkin CS. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. *Gastroenterology* [Internet]. 2009 [citado el 10 de junio de 2022];137(3):824–33. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19445939/>.

16. Park JH, Kim EK, Kim YH, Kim J-H, Bae YS, Lee YC, et al. Epstein-Barr virus positivity, not mismatch repair-deficiency, is a favorable risk factor for lymph node metastasis in submucosa-invasive early gastric cancer. *Gastric Cancer* [Internet]. 2016 [citado el 10 de junio de 2022];19(4):1041–51. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26573601/>.
17. Carrascal E, Koriyama C, Akiba S, Tamayo O, Itoh T, Eizuru Y, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Cali, Colombia. *Oncol Rep* [Internet]. 2003;10(4):1059–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3892/or.10.4.1059>.
18. Camargo MC, Kim W-H, Chiaravalli AM, Kim K-M, Corvalan AH, Matsuo K, et al. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr virus positivity: an international pooled analysis. *Gut* [Internet]. 2014 [citado el 10 de junio de 2022];63(2):236–43. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23580779/>.
19. Song H-J, Kim K-M. Pathology of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and its relationship to prognosis. *Gut Liver* [Internet]. 2011 [citado el 10 de junio de 2022];5(2):143–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5009/gnl.2011.5.2.143>.
20. van Beek J, zur Hausen A, Klein Kranenbarg E, van de Velde CJH, Middeldorp JM, van den Brule AJC, et al. EBV-positive gastric adenocarcinomas: a distinct clinicopathologic entity with a low frequency of lymph node involvement. *J Clin Oncol* [Internet]. 2004 [citado el 10 de junio de 2022];22(4):664–70. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14966089/>.
21. Noh B-J, Kim JH, Eom D-W. Prognostic significance of categorizing gastric carcinoma by PD-L1 expression and tumor infiltrating lymphocytes. *Ann Clin Lab Sci* [Internet]. 2018 [citado el 10 de junio de 2022];48(6):695–706. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30610038/>.